

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 46

SAYI / NUMBER : 4

YIL / YEAR : 2021

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

Baş Editör / Editor-in Chief	Danışma Kurulu / Advisory Board
ERİNÇ, Hakan; Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey	Akköse, Ahmet; <i>Atatürk University, Turkey</i> Ank, Gökşen G.; <i>Balıkesir University, Turkey</i> Atalar, İlyas; <i>Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> Baysal, A. Handan; <i>İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey</i> Bezirtzoğlu, Eugenia; <i>Democritus University of Thrace, Greece</i> Bozkır, Hamza; <i>Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey</i> Çilak, Gizem Ö.; <i>Hittit University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> El Soda, <i>Morsi University of Alexandria, Egypt</i> Erbay, Zafer; <i>Adana Bilim ve Teknik University, Turkey</i> Evren, Mustafa; <i>Ondokuz Mayıs University, Turkey</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Gerçekaslan, K. Emre; <i>Neşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Güneşer, Onur; <i>Uşak University, Turkey</i> Güven, Esra Ç.; <i>İstanbul Teknik University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Hoşoğlu, Müge I.; <i>Gebze Teknik University, Turkey</i> Hüner, İrem D.; <i>Trakya University, Turkey</i> Kahraman, Kevser; <i>Abdullah Gül University, Turkey</i> Karaca, Hakan; <i>Pamukkale University, Turkey</i> Koçan, Deniz; <i>Aksaray University, Turkey</i> Konuskan, Dilşat B.; <i>Mustafa Kemal University, Turkey</i> Kuleşan, Hakan; <i>Süleyman Demirel University, Turkey</i> Meral, Raciye; <i>Yüzüncü Yıl University, Turkey</i> Mete, Aylin A.; <i>Mersin University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Muhtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Mutlu, Türkan K.; <i>Çukurova University, Turkey</i> Öztürk, Fatma; <i>Kâtip Çelebi University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> San, Ferda; <i>Cumburiyet University, Turkey</i> Şengün, İlkin Y.; <i>Ege University, Turkey</i> Soyer, Yeşim; <i>Orta Doğu Teknik University, Turkey</i> Toğay, Sine Ö.; <i>Bursa Uludağ University, Turkey</i> Toker, Ömer S.; <i>Yıldız Teknik University, Turkey</i> Velioglu, Murat; <i>Namık Kemal University, Turkey</i> Yemiş, Gökçe P.; <i>Sakarya University, Turkey</i> Yolaçaner, Elif; <i>Hacettepe University, Turkey</i> Yorulmaz, Aslı; <i>Adnan Menderes University, Turkey</i> Zorba, Murat; <i>Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey</i>
Editörler / Editors AVCI, Ayşe; <i>Sakarya University, Turkey</i> ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; <i>Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey</i> DEMİRKESEN, Mert; <i>İlkem, Ministry of Agriculture and Forestry, Turkey</i> DEMİROK SONCU, Eda; <i>Ankara University, Turkey</i> EYİLER, Esen; <i>Akdeniz University, Turkey</i> KULEAŞAN, Şükran; <i>Mehmet Akif University, Turkey</i> TABAN, Birce; <i>Ankara University, Turkey</i> TORUN, Mehmet; <i>Akdeniz University, Turkey</i> ÖZDEN, Özkan; <i>İstanbul University, Turkey</i>	
Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org	
Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli	
Hazırlayan / Prepared Sim Ajans 19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com	
Yayın Tarihi / Publication Date 15 08 2021	

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

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

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Bozkır, H., Rayman Ergün, A. *Influence of ultrasonic and electrical pretreatments on the drying and quality characteristics of kiwi fruit slices* / Ultrasonik ve elektriksel ön işlemlerin kivi dilimlerinin kuruma ve kalite özelliklerine etkisi **817-829**
- Kürekci, C., Tan, S., Arslan, A., Özgen, S.B., Sakin, F. *A comparison of solid-phase extraction methods for bisphenol a in cheese samples* / Peynir numunelerinde bisfenol a için katı faz ekstraksiyon metotlarının karşılaştırılması **848-858**
- Özdemir, İ.S., Semizer Aksoy, H. *Effect of good and poor postharvest handling practices on the losses in lettuce and tomato supply chains* / İyi ve yanlış hasat sonrası uygulamaların marul ve domates tedarik zincirlerinde yaşanan kayıplar üzerine etkisi . . **859-871**
- Gündoğdu, B., Süfer, Ö., Simsek, M. *Effect of different drying methods on the phenolic extraction from butternut squash pomace* / Farklı kurutma yöntemlerinin balkabağı posasından fenolik ekstraksiyonu üzerine etkisi **883-894**
- Oskaybas Emlak, B., Özbey, A. *Effect of linoleic acid addition on the CIS9-Trans11-conjugated linoleic acid content of kefir* / Linoleik asit ilavesinin kefirin CIS9-Trans11-konjüge linoleik asit içeriğine etkisi **895-902**
- Yüksel, Ç., Şahin, S., Çakmak, T. *Effect of H₂O₂ oxidation stress on carotenoid production in Chlamydomonas reinhardtii and its antioxidant activity* / H₂O₂ oksidasyon stresinin Chlamydomonas reinhardtii mikroalginin karotenoid üretimi ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisi **903-913**
- Kulcan, A.A., Zoua Assoumou, U.T., Aygün, M., Kuzu, Ş., Demet Yıldız, D., Kaya, N., Hacıoğlu, A., Karhan, M. *Impact of carob extract supplementation on chemical and sensory properties of yogurt and ice cream* / Keçiboynuzu ekstraktı takviyesinin yoğurdun ve dondurmanın kimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi **980-991**
- Yazıcı, S.Ö. *Optimization of the extraction conditions of phenolic compounds from Alchemilla vulgaris using response surface methodology* / Alchemilla vulgaris'ten fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimizasyonu **1040-1052**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Özdemir, G., Dülger Altuner, D., Şahan, Y. *Bazı tıbbi bitkilerle zenginleştirilmiş ekmeğin duyuşal özellikleri ve satın alma niyetine etkisi* / *The sensory properties of bread enriched with some medicinal plants and its effect on purchase intention* **767-784**
- Yalçın, M., Tuncer, Y. *Piliç etinden izole edilen yüksek seviyede aminoglikozit dirençli enterokokların antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi* / *Determination of the antibiotic resistance profiles of high-level aminoglycosid-resistant enterococci isolated from broiler meat* **803-816**
- Karaaliğlu, O., Günay, E., Karagül Yüceer, Y. *Tire Çamur peynirinin bazı fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri* / *Some physicochemical and sensory characteristics of Tire Çamur cheese* **914-924**
- Güzel, N. *Alıç: Biyoaktif bileşenlerin termosonikasyon ile ekstraksiyonu ve fizikokimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi* / *Hawthorn: Extraction of bioactive compounds by thermosonication and evaluation of physico-chemical properties* . . . **939-948**
- Tosun, M.N., Taylan, G., Zorba, N.N. *Çanakale bölgesinden alınan midye ve deniz suyu örneklerinin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi* / *Determination of the microbiological quality of mussels and seawater samples received from Çanakale region* . **949-958**
- Daştan, S., Türker, İ., İşleroglu, İ. *Çemen otu tohumundan fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için optimizasyon çalışması* / *An optimization study on the extraction of phenolic compounds from fenugreek seeds* **959-970**
- Çevik, M. *Gelincik çiçeği şurubunun elektriksel iletkenlik değerleri ve reolojik özelliklerindeki değişimin incelenmesi* / *Investigation of the changes in electrical conductivity values and rheological properties of poppy flower syrup* **992-1001**
- Yılmaz, M.S., Kutlu, N., Erdem, G.M., Şakıyan, Ö., Işci, A. *Fenolik bileşiklerin alıç meyvesinden (Creataegus monogyna) mikrodalga ve ultrases destekli yöntemler ile ekstraksiyonu* / *Extraction of phenolic compounds from hawthorn fruit (Creataegus monogyna) using microwave and ultrasound assisted methods* **1002-1015**
- Baysal, M., Elmacı, Y. *Model sütlü tatlıda homojen olmayan dağılım ile yağ azaltma* / *Fat reduction by inhomogeneous distribution in model dairy dessert* **1016-1025**
- Erdem, F., Gündoğan, E.N., Yılmaz, M.S., Sezgin, İ., Summakoglu, Y., Şakıyan, Ö. *Kuşburnu (Rosa canina) fenolik bileşiklerinin mikroenkapsülasyonu* / *Microencapsulation of rosehip (Rosa canina) phenolic compounds* **1026-1039**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Acar, L., Keskin, S.Ö. Kızılötesi, mikrodalga, ultrases teknolojileri ve kombinasyonları kullanılarak modifiye edilmiş doğal biyopolimerlerin çeşitli özellikleri üzerine bir derleme / *A review on various properties of natural biopolymers modified by infrared, microwave, ultrasound technologies and their combinations* **785-802**
- Yasemin Çiftci, Y., Mustafa Fincan, M. Meyve ve sebzelerin kurutulmasında ön işlem olarak vurgulu elektrik alan kullanımı / *The use of pulsed electric field as a pre-treatment for drying of fruits and vegetables* **830-847**
- Gökırmaklı, Ç., Üçgül, B., Güzel-Seydim, Z.B. Fonksiyonel gıda kavramına yeni bir bakış: Postbiyotikler / *A new insight of the functional food concept: Postbiotics* **872-882**
- Özhanlı, H., Bilgin, D.G., Mutlu, C., Erbaş, M. Nadir bir şeker olan D-allülozün beslenmede kullanım imkanları ve üretim yöntemleri / *D-allulose, a rare sugar, and its usage possibilities in nutrition and production methods* **925-938**
- Sur, E.B., Karabıyıklı Çiçek, Ş. Chia tohumunun kimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri / *Chemical, antioxidant and antimicrobial properties of chia seed* **971-979**
- Özkaya, P.T., Dağbağlı, S., Kayaardı, S. Ette tazeliğin belirlenmesi: yeni yaklaşımlar / *Detection of meat freshness: New approaches* **1053-1067**



BAZI TIBBİ BİTKİLERLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ EKMEKLERİN DUYUSAL ÖZELLİKLERİ VE SATIN ALMA NİYETİNE ETKİSİ

Gözde Özdemir¹, Dilek Dülger Altınır^{2*}, Yasemin Şahan³

¹Kocaeli Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Turizm İşletmeciliği Anabilim Dalı, Turizm İşletmeciliği Yüksek Lisans Programı, Kocaeli, Türkiye

²Kocaeli Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Kartepe, Kocaeli, Türkiye

³Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Görükle, Bursa, Türkiye

Geliş / Received: 25.02.2021; Kabul / Accepted: 06.05.2021; Online baskı / Published online: 14.05.2021

Özdemir, G., Dülger-Altınır, D., Şahan, Y. (2021). Bazı tıbbi bitkilerle zenginleştirilmiş ekmeklerin duyuşsal özellikleri ve satın alma niyetine etkisi. *GIDA* (2021) 46 (4) 767-784 doi: 10.15237/gida.GD21044.

Özdemir, G., Dülger-Altınır, D., Şahan, Y. (2021). *The sensory properties of bread enriched with some medicinal plants and its effect on purchase intention. GIDA* (2021) 46 (4) 767-784 doi: 10.15237/gida. GD21044.

ÖZ

Bu çalışmada tıbbi bitki unları ile zenginleştirilmiş ekmek formülasyonlarının geliştirilmesi amaçlanmış ve buğday unu farklı oranlarda (%1, 2 ve 3) karahindiba unu ve civanperçemi unu ile ikame edilmiştir. Kontrol örneği, sadece buğday unu kullanılarak üretilmiştir. Zenginleştirilmiş ekmeklerin duyuşsal özellikleri (görünüş, lezzet/tat, koku, tekstür, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik) tespit edilerek kontrol ekmeği ile karşılaştırılmış ve duyuşsal özelliklerin satın alma niyeti üzerindeki etkisi de tespit edilmiştir. Duyusal analiz değerlendirme sonuçlarına göre, kontrol örneğine en yakın özellikler gösteren ve en çok beğenilen %1 karahindiba unu katkılı ekmek olmuştur. Bununla birlikte ekmek duyuşsal özelliklerinin satın alma niyeti üzerinde büyük oranda etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Araştırma sonucuna göre; sağlık yönünden faydaları bilinen bu tıbbi bitki unlarının gıda sanayiinde kullanımının artırılması ile yeni fonksiyonel ürün geliştirme çalışmalarında gıda katkısı olarak kullanılabilceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Tıbbi bitki, karahindiba, civanperçemi, ekmek, gıda zenginleştirme, gıda katkıları

THE SENSORY PROPERTIES OF BREAD ENRICHED WITH SOME MEDICINAL PLANTS AND ITS EFFECT ON PURCHASE INTENTION

ABSTRACT

The present study aimed to develop new bread formulations enriched with medicinal plant flours, and wheat flour was substituted with dandelion and yarrow plant flour in different ratios (1, 2, and 3%). The control sample was produced using only wheat flour. The sensory properties (appearance, flavor/taste, odor, texture, mouthfeel, general acceptability) of the enriched bread were determined and compared with the control bread, and the effect of the sensory properties of the bread on purchase intention was determined. According to the results of the sensory analysis, the bread with 1% dandelion flour was the most favored sample and showed the closest characteristics to the control sample. It was also concluded that the sensory properties of the bread had a great effect on purchase

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉ dilek.dulgeraltinir@gmail.com,

☎ (+90) 262 353 3460

☎ (+90) 262 353 45 11

Gözde Özdemir; ORCID no: 0000-0001-6258-6260

Dilek Dülger Altınır; ORCID no: 0000-0002-7043-2883

Yasemin Şahan; ORCID no: 0000-0003-3457-251X

intention. According to the results of the research, it is thought that these medicinal plant flours can be used as food additives for developing new functional products.

Keywords: Medicinal plant, dandelion, yarrow, bread, food fortification, food additives

GİRİŞ

Beslenme insanların yaşamını sürdürebilmesi için zorunlu bir faaliyettir (Ceyhan Sezgin et al., 2019). Gıdalar farklı mikro ve makro besin öğeleri içermesi, enerji verme, yapıyı düzenleme vb. özellikleri ile beslenmede önemlidir (Verhagen vd., 2021). Ekmek; gıda tüketiminde yüksek enerji değerine sahip olması nedeniyle temel besin maddelerinden biri olarak kabul edilmektedir (Akgün, 2007; Bilgiçli, 2000). Ekmek, fiyatının uygun olması, doyurucu ve besleyici olması nedeniyle sıklıkla tüketilmekte olup (Akgün, 2007; Durmuş, 2019; Göçmen, 2001; Yiğit ve Doğan, 2010), Türkiye’de günlük ekme tüketimi kişi başı ortalama 284 g’dır (TMO, 2013).

Tıbbi bitkiler, organlarından bir veya daha fazlası tedavi amacıyla veya ilaçların sentezinde öncü olarak kullanılabilen bitkiler olarak tanımlanmaktadır (Penso, 1980). Beslenmede kullanılan tıbbi bitkilerin, tedavi amacıyla kullanılan birçok fitokimyasal içerdiği (Brahma ve Narzary, 2015), ayrıca obezite ve kilo kontrolü için de kullanıldığı bilinmektedir (Jaradat vd., 2017). Tıbbi ve aromatik bitkiler steroid, flavonoid, saponin, alkaloid, terpen ve fenolik bileşikler içermekte olup, antimikrobiyal, antifungal, antialerjik, antidiyabetik, kardiyovasküler sistemi koruyucu, antioksidan, antikanser, antitiroid, antihistaminik, antimalaryal, antihelmintik, antiinflamatuvar, antihipertansif, spazm çözücü ve ağrı kesici gibi birçok özelliğe sahip oldukları bilinmektedir (Varlı vd., 2020)

Karahindiba bitkisi (*Taraxacum officinale* L.) papatyagiller familyasına ait bir bitkidir (Demirezer vd., 2019). Türkiye’de 16’sı endemik olmak üzere 51 Karahindiba türü olduğu bilinmektedir (Özdemir vd., 2020). Karahindiba bitkisinin inulin, pektin, fenolik asit, asparagin, tanen, vitamin (A, B, C ve D), potasyum, lutein, karatenoid, demir, kalsiyum, magnezyum, fosfor, tiamin, saponin, sodyum, bakır, çinko, manganez, albümin, steroid, enzimler, flavonoidler, maden tuzları gibi çeşitli maddelerce zengin olduğu rapor edilmiştir (Gül, 2014; Özdemir vd., 2020; Turan,

2014). Buna ek olarak Karahindiba bitkisinin kök kısmı gaz, şişkinlik ve hazımsızlık gibi sindirim sorunlarında, karaciğer ve safra fonksiyonlarının düzenlenmesinde ve iştah açıcı olarak kullanılırken, toprak üstü kısımların idrar yolları tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Demirezer vd., 2019).

Civanperçemi bitkisi (*Achillea millefolium* L.) papatyagiller familyasına ait bir bitki olup (Demirezer vd., 2019; Howyzeh vd., 2019), yapılan çalışmalarda tanen, organik asitler, alkoloidler, flavonoidler, fosfor, potasyum, inülin, albümin, klorofil ve C vitamini gibi çeşitli maddeler içerdiği (Turan, 2014) ve anti-enflamatuvar, antioksidatif, antimikrobiyal, antikanser (Edreva vd., 2019), antibakteriyel ve antifungal (Ahmadi-Dastgerdi vd., 2019) gibi birçok özelliği olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, civanperçeminin yaraların, sindirim sorunlarının, cilt hastalıklarının ve solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanıldığı da rapor edilmiştir (Howyzeh vd., 2019).

Gıda zenginleştirme işlemi, gıdada doğal olarak bulunan veya bulunmayan bileşenlerin, toplumda veya bir risk grubunda besin öğesi yetersizliğinin düzeltilmesi veya önlenmesi amacıyla gıdalara daha fazla miktarda eklenmesi olarak ifade edilmektedir (Coşkun, 2012). Bu nedenle gıdaya besin eklenmesinin tanınan bir besin eksikliği düzeltmek, işlem sürecinde kaybedilen besinleri eklemek, besin içeriği ile kalori içeriğini dengelemek, yeni ürünlerin besinsel yetersizliğini önlemek ve diğer program ve düzenlemelerle uyumlu hale getirmek için gerçekleştirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Boyacı, 2008; Kütük, 2010; Ranum, 2000). Günümüzde insanların sağlıklı beslenmeye yönelmesiyle gıdaların farklı teknikler ile besin içeriğinin zenginleştirildiği çalışmaların sayısının giderek arttığı görülmüştür. Gıdaları zenginleştirmek için farklı fonksiyonel özellikler gösteren meyve, sebze ve bitki kaynaklarından yararlanılabilmektedir. Ekmekte yapılan zenginleştirme çalışmalarında, patates ve yulaf unu (Duran vd., 2004), sütçülük yan ürünleri

(Demir vd., 2009), kimyon ve kimyon tohumu (Ahmad vd., 2018), yumurta kabuğu tozu (Adal, 2018), yeşil muz (Khoozani vd., 2020) ve mavi-yeşil alg (İlhan vd., 2020), kepekli tahıllar ve tohumlar (Benítez vd., 2018), buğday kepeği (Tiong vd., 2015), lupin unu (Tuluk, 2017), sarnıç ekstraktı (Mikulec vd., 2020), turunçgil albedosu (Demir ve Olcay, 2020), süt tozu (Burnaz ve Ertop, 2020) gibi çeşitli bileşenlerin kullanıldığı bildirilmiştir.

Bu çalışmada, sağlık açısından faydalı özellikleri olduğu bilinen iki farklı tıbbi bitkinin buğday ununa belli ikame oranlarında katılmasıyla, bitkilerde bulunan fitokimyasalların ve farklı fonksiyonel bileşenlerin ekmeğe kazandırılarak zenginleştirilmiş ekmek üretilmesi hedeflenmiştir. Üretilecek ekmeklere karahindiba ve civanperçemi bitki unlarının buğday ununa üç farklı ikame oranında (%1, %2 ve %3) kullanımının, duyu kalite özelliklerine etkisinin belirlenmesi ve her bir ekmek için duyu kalite özelliklerinin, satın alma niyeti üzerindeki etkisinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu sayede, daha sağlıklı ekmeklerin üretilmesi, ekmek çeşitliliğine katkı sağlanması ve tıbbi bitki kullanımının teşvik edilerek sürdürülebilir beslenme kapsamında katkı sağlanması da ön görülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Bu çalışmada, kurutulmuş olarak hazırlanan ve ambalajlı paketlerde satışa sunulan Karahindiba (Arifoğlu) ve Civanperçemi (Arifoğlu) bitkileri, buğday ununa farklı oranlarda ikame edilerek, zenginleştirilmiş ekmek üretmek amacıyla kullanılmıştır. Türk Gıda Kodeksi *Gıdalarda Kullanılabilecek Bitkiler ve Bitkisel Preparatlar Tebliği* Ek-4 ve Ek-5’de yer alan “bitki listelerinde pozitif olarak yer alan bitkiler, bitki kısımları ve bitkisel preparatlar, varsa bu eklerde belirtilen koşullara uymak şartıyla piyasaya arz edilebilir ve gıdalarda kullanılabilir” ifadesine göre çalışmamızda kullanılan bitkiler “pozitif” listede gösterilmiş olup, “kısımlarının ve/veya bitkisel preparatlarının, varsa kullanımı ilgili koşullara, kısıtlamalara ve etiketleme gerekliliklerine uyulması şartı ile gıdalarda kullanılabilirliği” tebliğ

maddesinde ifade edilmiştir (TGK, 2016). Satın alınan bitkiler, kahve öğütücü robotundan (Fakir – Hausgeräte) geçirilerek un haline getirilmiş ve 60 mesh çaplı elekten elenmiştir. Elde edilen un örnekleri, kullanılıncaya kadar, hava almayan kaplarda, buzdolabında +4°C’ de ışıktan ve nemden korunacak şekilde saklanmıştır. Ekmek üretiminde kullanılacak hammaddelerden bitki materyalleri online olarak, ekmek formülasyonunda yer alan su (Erikli), maya (Pakmaya) ve tuz (Billur Tuz) yerel marketlerden, markalı ürünlerden satın alınmıştır.

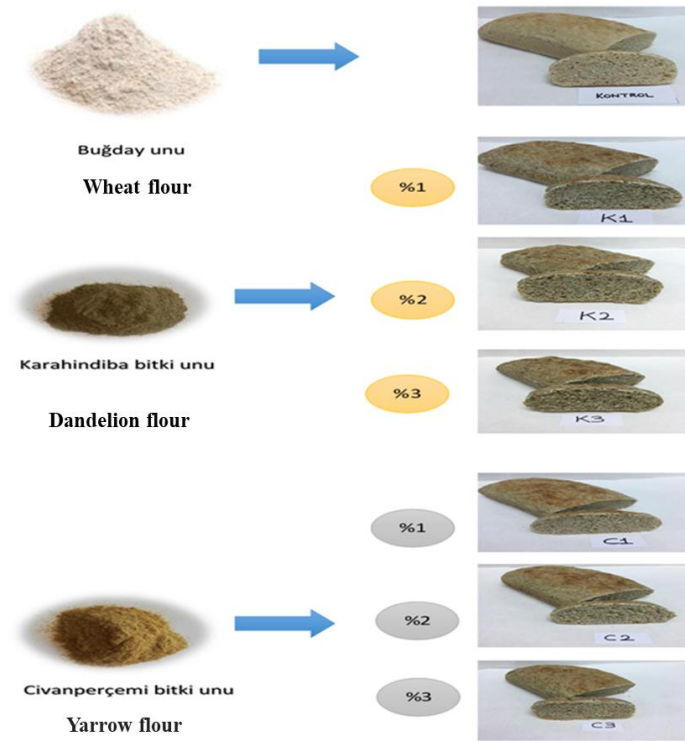
Ekmek Üretimi

Çalışmada kullanılan ekmek formülasyonu, Akgün (2007) ve Pala (2012)’nin çalışmaları modifiye edilerek kullanılmıştır. Tıbbi bitkilerin ekmeklerde kullanım oranları, ön denemeler sonucu belirlenmiştir. Yapılan ön denemelerde, literatür bilgileri dahilinde ekmeklere %4, %5 ve %6 oranlarında bitki unları ilave edilerek deneme yapılmıştır. Ancak, ön deneme için üretilen ekmekler katılımcılar tarafından acı bulunarak tercih edilmemiştir. Bu nedenle, ekmeğin zenginleştirilmesinde buğday ununa ikame olarak %1, %2 ve %3 oranlarında Karahindiba ve Civanperçemi unları eklenmiştir. Ayrıca sadece buğday unu kullanılarak kontrol ekmeği üretilmiştir. Ekmek formülasyonu ve kodları Çizelge 1’de, ekmek üretim modeli Şekil 1’de verilmiştir.

Çalışma kapsamında, direkt hamur metodu kullanılmıştır. Kullanılan ekmek üretim akım şeması, Ödeş (2018)’in çalışması baz alınarak yapılan ön çalışmalar sonucu oluşturulmuştur. Bu amaçla, ekmek üretiminde kullanılan tüm materyaller tek seferde karıştırılarak yoğurulmasıyla hamur elde edilmiştir. Elde edilen hamur, 40°C’de 30 dakika boyunca kitle fermentasyonu (1. fermentasyon)’a bırakılmıştır. Fermentasyon sonucunda hamur tartılmış ve şekil verilerek pişirme kaplarına yerleştirilmiştir. Daha sonra hamur 40°C’de 90 dakika boyunca parça fermentasyonuna (2. fermentasyon) bırakılmıştır. Fermentasyon sonunda hamur, 250°C’de 15 dakika boyunca pişirilerek ekmekler elde edilmiştir. Fırından (Luxell marka) çıkan ekmekler, oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır.

Çizelge 1. Ekmek formülasyonu
Table 1. Bread formulation

Ürün Adı ¹ Product Name	Ürün Kodu Product Code	Buğday Ununa İkame Oranı Substitution Ratio for Wheat Flour	Un Miktarı (g) ² Flour Amount	Bitki Unu Miktarı (g) Plant Flour Amount	Maya (g) Yeast	Tuz (g) Salt	Su (ml) Water
Kontrol Ekmeği Control bread	K	%0	300	0	6	4.5	200
Karahindiba unu katkı ekmeği Bread enriched with dandelion flour	K1	%1	297	3	6	4.5	201
	K2	%2	294	6	6	4.5	202
	K3	%3	291	9	6	4.5	203
Civanperçemi unu katkı ekmeği Bread enriched with yarrow flour	C1	%1	297	3	6	4.5	200
	C2	%2	294	6	6	4.5	200
	C3	%3	291	9	6	4.5	202

¹ Bileşenler 21±1°C; ² %14 rutubet esasına göre¹Ingredients at 21 ± 1°C, ²14% moisture basis

Şekil 1. Ekmek üretim modeli (K: tıbbi bitki içermez, sadece buğday unu; K1: %1 karahindiba unu, K2: %2 karahindiba unu, K3: %3 karahindiba unu katkı ekmeği; C1: %1 civanperçemi unu, C2: %2 civanperçemi unu, C3: %3 civanperçemi unu katkı ekmeği)

Figure 1. Bread production model (K: without medicinal plant, only wheat flour; K1: 1% dandelion flour, K2: 2% dandelion flour, K3: 3% dandelion flour-enriched bread; C1: 1% yarrow flour, C2: 2% yarrow flour, C3: 3% yarrow flour-enriched bread)

Metot

Duyusal Analiz

Duyusal analiz paneli, 21 Kasım - 29 Kasım 2020 tarihleri arasında, Mersin ili Erdemli İlçesinde, Kumkuyu Limanı'nda bulunan bir kafede 19-75 yaş aralığındaki (83 kişi - 34 Kadın / 49 Erkek) tüketicilerin katılımı ile gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizde farklılık testleri için 10-20 panelist yeterli kabul edilirken, tüketici testlerinde en az 80 kişi olması gerekmektedir (Onoğlu ve Elmacı, 2019). Bu nedenle çalışmamız tüketici testi olarak kabul edilmektedir.

Duyusal analiz formunda; tüm duyu kalite değerlendirmeler, ekmeklerdeki duyu kalite kriterlerini içeren; Dursun (2006) ve Pala (2012)'nin çalışmaları incelenerek, konu ile ilgili yapılmış uluslararası çalışmalar (Giboreau vd. 2007; Annett vd. 2007; Elía 2011; Vindras-Fouillet vd. 2014; Ho 2015; Shrivastava vd. 2018; Robles-Ramírez vd. 2020) dikkate alınarak tarafımızca geliştirilmiş ve ön denemeler ve uzman görüşleri sonucunda son haline getirilmiştir. Literatür araştırması sonucunda, çalışma konusuna özgü olarak modifiye edilmesiyle hazırlanmış tadım formu üzerinde, 1-5 hedonik skalası (5 Puan: Çok iyi, 4 Puan: iyi, 3 Puan: Kabul edilebilir, 2 Puan: Yeterli değil, 1 Puan: Kötü) kullanılarak ekmeklerin duyu kalite analizi yapılmıştır. Panelistler, birbirinden etkilenmeyecek şekilde, aydınlık ve dış etkenlere kapalı olan ortamda puan vermişlerdir. Duyusal analiz, uluslararası standartlara (1087 1990; ISO 8586 1993; ISO 8589 2007) uygun bir duyu kalite paneli yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Duyusal analiz formu üç bölümden oluşmakta olup, ilk bölümde ekmek örneklerine ait duyu kalite özelliklere, ikinci bölümde ekmek üretiminde kullanılan katkı tipi, maya tipi ve un tipi hakkında tüketici tahminlerine, üçüncü bölümde ise puan verilen ekmek duyu kalite özelliklerinin tüketici satın alma niyeti üzerindeki etkisi ölçülmüştür. Panelistler, birbirinden etkilenmeyecek şekilde, aydınlık ve dış etkenlere kapalı olan ortamda puan vermişlerdir. Ekmekler; hacim, kabuk rengi, iç rengi, gözenek yapısı, şekil simetrisi, genel lezzet yoğunluğu, genel aroma yoğunluğu, genel koku yoğunluğu, çignenebilirlik, sertlik, yapışkanlık,

ufalanma, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik olmak üzere on dört (14) özellik bakımından değerlendirilmiştir. Duyusal analiz formunun ikinci bölümünde, panelistlere, ekmek üretimleri sırasında kullanılan katkı tipi (meyve, sebze, bitki, baklagil, diğer), maya tipi (kuru maya, yaş maya, ekşi maya, nohut mayası, diğer) ve un tipini (buğday unu, tam buğday unu, çavdar unu, yulaf unu, diğer) tahminlerini işaretlemeleri istenmiştir. Duyusal analiz formunun üçüncü bölümünde ise, panelistlerin, ekmekleri satın alma niyetini ölçmek amacıyla Shiv vd. (1997) tarafından geliştirilmiş ifade (satın alma niyeti) gösterilmiş, 1-5 hedonik skalası (5 puan: Kesinlikle katılıyorum, 4 Puan: Katılıyorum, 3 Puan: Ne katılıyorum ne de katılmıyorum, 2 Puan: Katılmıyorum, 1 Puan: Kesinlikle katılmıyorum) verilen puanlara göre, tüketicilerin duyu kalite panelde değerlendirdiği ekmeklerin duyu kalite özelliklerinin tüketici satın alma niyetine etkisi ölçülmüştür. Duyusal analizler için Kocaeli Üniversitesi'nden 19/11/2020 tarihli E-79955 sayılı Etik Kurul Onayı alınmıştır.

İstatistiksel Analiz

Duyusal analiz formunun ilk bölümünde, verilerin değerlendirilmesinde JMP IN 7.0.0 (Statistical Discovery from SAS 2007. Institute Inc.) programı ile varyans analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklı grupların belirlenmesinde $P < 0.05$ olasılık düzeyinde "LSD (Least Significant Difference) testi" kullanılmıştır. 3 tekerrürlü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür. Duyusal analiz formunun diğer bölümlerinde SPSS 23.0 istatistik programı kullanılmıştır. Elde edilen verilere tanımlayıcı (yüzde ve frekans) analizi ve doğrusal regresyon analizi uygulanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Katılımcıların Özellikleri ve Duyusal Analiz Tahminleri

Araştırmaya dahil edilen katılımcıların %41'ini (34 kişi) kadınlar, %59'unu (49 kişi) ise erkekler oluşturmaktadır. Katılımcıların %49,4'ünü (41 kişi) "18-25 yaş aralığı" oluştururken %45,4'ünün (38 kişi) lisans mezunu olduğu belirlenmiştir. Gelir düzeyi açısından incelendiğinde %32,5'inin (27 kişi) "1500 ve altı" gelir grubunda yer alırken

%31,3'ünün (26 kişi) "4500 ve üzeri" gelir grubunda yer aldığı görülmektedir.

Duyusal analiz paneline katılanların ekmeğin tüketim alışkanlıkları Çizelge 2'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde katılımcıların %32,5'inin (27 kişi) günde 1-2 dilim, %43,4'ünün (36 kişi) günde 3-4 dilim, %18,1'inin (15 kişi) günde 5-6 dilim ve %6'sının (5 kişi) günde 7 dilim ve üzeri ekmeğin tükettikleri görülmektedir. Tanık (2006) yaptığı çalışmada tüketicilerin günlük satın aldıkları ekmeğin miktarlarını %47'si 3-4 adet, %23'ü 5-7 adet, %19'u 1-2 adet ve %11'i 8 ve üzeri adet ekmeğin tüketim miktarları olarak belirlemiştir. Aydın ve Yıldız (2011), yaptıkları çalışmaya katılan kişilerin %4,8'inin günde 1 dilim, %13,8'inin 2 dilim ekmeğin tükettikleri, %22,3'ünün çeyrek ekmeğin, %32,3'ünün yarım ekmeğin, %23,0'ünün tüm ekmeğin

ve %4'ünün diğer oranlarda ekmeğin tükettiklerini belirtmişlerdir. TUBER (2019) verilerine göre 1 dilim ince ekmeğin 25 g olarak belirtilmiştir. İkikat Tümer vd. (2019) yaptıkları çalışmada kişi başı günlük ekmeğin tüketiminin ortalama 212 g olduğunu belirtmiştir. 1 ince dilim ekmeğin 25 g, 1 orta dilim ekmeğin 30 g olarak hesaplandığında, kişi başı ortalama 8 dilim ekmeğin tükettikleri ifade edilmiştir. Çalışmamıza katılan tüketicilerin çoğunluğu ise günde 3-4 dilim ekmeğin tükettiklerini bildirmiştir. Adıgüzel ve Kızılaslan (2020) çalışmalarında tüketicilerin günlük ekmeğin tüketim miktarlarını %33,09'u 250 g ve altı, %42,65'i 250-350 g aralığında ve %24,26'sı 351 g ve üzeri şeklinde belirlemiştir. Ayrıca, katılımcıların en çok somun ekmeği (% 54.2) ve buğday ekmeği (% 21.7) tükettikleri tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Katılımcıların ekmeğin tüketim alışkanlıkları

Table 2. Bread consumption habits of the participants

Ekmeğin Tüketim Özellikleri <i>Bread Consumption Features</i>	Sayı (n) <i>Number</i>	Oran (%) <i>Rate</i>	
Günlük Ekmeğin Tüketimi (Dilim) <i>Daily Bread Consumption (Slice)</i>	1-2	27	32,5
	3-4	36	43,4
	5-6	15	18,1
	7 ve üzeri <i>7 and over</i>	5	6
	Toplam (Total)	83	100
Ekmeğin Çeşidi <i>Bread Type</i>	Somun Ekmeği <i>Loaf Bread</i>	45	54.2
	Karışık Tahıllı Ekmeğin <i>Mixed Grain Bread</i>	4	4.8
	Tam Buğday Ekmeği <i>Whole wheat bread</i>	18	21,7
	Çavdar Ekmeği <i>Rye Bread</i>	3	3.6
	Ekşi Mayalı Ekmeğin <i>Sourdough Bread</i>	3	3.6
	Kepek Ekmeği <i>Bran bread</i>	7	8.4
	Karabuğday Ekmeği <i>Buckwheat Bread</i>	1	1.2
	Diğer <i>Other</i>	2	2.4
	Toplam (Total)	83	100

Tüketicilerin ülkemizdeki ekmek tüketim alışkanlıklarının incelendiği çalışmalarda; %75'i beyaz buğday ekmeği, %68,75-%77,21'inin somun ekmeği, %22,05'inin köy ekmeği, %14,70'inin esmer ekmeği, %12,13'ünün çiçek ekmeği, %8,26-14'ünün pide ve %10,29'unun Trabzon ekmeği %5,41'inin lavaş, %61,03'ünün tam buğday ekmeği, %5,22-39,97'sinin kepek ekmeği, %1-37,13'ünün çavdar ekmeği, %7,55'inin kepekli-çavdar ekmeği, %5,21'inin taş fırın ekmeği ve %1,77'sinin diğer ekme çeşitlerini tükettiği rapor edilmiştir (Adıgüzel ve Kızılaslan, 2020; Ekmekçi Bal vd., 2013; İkikat Tümer vd., 2019; Tanık, 2006; Uzundumlu vd., 2018). Çalışmamıza katılan 83 tüketici, literatürdeki çalışmalara benzer şekilde en çok somun ekmeği, tam buğday ekmeği ve kepek ekmeği tercih ettiklerini belirtmişlerdir.

Duyusal analiz panelinde, katılımcılara tattıkları ekmeklere yönelik üretimde kullanılan katkı tipi, maya tipi ve un tipi tahminleri de sorulmuştur. Çalışmamızda ekmeğin üretiminde, katkı tipi: bitki unu, maya tipi: kuru maya ve un tipi: buğday unu kullanılmıştır. Katılımcıların kontrol ekmeği, karahindiba unu katkılı (K1, K2 ve K3), civanperçemi unu katkılı (C1, C2 ve C3) ekmekler ile ilgili katkı, maya ve un tipi tahminlerine yönelik tahmin sonuçlarına göre; tüketiciler zenginleştirilmiş ekmeklere katılan bitki unlarının yeşil ve sarıya yakın renginden dolayı ekmeğin hamurunun renginin değişmesi, tüketicilerde buğday unu değil de tam buğday unu veya çavdar unu kullanıldığı algısı oluşturmuştur. Ekmeklerde bitki unlarından kaynaklı ekşi ve acı tat algıları da ekşi maya kullanıldığı algısı oluşturmuştur. Bu durum tüketici tahminlerine de yansımıştır. Konu yiyecekler olduğunda renk algısının etkisi çok yüksek olduğu ve yiyecek renginin tonu, yiyeceğin taze veya bayat olması hakkında fikir verdiği belirtilmiştir (Ahbap, 2014). Katılımcıların ekmeklerin katkı tipi, maya tipi ve un tipi tahminlerine yönelik veriler genel olarak değerlendirildiğinde; katılımcıların katkı tiplerinin tahmini incelendiğinde, genel olarak bütün ekmeklerde çoğunlukla bitki tipini doğru tahmin etmişlerdir. Katılımcıların maya tipi tahminlerinde, ekşi maya yönünde tahminde buldukları görülmüştür. Bu durumun bitkilerin

sahip olduğu acı ve ekşimsi tattan kaynaklandığı düşünülmektedir. Tüketiciler ekmeklerdeki ekşi maya kokusundan dolayı sağlıklı ve doğal bir ekmeğin algılamışlardır. Katılımcıların un çeşidi tahminlerinin ise bitki unu rengine göre tam buğday unu, çavdar unu, yulaf unu vb. değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Un tahminleri dikkate alındığında ise duyusal analiz sırasında katılımcıların ekmeğin renginden yola çıkarak un tahmininde bulunduğu gözlemlenmiş olup, bitkiler ekmeğe kendine özgü bir renk kattığı için un tahminlerinin kişiden kişiye çok farklılık gösterdiği düşünülmektedir.

Ekmeklerin Görünüş Özellikleri

Görünüş özellikleri, ekmeklerin hacim, kabuk rengi, iç rengi ve gözenek yapısı, şekil simetrisi açısından incelenmiş sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir.

Ekmeklerin görünüş özellikleri incelendiğinde, hacim özelliği yönünden en yüksek değeri 3.92 ile K3 ekmeği alırken, en düşük değeri ise 3.46 ile kontrol ekmeği almıştır. LSD testi sonuçlarına göre, kontrol örneğinin hacim puanı C2 ekmeği ile benzer bulunmuş olup ($P < 0.05$) diğer zenginleştirilmiş ekmeğin örneklerinden farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Bu sonucun yoğurma sırasındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Tıbbi bitkilerce zenginleştirilmiş ekmeklerin kabuk rengi puanları incelendiğinde, puanların 3.18-3.86 arasında değiştiği görülmüştür. En düşük puan 3.18 ile kontrolde, en yüksek puan 3.86 ile C1 ekmeğinde tespit edilmiştir. LSD testi sonuçlarına göre, bitki unu katkılı ekmeklerin kabuk rengi ile kontrol ekmeği arasında önemli ($P < 0.05$) bir farklılık olduğu görülmüştür. Bu durumun, bitkilerin kendilerine has olan renklerinin ekmeğin hamuruna geçirmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Tüketiciler ekmeklerin rengindeki koyulaşmayı tam buğday unu kullanımı ile ilişkilendirmiş ve daha doğal bir ekmeğin olduğunu düşünmüşlerdir. Duyusal analiz panelindeki tüketici tahmini sonuçları bu sonucu desteklemektedir. Ekmeklerin iç rengi puanları incelendiğinde, tıbbi bitki unu ilavesi ile üretilen ekmeklerin renk puanları 3.42-3.80 arasında değişmiş olup, en yüksek puanı C3 ekmeği almıştır. LSD test

sonuçlarına göre, ekmeğin iç rengi puanlarında, kontrole göre önemli bir artış gözlenmiştir ($P < 0.05$). Ekmeklerin gözenek yapısı puanları incelendiğinde, puanların 3.65-3.88 arasında değiştiği görülmüştür. En düşük puanı 3.65 ile kontrol ve C2 ekmekleri almış olup, en yüksek puan 3.88 ile K2 ekmeği almıştır. LSD testine göre, ekmeklerin gözenek yapısı özellikleri arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir ($P < 0.05$). Ekmeklerin şekil simetrisi puanları incelendiğinde, C2 ekmeği en düşük puanı (4.04),

K1 ekmeği ise en yüksek puanı (4.18) almıştır. LSD testine göre, ekmeklerin şekil simetrisi özellikleri arasında önemli bir fark gözlenmemiştir ($P < 0.05$). Üretim şeklinin standart olması ve tekniğin doğru uygulanması nedeniyle ekmeğin şekilleri benzer bulunmuştur. Tüketiciler tarafından yapılan duyu analizi değerlendirme sonucuna göre tüm ekmekler 3 ve 4 üzerinde puan alıp görünüş özelliği yönünden “kabul edilebilir” ve “iyi” olarak nitelendirilmiştir.

Çizelge 3. Ekmeklerin görünüş özelliklerine ait duyu analiz sonuçları*1

Table 3. Sensory analysis results of the appearance properties of bread

Örnek Sample	Görünüş Appearance				
	Hacim Volume	Kabuk Rengi Shell color	İç Rengi Interior color	Gözenek Yapısı Pore structure	Şekil Simetrisi Shape symmetry
K	3.46±1.10 ^b	3.18±1.19 ^b	3.42±1.25 ^b	3.65±1.18 ^a	4.12±1.02 ^a
K1	3.80±1.02 ^a	3.63±1.00 ^a	3.77±0.99 ^a	3.78±1.16 ^a	4.18±0.91 ^a
K2	3.84±1.02 ^a	3.66±1.00 ^a	3.76±1.12 ^{ab}	3.88±1.12 ^a	4.07±1.03 ^a
K3	3.92±1.12 ^a	3.67±1.19 ^a	3.76±1.27 ^{ab}	3.87±1.11 ^a	4.14±1.03 ^a
C1	3.80±1.09 ^a	3.86±1.06 ^a	3.75±1.08 ^{ab}	3.83±1.14 ^a	4.12±0.99 ^a
C2	3.69±1.09 ^{ab}	3.65±1.02 ^a	3.58±1.12 ^{ab}	3.65±1.25 ^a	4.04±1.10 ^a
C3	3.83±1.05 ^a	3.83±0.99 ^a	3.80±1.06 ^a	3.73±1.13 ^a	4.12±1.05 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır ($P \leq 0.05$). Sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir.

*Mean values represented by the same letters within the same column are not significantly different at $P \leq 0.05$.

Data are expressed as means \pm standard deviations

¹K: Kontrol ekmeği; K1, K2 ve K3: Karahindiba unu katkılı ekmekler; C1, C2 ve C3: Civanperçemi unu katkılı ekmekler)

¹K: control bread; K1, K2 and K3: bread enriched with dandelion flour; C1, C2 and C3: bread enriched with yarrow flour

Ekmeklerin Tekstür Özellikleri

Farklı çeşit ve oranlarda tıbbi bitki unu ilave edilerek üretilen ekmeklerin tekstür özellikleri, çignenebilirlik, sertlik, yapışkanlık ve ufalanma özellikleri açısından duyu analizi olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4'te verilmiştir.

Ekmeklerin çignenebilirlik özellikleri incelendiğinde, en yüksek puan 3.89 ile kontrol ekmeğine verilirken, en düşük puan 3.23 ile C3 ekmeğine verilmiştir. LSD testi sonuçları incelendiğinde, C1, C2 ve C3 ekmeklerinin kontrolden önemli düzeyde farklı olduğu görülmektedir ($P < 0.05$). Tüketicilerin verdikleri

puanlara göre, karahindiba bitki unu katkılı ekmeklerin çignenebilirliği, civanperçemi unu katkılı ekmeklere göre daha iyi bulunmuştur ($P < 0.05$). Ekmeklerin sertlik özellikleri incelendiğinde ise, puanların 3.42-3.86 arasında değiştiği, kontrol ekmeğinin en yüksek puanı aldığı tespit edilmiştir. Bitki unu katkılı ekmeklerin kontrol ekmeğine göre önemli oranda farklı olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Ekmeklerin yapışkanlık özellikleri incelendiğinde, puanların 3.28-3.57 arasında değiştiği ve istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Ekmeklerin ufalanma özellikleri incelendiğinde, puanların 3.30-3.67 arasında değiştiği ve ekmekler arasında istatistiksel olarak

Tıbbi bitkiler ile zenginleştirilmiş ekmeklerin duyuşal kalite karakteristikleri

anlamli bir farklılık olmadığı görülmüştür ($P < 0.05$). Tüketiciler tarafından yapılan duyuşal değerlendirme sonucuna göre, tüm ekmekler 3 ve

üzerinde puan alıp tekstür özelliği yönünden “kabul edilebilir” olarak nitelendirilmiştir.

Çizelge 4. Ekmeklerin tekstür özelliklerine ait duyuşal analiz sonuçları*¹
Table 4. Sensory analysis results of the texture properties of bread*¹

Örnek Sample	Tekstür Texture			
	Çiğnenebilirlik Chewiness	Sertlik Hardness	Yapışkanlık Adhesiveness	Ufalanma Crumbling
K	3.89±1.13 ^a	3.86±1.08 ^a	3.43±1.32 ^a	3.67±1.29 ^a
K1	3.66±1.09 ^{ab}	3.75±0.97 ^{ab}	3.31±1.18 ^a	3.58±1.26 ^a
K2	3.52±1.30 ^{abc}	3.66±1.15 ^{ab}	3.40±1.31 ^a	3.59±1.27 ^a
K3	3.52±1.27 ^{abc}	3.64±1.16 ^{ab}	3.37±1.30 ^a	3.51±1.38 ^a
C1	3.46±1.26 ^{bc}	3.64±1.17 ^{ab}	3.57±1.27 ^a	3.54±1.28 ^a
C2	3.40±1.31 ^{bc}	3.53±1.23 ^{ab}	3.37±1.27 ^a	3.36±1.27 ^a
C3	3.23±1.32 ^c	3.42±1.31 ^b	3.28±1.37 ^a	3.30±1.31 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır ($P \leq 0.05$). Sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir.

*Mean values represented by the same letters within the same column are not significantly different at $P \leq 0.05$.

Data are expressed as means \pm standard deviations

¹K: Kontrol ekmeği; K1, K2 ve K3: Karahindiba unu katkıli ekmekler; C1, C2 ve C3: Civanperçemi unu katkıli ekmekler)

¹K: control bread; K1, K2 and K3: bread enriched with dandelion flour; C1, C2 and C3: bread enriched with yarrow flour

Ekmeklerin Tüm Duyuşal Özellikleri

Ekmeklerin tüm duyuşal özellikleri görünüş, lezzet/tat, koku, tekstür, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik olmak üzere altı ana başlık altında incelenmiştir. Tüm duyuşal özelliklere ait sonuçların ortalamaları Çizelge 5'te verilmiştir.

Tüketicilere yapılan duyuşal analiz panel formu sonuçlarına göre; ekmeklerin görünüş özellikleri incelendiğinde, puanların 3.57-3.87 arasında değiştii tespit edilmiştir. LSD testi sonuçlarına göre, tıbbi bitki unu ile zenginleştirilmiş ekmeklerde kontrole göre istatistiksel olarak anlamli bir artış olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Günümüzde tüketicilerin daha sağlıklı gıdalara olan talebin artması nedeniyle, fonksiyonel, doğal, organik ve katkısız ürünler daha ilgi çekici olmuştur (Özkan Özdemir vd., 2009). Çalışmamızda kullandığımız tıbbi bitki unları ekmeklere doğal bir yapı kazandırdığı için, tüketiciler görünüş özelliklerine kabul edilebilir puanlar vermiştir. Ekmeklerin lezzet/tat özelliği incelendiğinde, puanların 2.56-3.33 arasında değiştii, C2 ve C3 ekmeklerinin lezzet/tat puanlarında diğer ekmeklere göre, istatistiksel

olarak anlamli bir düşüş olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$) Lezzet/tat puanları açısından istatistiksel olarak ($P < 0.05$) en yüksek puan (3.33) K1 örneğinde tespit edilmiştir. Ekmeklerin koku özelliği incelendiğinde, puanların 2.49-3.51 arasında değiştii tespit edilmiştir. LSD testi sonuçları incelendiğinde ise C2 ve C3 ekmeklerinin koku puanlarında diğer ekmeklere göre, istatistiksel olarak anlamli bir düşüş olduğu görülmüştür ($P < 0.05$) Koku puanları açısından istatistiksel olarak en yüksek puan K1 (3.51) ve C1 (3.49) örneklerinde tespit edilmiştir. Ekmeklerin tekstür özelliği incelendiğince, puanların 2.27-3.71 arasında değiştii ve bitki unu ile zenginleştirilmiş ekmeklerin tekstür puanlarında kontrole (3.71) göre, istatistiksel olarak anlamli bir düşüş olduğu görülmektedir ($P < 0.05$) Kontrole en yakın puanı K1 (3.58) ekmeği almıştır. Ekmeklerin ağızda bıraktığı his özelliği incelendiğinde, puanların 2.27-3.71 arasında değiştii ve bitki unu ile zenginleştirilmiş ekmeklerde kontrole göre, istatistiksel olarak anlamli bir düşüş olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Kontrol örneğine en yakın puanı (3.42) K1 ekmeği almıştır. Ekmeklerin genel kabul edilebilirliği incelendiğinde, puanların 2.31-

3.72 arasında değiştiği ve bitki unu ile zenginleştirilmiş ekmeklerde kontrol ekmeğine göre, istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Kontrol örneğine en yakın puanı (3.58) K1 ekmeği almıştır. En yüksek genel kabul edilebilirlik puanları sırasıyla Kontrol>K1>K3>K2≥C1>C2>C3 şeklinde sıralanmıştır. Tüketiciler tarafından yapılan duyusal değerlendirme sonucuna göre C2 ve C3

ekmeği hariç, tüm ekmekler 3 ve üzerinde puan alıp genel kabul edilebilirlik özelliği yönünden “kabul edilebilir” olarak nitelendirilmiştir. C2 ve C3 ekmeklerinin düşük puan almasının nedeninin civanperçemi bitkisinden kaynaklı acılık maddesinin ekmeklerin lezzet ve aromasını olumsuz yönde etkilemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 5. Ekmeklerin tüm duyusal özelliklerine ait analiz sonuçları*1

Table 5. Analysis results of all sensory properties of bread*1

Örnek Sample	Duyusal Özellikler Sensory Properties		
	Görünüş Appearance	Lezzet/Tat Flavor/Taste	Koku Smell
K	3.57±0.89 ^b	3.23±1.18 ^{ab}	3.39±1.31 ^{ab}
K1	3.83±0.80 ^{ab}	3.33±1.08 ^a	3.51±1.10 ^a
K2	3.84±0.84 ^a	3.14±1.27 ^{ab}	3.41±1.20 ^{ab}
K3	3.87±0.87 ^a	3.18±1.32 ^{ab}	3.39±1.35 ^{ab}
C1	3.87±0.89 ^a	3.16±1.41 ^{ab}	3.49±1.47 ^a
C2	3.72±0.93 ^{ab}	2.85±1.33 ^{bc}	2.99±1.45 ^{bc}
C3	3.86±0.87 ^a	2.56±1.34 ^c	2.79±1.48 ^c
Min-Max	3.57-8.87	2.56-3.33	2.79-3.51
Ort±SD	3.80±0.11	3.06±0.27	3.28±0.28
	Tekstür Texture	Ağızda Bıraktığı His Mouth Feeling	Genel Kabul Edilebilirlik General Acceptability
K	3.71±0.94 ^a	3.71±1.13 ^a	3.72±1.09 ^a
K1	3.58±0.89 ^{ab}	3.42±1.24 ^{ab}	3.54±1.15 ^{ab}
K2	3.54±1.05 ^{ab}	2.99±1.43 ^{cd}	3.04±1.36 ^{cd}
K3	3.51±1.10 ^{ab}	3.18±1.44 ^{bc}	3.24±1.39 ^{bc}
C1	3.55±1.06 ^{ab}	2.98±1.44 ^{cd}	3.00±1.37 ^{cd}
C2	3.42±1.09 ^{ab}	2.75±1.50 ^d	2.81±1.45 ^d
C3	3.31±1.18 ^b	2.27±1.47 ^e	2.31±1.36 ^e
Min-Max	3.31-3.71	2.27-3.71	2.31-3.72
Ort±SD	3.52±0.13	3.04±0.47	3.09±0.47

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır ($P \leq 0.05$). Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

*Mean values represented by the same letters within the same column are not significantly different at $P \leq 0.05$.

Data are expressed as means ± standard deviations (SD)

¹K: Kontrol ekmeği; K1, K2 ve K3: Karahindiba unu katkılı ekmekler; C1, C2 ve C3: Civanperçemi unu katkılı ekmekler)

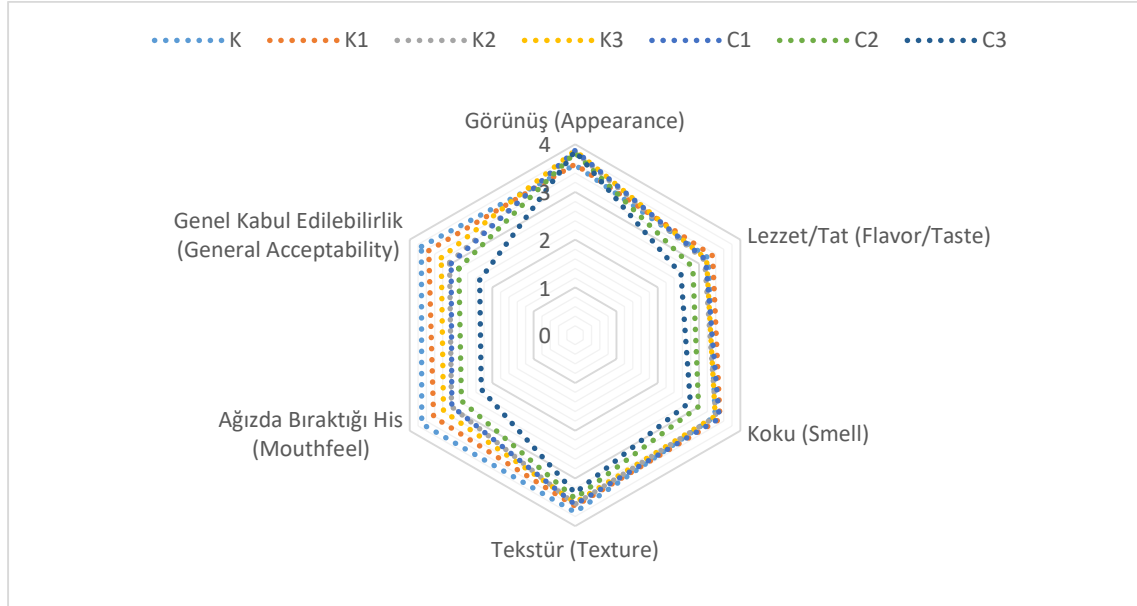
¹K: control bread; K1, K2 and K3: bread enriched with dandelion flour; C1, C2 and C3: bread enriched with yarrow flour

Ekmeklerin duyusal analiz sonuçlarının radar grafiğinde değişimi Şekil 2’de verilmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde tüm ekmeklerin duyusal özelliklerinin ortalamaları alındığında 3 ve üzerinde tespit edilmiş kabul edilebilir özelliklere

sahip oldukları belirlenmiştir. Ekmek duyusal özelliklerinden “görünüş”, lezzet/tat, koku, tekstür, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik ortalamaları arasında istatistiksel olarak ($P < 0.05$) anlamlı bir farklılık vardır.

Tüketicilerin verdikleri puanlara göre, karahindiba bitki unu katkılı ekmeklerin genel duyu özellikleri, civanperçemi unu katkılı ekmeklere göre daha iyi bulunmuştur ($P < 0.05$). Duyusal

analiz panelinde kullanılan karahindiba ve civanperçemi bitki unu katkılı zenginleştirilmiş ekmeklere ait görseller Şekil 3'te verilmiştir



Şekil 2. Tıbbi bitki unu katkılı zenginleştirilmiş ekmeklerin duyu analiz sonuçlarının radar grafiğinde değişimi (K: tıbbi bitki içermez, sadece buğday unu; K1: %1 karahindiba unu, K2: %2 karahindiba unu, K3: %3 karahindiba katkılı ekmek; C1: %1 civanperçemi unu, C2: %2 civanperçemi unu, C3: %3 civanperçemi unu katkılı ekmek)

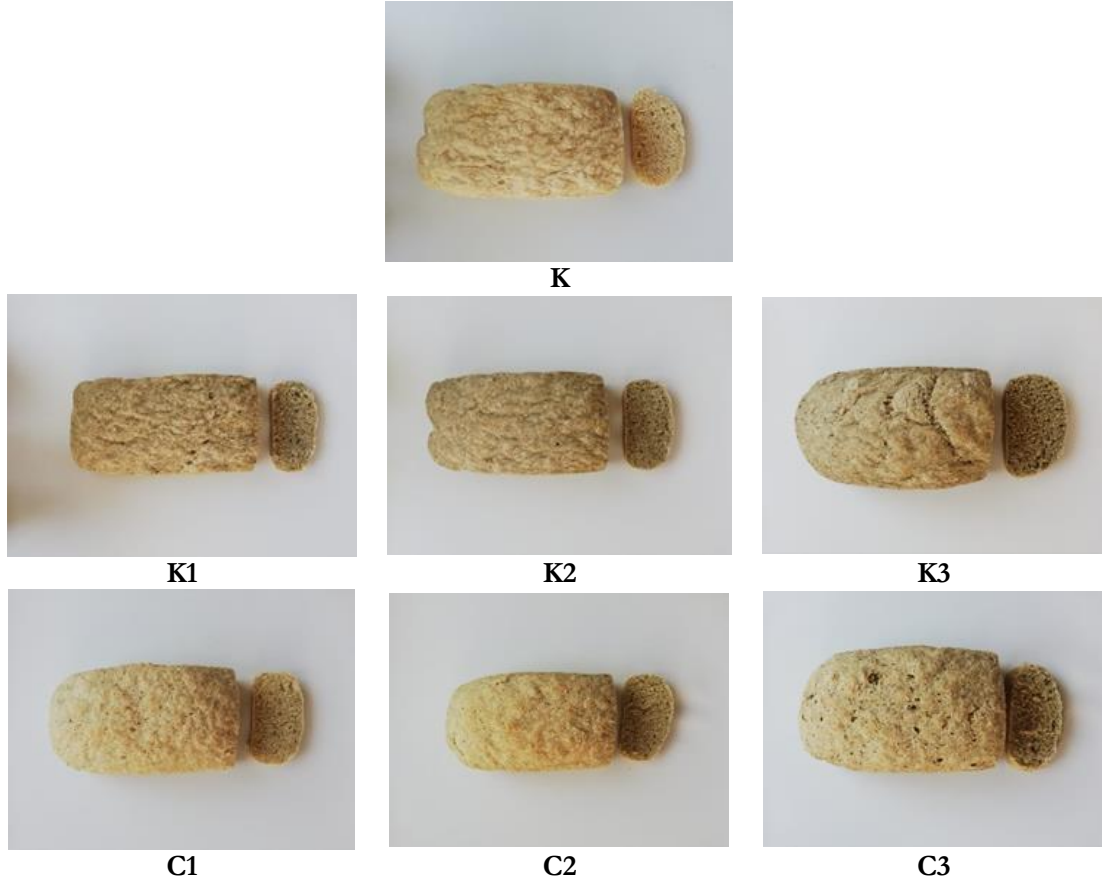
Figure 2. The change in the sensory analysis results of the bread enriched with medicinal plant flour in the radar chart (K: without medicinal plant, only wheat flour; K1: 1% dandelion flour, K2: 2% dandelion flour, K3: 3% dandelion flour-enriched bread; C1: 1% yarrow flour, C2: 2% yarrow flour, C3: 3% yarrow flour-enriched bread)

Literatüre yer alan çalışmalar incelendiğinde; Yarpuz (2011), yaptığı çalışmada, lüpen unu, karabuğday unu, guar gam ve emilgator kullanarak ürettiği zenginleştirilmiş ekmeklerin duyu analiz sonuçlarında %10 ve %20 oranında lüpen unu içeren ekmeklerin tat, koku, yumuşaklık ve genel beğeni özelliklerinde en yüksek puanı aldıklarını bildirmişlerdir. Erdemir (2015), ısı işlem görmüş bakla ezme tozu ile zenginleştirdiği ekmeklerin duyu analizler sonucunda bakla ezme tozu ilave oranı arttıkça ekmeklerin renk oranlarında azalma olurken, genel olarak %15 oranında katkı içeren ekmeklerin duyu özelliklerinde anlamlı bir farklılık olduğunu bildirmişlerdir. Arslan Burnaz vd. (2018), tıbbi ve aromatik bitkiler ile ekmeğin fenolik madde içeriğini zenginleştirmeyi amaçlamışlar ve sarı haşhaş, mavi haşhaş, kişniş, keten tohumu,

mahlep, tarçın ve zerdeçal kullanmışlardır. Duyusal analizde tarçınlı ekmek en yüksek kabul edilebilirliği gösterirken, kişnişli ekmeğin kabul edilebilir nitelikte olmadığı bildirilmiştir. Barışık ve Tavman (2018), nohut unu kullanarak zenginleştirdikleri glutensiz ekmeklerin duyu analizini değerlendirme sonucunda %40 oranında nohut unu ile zenginleştirilen ekmek en yüksek puanı alırken nohut unu içermeyen ekmek en düşük değeri almıştır. Bunun yanı sıra nohut unu miktarı arttıkça ekmekte meydana gelen sarılığın panelistlerce daha çok beğenildiği bildirilmiştir. Çalışmamızda da belirtilen literatür çalışmalarına benzer şekilde ekmeklerin duyu özelliklerini iyileştiren sonuçlara ulaşılmıştır. Çalışma sonuçları incelendiğinde, duyu özellikler tüketiciden tüketicieye değişiklik göstermekle birlikte, genel olarak tüm ekmekler ortalama puan açısından

kabul edilebilir sonuçlar göstermiştir. Tüketicilerin verdikleri genel kabul edilebilirlik puanları açısından; en çok beğenilen tıbbi bitki unu katkı eklemek K1 (%1 karahindiba bitki unu

katkılı ekmeğe), en az beğenilen ise C3 (%3 civanperçemi bitki unu katkı ekmeğe) ekmeği olmuştur.



Şekil 3. Duyusal analizde kullanılan ekmeğe örnekleri ((K: tıbbi bitki içermez, sadece buğday unu; K1: %1 karahindiba unu, K2: %2 karahindiba unu, K3: %3 karahindiba unu zenginleştirilmiş ekmeğe; C1: %1 civanperçemi unu, C2: %2 civanperçemi unu, C3: %3 civanperçemi unu ile zenginleştirilmiş ekmeğe)

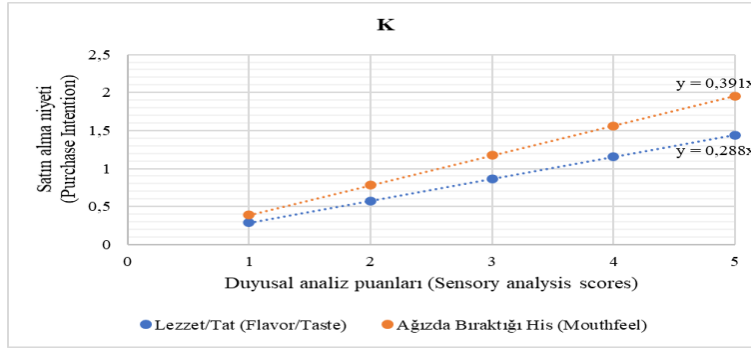
Figure 3. Bread samples used in sensory analysis (K: without medicinal plant, only wheat flour; K1: 1% dandelion flour, K2: 2% dandelion flour, K3: 3% dandelion flour-enriched bread; C1: 1% yarrow flour, C2: 2% yarrow flour, C3: 3% yarrow flour-enriched bread)

İnsanların beslenmesinde çok önemli bir yeri olan ekmeğin besinsel, duyusal ve fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi için yapılmış pek çok çalışma mevcuttur. Ancak, çalışma kapsamında kullanılan tıbbi bitkilerden karahindiba ve civanperçemi bitki unlarının ekmeğe zenginleştirme işleminde kullanıldığı ve duyusal özelliklerin incelendiği bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

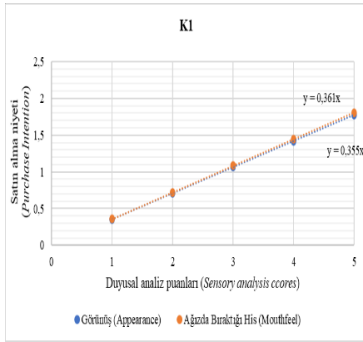
Duyusal Özelliklerin Satın Alma Niyetine Üzerine Etkisi

Ekmeğelerin duyusal özelliklerinin, tüketicilerin satın alma niyeti üzerindeki etkisini gösteren, duyusal özellik puanlarındaki 1 birimlik artışın, satın alma niyetini kaç birim artıracığına yönelik regresyon denklemleri Şekil 4'te verilmiştir.

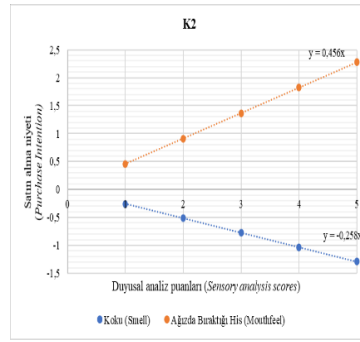
Tıbbi bitkiler ile zenginleştirilmiş ekmeklerin duyu kalite karakteristikleri



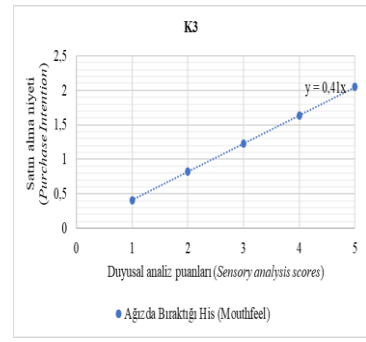
(a)



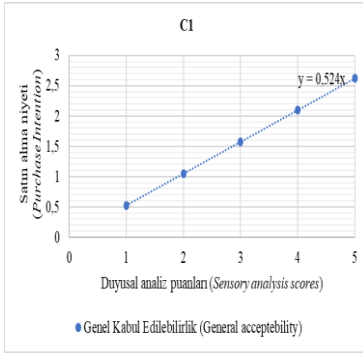
(b)



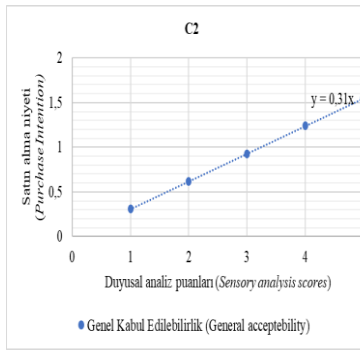
(c)



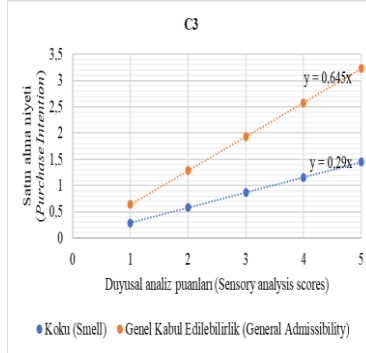
(d)



(e)



(f)



(g)

Şekil 4. Tıbbi bitki unu katkı zenginleştirilmiş ekmeklerin duyu özelliklerinin satın alma niyeti üzerine etkisinin regresyon denklemleri (a)-K kontrol ekmeği; (b), (c), (d)-K1, K2, K3 Karahindiba un katkı ekmeği; (e), (f), (g): C1, C2, C3 Civanperçemi un katkı ekmeği

Figure 4. Regression equations for the effect of sensory properties of bread enriched with medicinal plant flour on purchase intention (a)-K control bread; (b), (c), (d)-K1, K2, K3 bread enriched with dandelion flour; (e), (f), (g): C1, C2, C3 bread enriched with yarrow flour

Ekmeklerin duyu özelliklerinin satın alma niyeti üzerine etkisi incelendiğinde ekmek duyu özelliklerinin satın alma niyeti üzerinde olumlu etkisi olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamız kapsamında üretilen yedi farklı ekmek

formülasyonunun satın alma niyeti üzerinde etkili olan duyu özellikler çeşitlilik göstermektedir. Duyu özelliklerinden hangilerinin satın alma niyeti üzerinde etkili olduğu ve bu faktörlere bağlı olarak "satın alma niyeti" davranışının % değişimi

regresyon analizi sonuçlarına göre sırasıyla; kontrolde lezzet/tat ve ağızda bıraktığı his (%54.6), K1 ekmeğinde görünüş ve ağızda bıraktığı his (%66), K2 ekmeğinde koku ve ağızda bıraktığı his (%70.7), K3 ekmeğinde ağızda bıraktığı his (%60.3), C1 ekmeğinde genel kabul edilebilirlik (%63.2), C2 ekmeğinde genel kabul edilebilirlik (%57.7) ve C3 ekmeğinde genel kabul edilebilirlik (%70.7) özelliklerinin etkili olduğu tespit edilmiştir. Ekmeklerin duyuşal özellikleri ne kadar iyileşirse tüketici satın alma niyeti de o kadar çok arttığı gözlenmiştir. Satın alma niyeti görsel özellikler yanında tüketicilerin kişisel özelliklerine bağlı olarak da değişebilmektedir.

Tanık (2006), yaptığı çalışmada, tüketicilerin damak tadı ve alışkanlıkları dolayısıyla çoğunlukla beyaz ekmek tükettikleri ve ekmek alırken tat, lezzet, yenilebilirlik, görünüş, renk, depolama süresi gibi kriterlere dikkat ettikleri sonucunu bildirmiştir. Aksoylu vd. (2014), yaptıkları çalışmada ekmek tüketim alışkanlıklarının, tüketicinin cinsiyet, yaş, gelir düzeyi ve meslek grubuna ve ekmeğin tat ve ulaşılabilirliğine göre farklılık gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bununla birlikte, satın alma alışkanlıkları dikkate alındığında, ekmeklerin tat, sağlıklı, lifli, kolay bulunabilir olması ve fiyatlarının satın alma tercihinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Aksoylu vd., 2014). Bu çalışmalar, elde ettiğimiz verileri destekler nitelikte olup, renk, tat, lezzet, koku, görünüş vb. gibi duyuşal karakteristikleri tüketici tercihlerini etkilediğini göstermektedir. Panele katılan tüketiciler yeni ürünleri denemeye açık ve istekli bulunmuştur.

SONUÇ

Araştırma kapsamında seçilen iki tıbbi bitkinin de sağlık açısından faydaları olduğu yapılan literatür çalışmalarında bildirilmiştir. Çalışmamız kapsamında bu bitkilerin farklı bir alanda değerlendirilerek, günlük diyetle sıklıkla yer alan ekmeğin zenginleştirilmesi ve dengeli beslenmeye katkı sağlanması amaçlanmıştır. Araştırma sonucuna göre; değeri az bilinen tıbbi bitkilerin kullanımı toplum sağlığına olumlu yönde fayda sağlayacak ve sürdürülebilir beslenmeyi teşvik edecektir. Ekmeğin zenginleştirilerek tüketilmesi besin içeriklerinin iyileşmesini sağlayacaktır.

Ayrıca karahindiba ve civanperçemi gibi değerli tıbbi bitkilerin besleyici ve fonksiyonel özelliklerinden gıda ve farklı bilim dallarında yararlanılması gerektiği ve yeni ürün geliştirme çalışmalarında fonksiyonel gıda katkısı olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir. Çalışmamızda, ekmeklerin duyuşal özellikleri ne kadar iyileşirse tüketici satın alma niyeti de o kadar çok arttığı, bazı özelliklerin bu durumu daha çok etkilediği tespit edilmiştir. Satın alma niyeti görsel özellikler yanında tüketicilerin kişisel özelliklerine bağlı olarak da değişebileceği düşünülmekte olup, bu konu üzerinde çalışmalar yapılması önerilmektedir. Buna ek olarak duyuşal analizler sırasında katılımcıların bazı ekmeklerde hafif bir acı tat olduğu ve bu tadın iyileştirilmesi durumunda ekmeklerin tüketilebileceği yönünde geri dönüşler alınmıştır. Bu durumun acılık hissedilen tıbbi bitkinin daha düşük oranlarının kullanılması ile giderilebileceği öngörülmekte olup, bu konu üzerine ve zenginleştirilmiş ekmeklerin diğer besleyici özellikleri üzerine çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu makale ile ilgili başka kişi veya kurumlar ile çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

Bu çalışma ilk yazarın yüksek lisans tezinden türetilmiştir. Gözde ÖZDEMİR, tez analizlerinin takibi, istatistiksel analiz ve yazımını sağlamıştır. Tez danışmanları, Dilek DÜLGER ALTINER ve Yasemin ŞAHAN araştırmanın planlanması, yürütülmesi, istatistiksel değerlendirilme ve makale yazım aşamasında görev almıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamışlardır.

TEŞEKKÜR

Regresyon analizindeki katkılarından dolayı, Kocaeli Üniversitesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölüm Başkanı Doç. Dr. Selda UCA'ya teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKÇA

Adal, S. (2018). Yumurta Kabuğu Tozu Kullanılarak Mineral Madde Bakımından Zenginleştirilen Ekmeklerin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Manisa

- Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Manisa, Türkiye, 124 s.
- Adıgüzel, F., Kızılaslan, N. (2020). İstanbul İli Küçükçekmece İlçesinde Tüketicilerin Ambalajlı Ekmek Tüketim Tercihleri. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi (GBAD)*, 3(2): 24–40, <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gbad/issue/57304/721427>.
- Ahbab, B. Ö. (2014). Renklerin Pazarlama Üzerindeki Etkisi. İstanbul Kültür Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enst. İşletme Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 123 s.
- Ahmad, B. S., Talou, T., Straumite, E., Sabovics, M., Kruma, Z., Saad, Z., Hijazi, A., Merah, O. (2018). Protein Bread Fortification with Cumin and Caraway Seeds and By-Product Flour. *Foods*, 7(3): 28, <https://doi.org/10.3390/foods7030028>.
- Ahmadi-Dastgerdi, A., Gholami-Ahangaran, M., Saafizadeh, Z. (2019). Antibacterial And Antifungal Effect Of Achillea Millefolium Essential Oil During Shelf Life Of Mayonnaise. *Food Sci Technol*, 13(4): 12–20, <https://doi.org/10.15673/fst.v13i4.1568>.
- Akgün, F. B. (2007). Ekşi Hamur Tozu Eldesi ve Ekmek Üretiminde Kullanılabilir Olanakları. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Türkiye, 68 s.
- Aksoylu, Z., Savlak, N. Y., Yangıç, Ç., Çağrı, Ö., Köse, E. (2014). Manisa İl Merkezinde Bireylerin Ekmek Çeşitlerini Tüketim Alışkanlıklarının Belirlenmesi. *GIDA* 39(3): 147–154, <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida/issue/6966/92857>.
- Annett, L.E., Spaner, D., Wismer, W.V. (2007). Sensory Profiles of Bread Made from Paired Samples of Organic and Conventionally Grown Wheat Grain. *J Food Sci*, 72(4): 254–260, doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00331.x.
- Arslan Burnaz, N., Hendek Ertop, M., Karataş Ş. M. (2018). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanımı ile Ekmeğin Fenolik Madde İçeriğinin Zenginleştirilmesi. *GIDA*, 43(2): 240–249, <https://doi.org/10.15237/gida.GD17098>.
- Aydın, F., Yıldız, Ş. (2011). Sivas İlinde Ekmek Tüketim Alışkanlıkları ve Tüketici Dinamiklerinin Belirlenmesi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, A 42 (2): 165–180.
- Barışık, D., Tavman Ş. (2018). Glütensiz Ekmek Formülasyonlarında Nohut Unu Kullanımının Ekmeğin Kalitesi Üzerine Etkisi. *Akademik Gıda*, 16(1): 33–41, <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.415652>.
- Benítez, V., Esteban, R. M., Moniz, E., Casado, N., Aguilera, Y. (2018). Breads fortified with wholegrain cereals and seeds as source of antioxidant dietary fibre and other bioactive compounds. *J Cereal Sci*, 82: 113–120, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.06.001>.
- Bilgiçli, N. (2000). Melash Besin Ortamında Ekmek Mayası Üretim Parametrelerinin Tespiti ve Sıvı Mayanın Likid Ferment Sistemi ile Ekmek Yapımında Kullanılma İmkanları. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 46 s.
- Boyacı, B. B. (2008). Zenginleştirilmiş Unlardan Farklı Koşullarda Üretilen Ekmeklerin Bazı B Vitamini İçeriklerinin İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 148 s.
- Brahma, J., Narzary, D. (2015). Bioactive and Nutraceutical Compound Manipulation from the Leaves of Some Wild Edible Medicinal Plants in Chirang District of Assam, India. *Am J Ethnomed*, 2(6): 356–364.
- Burnaz, N. A., Ertop, M.H. (2020). The Effect of Milk Powder Addition on the Properties of Bread Quality and Funcrionality. *GIDA*, 45(2): 193–203
- Ceyhun Sezgin, A., Ceylan, V., Yılmaz, A. (2019). Kültür Aktarımında Gastronomik Öğelerin Yeri: Anadolu'nun Farklı Yörelere İstanbul'a Göç Eden Aileler Üzerine Bir Araştırma. *Eurasian, Acad Sci*, Özel Sayı: 185–194.
- Coşkun, F. B. (2012). Zenginleştirilmiş Kahvaltılık Tahıl Ürünlerinde Depolama Süresinin Bazı B Vitamini İçerikleri Üzerine

- Etkisinin İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 96 s.
- Demir, M. K., Elgün, A., Argun, M. Ş. (2009). Sütçülük Yan Ürünlerinden Peynir Altı, Yayıklık Altı ve Süzme Yoğurt Suları Katkılarının Bazı Ekmek Özelliklerinin Etkileri Üzerinde Bir Araştırma. *GIDA*, 34(2): 99–106, <https://dergipark.org.tr/en/pub/gida/issue/6845/91791>.
- Demir, M. K., Olcay, N. (2020). Ekmek Üretiminde Farklı Turunçgil Aldebolarnın Kullanım İmkanları. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(6): 1545–1553, <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.730246>.
- Demirezer, Ö., Ersöz, T., Saraçoğlu, İ., Şener, B., Köroğlu, A., Yalçın, F. N. (2019). *A'dan Z'ye Tıbbi Bitkiler*. Hayitap, İstanbul, Türkiye, 520 s. ISBN: 9786057674340.
- Duran, M. Ö., Özçelik, S., Certel, M., Erbaş, M. (2004). Ticari Şartlarda Ekmek Üretiminde Patates ve Yulaf Unu Kullanımının Hamur ve Ekmek Özelliklerine Etkileri. *GIDA*, 29(2): 139–147, <https://dergipark.org.tr/en/pub/gida/issue/6985/93080>.
- Durmuş, Y. (2019). Fındık Zarı ve Modifiye Nişasta İlavesinin Ekşi Hamur Reolojisi, Ekmek Kalitesi ve Sindirilebilirlik Üzerine Etkileri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Doktora Tezi, Samsun, Türkiye, 222s.
- Dursun, S. (2006). Ekmek Zenginleştirmede Protein Kaynağı Olarak Balık Etinin Kullanımı. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Türkiye, 99 s.
- Edreva, A., Vitkova, A., Gesheva, E. (2019). Field-Cultivated Plants From Achillea Millefolium Group: Total Flavonoid Content, Antiradical And Antioxidant Activities In Stems And Leaves, And Ratio Of Plant Parts. *Genet Plant Physiol*, 9(1–2): 3–10.
- Ekmekçi Bal, Z., Sayılı, M., Gözener, B. (2013). Tokat İli Merkez İlçede Ailelerin Ekmek Tüketimleri Üzerine Bir Araştırma. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30(1): 61–69, <https://doi.org/10.13002/jafag186>.
- Elía, M. (2011). A Procedure for Sensory Evaluation of Bread: Protocol Developed by a Trained Panel. *J Sens Stud*, 26: 269–277, <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2011.00342.x>.
- Erdemir, Z. Ş. (2015). Isıl İşlem Görmüş Bakla Ezme Tozunun Ekmek Yapımında Kullanımı ve Kalite Kriterleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Türkiye, 71 s.
- Giboreau, A., Dacremont, C., Egoroff, C., Guerrand, S., Urdapilleta, I., Candel, D., Dubois, D. (2007). Defining sensory descriptors: Towards writing guidelines based on terminology. *Food Qual Prefer*, 18: 265–274, <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2005.12.003>.
- Göçmen, D. (2001). Ekşi Hamur ve Laktik Starter Kullanımının Ekmekte Aroma Oluşumu Üzerine Etkileri. *GIDA*, 26(1): 13–16, <https://dergipark.org.tr/en/pub/gida/issue/6917/92407>.
- Gül, V. (2014). Rize Yöresine Ait Tıbbi ve Aromatik Bitkilere Genel Bir Bakış. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(4): 97–107, <https://dergipark.org.tr/en/pub/jist/issue/7940/388682>.
- Ho, P. (2015). Statistical Methods and Tools for Analysing Sensory Food Texture. In: *Modifying Food Texture, vol 2 – Sensory Analysis, Consumer Requirements and Preferences*, Chen, J., Rosenthal, A. (Eds.) Woodhead Publishing, pp. 45–88.
- Howyze, M. S., Aslani, S., Pooraskari, O. (2019). Essential Oil Profile of an Iranian Yarrow (*Achillea millefolium*). *J Essent Oil Bear Plants*, 33(2): 395–300, <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1586589>.
- ISO (International Organization for Standardization) 5492 (1992). Sensory analysis. Vocabulary.
- ISO (International Organization for Standardization) 8586 (1993). Sensory analyses.

- General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. Part 1: Selected assessors ISO (International Organization for Standardization) 8589 (2007). Sensory analysis – general guidance for the design of test rooms. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- İkikat Tümer, E., Aytıp, Y., Yavuz, K. B. (2019). Ekmek İsraf Etme Durumunun ve İsrapta Etkili Olan Faktörlerin Belirlenmesi: Kahramanmaraş Kent Merkezi Örneği. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6(3): 432–439, <https://doi.org/10.30910/turkjans.595223>.
- İlhan, E., Büyükişgi, A. N., Ermiş, E. (2020). Mavi-Yeşil Alg Spirulina platensis'in Buğday Ekmeğinde Kimyasal, Duyusal ve Antifungal Etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 24(2): 22–29, <https://dergipark.org.tr/en/pub/bursagida/issue/56608/788050>.
- Jaradat, N., Zaid, A. N., Hussein, F., Zaqzouq, M., Aljammal, H., Ayes, O. (2017). Anti-Lipase Potential of the Organic and Aqueous Extracts of Ten Traditional Edible and Medicinal Plants in Palestine; a Comparison Study with Orlistat. *Medicines*, 4(4): 89, <https://doi.org/10.3390/medicines4040089>.
- Khoozani, A. A., Kebede, B., Birch, J., Bekhit, A. E.-D. A. (2020). The Effect of Bread Fortification with Whole Green Banana Flour on Its Physicochemical, Nutritional and In Vitro Digestibility. *Foods*, 9(2): 152, <https://doi.org/10.3390/foods9020152>.
- Kütük, D. (2010). Farklı Depolama Koşullarının Zenginleştirilmiş Makarnanın Vitamin İçeriği Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 92 s.
- Mikulec, A., Kowalski, S., Makarewicz, M., Skoczylas, L., Tabaszewska, M. (2020). Cistus Extract as a Valuable Component for Enriching Wheat Bread. *LWT - Food Sci Technol*, 118: 108713, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108713>.
- Onoğlu, T. A., Elmacı, Y. (2019). Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. Sıdaş Medya Ltd. Şti., Türkiye, 135 s. ISBN: 9789944566087.
- Ödeş, N. (2018). Farklı Oranlarda Üzüm Çekirdeği İçeren Ekmeklerin Ekmek Verimi ve Kalitesini Glikoz Oksidaz ile İyileştirme İmkanlarının Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Isparta, Türkiye, 102 s.
- Özdemir, M., Arslanoğlu, Ş. F., Sert, S. (2020). Geçmişten Günümüze Karahindiba (Taraxacum officinale) Bitkisi. 3. Uluslararası 19 Mayıs Yenilikçi Bilimsel Yaklaşım Kongresi, 16-19 Mayıs 2020, Samsun, Türkiye, 81–89 s.
- Özkan Özdemir, P., Fettahloğlu, S., Topoyan, M. (2009). Fonksiyonel Gıda Ürünlerine Yönelik Tüketici Tutumlarını Belirleme Üzerine Bir Araştırma. *Ege Akademik Bakış*, 9(4): 1079–1099.
- Pala, A. (2012). Farklı Yöntemlerle Kurutularak Elde Edilen Boza Tozunun Hamur Reolojik ve Ekmek Kalitesi Üzerine Etkisi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale, Türkiye, 70 s.
- Penso, G. (1980). The Role of WHO in the Selection and Characterization of Medicinal Plants (Vegetable Drugs). *Journal Ethnopharmacol*, 2(2): 183–188, [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(80\)90013-6](https://doi.org/10.1016/0378-8741(80)90013-6).
- Ranum, P. M. (2000). Cereal Enrichment and Nutrient Labeling. In Handbook of Cereal Science and Technology. CRC Press, 790 s. ISBN: 9780824782948
- Robles-Ramírez, M.D., Ortega-Robles, E., Monterrubio-López, R., Mora-Escobedo, R., Beltrán-Orozco, M.C. (2020). Barley Bread with Improved Sensory and Antioxidant Properties. *International J Gastron Food Sci*, 22: 100279, <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100279>.
- Shiv, B., Edell, A. J., Payne, W. J. (1997). Factors affecting the impact of negatively and positively framed ad messages. *J Consumer Res*, 24: 285–294, <https://doi.org/10.1086/209510>.

- Shrivastava, C., Chakraborty, S. (2018). Bread from Wheat Flour Partially Replaced by Fermented Chickpea Flour: Optimizing the Formulation and Fuzzy Analysis of Sensory Data. *LWT-Food Sci Technol*, 90: 215-223, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.019>.
- Tanık, O. (2006). Ekmek Üretiminde Kalite Uygulamaları ve Müşteri Memnuniyet Dinamiklerinin Belirlenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 85 s.
- TGK, 2016. Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Kullanılabilecek Bitkiler ve Bitkisel Preparatlar Tebliği, Bölüm-2: Bitki Listeleri ve Bitkilerin, Bitki Kısımlarının ve Bitkisel Preparatların Gıdalarda Kullanımı, Ek-5, 08.02.2016. <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Duyuru/172/Turk-Gida-Kodeksi-Gidalar-Kullanilabilecek>
- Tiong, S. A., Chandra-Hioe, M. V., Acrot, J. (2015). Thiamin Fortification of Bread-Making Flour: Retention in Bread and Levels in Australian Commercial Fortified Bread Varieties. *J Food Compos Anal*, 38: 27–31, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.11.003>.
- TMO (2013). 2013 Yılı Ekmek İsrafını Önleme Kampanyası ve Sonuçları. <https://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/Kampanya/TanitimKitabi.pdf> (Accessed: 23.03.2021)
- TUBER 2019. Türkiye Beslenme Rehberi (TUBER) https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/saglikli-beslenme-hareketli-hayatdb/Turkiye_Beslenme_Rehberi_TUBER_18_04_2019.pdf (Accessed: 24.03.2021)
- Tuluk, K. (2017). Farklı Oranlarda Lupin Unu Kullanılarak Üretilen Beyaz Ekmek ve Tam Buğday Ekmeğinin Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 171 s.
- Turan, Ş. (2014). Ülkemizde Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Tıbbi Bitkilerin Yapraklarında Ağır Metal ve Mineral Besin Element İçeriklerinin Tayini. Marmara Üniversitesi Gen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 265 s.
- Uzundumlu, A. S., Yıldırım, B. Z., Kurtoglu, S. (2018). Erzurum İli'nde Ekmek Tüketimini Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi. *J Acad Soc Sci Stud*, 6(77): 17–31, <http://dx.doi.org/10.16992/ASOS.14023>.
- Varlı, M., Hancı, H., Kalafat, G. (2020). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretim Potansiyeli ve Biyoyararlılığı. *Res J Biomed Biotechnol*, 1: 24–32, <https://dergipark.org.tr/en/pub/rjbb/issue/56312/710963>.
- Verhagen, H., Alonso-Andicoberry, C., Assunção, R., Cavaliere, F., et al. (2021). Risk-benefit in food safety and nutrition – Outcome of the 2019 Parma Summer School. *Food Res Int*, 141: 110073, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110073>.
- Vindras-Fouillet, C., Ranke, O., Anglade, J., Taupier-Letage, B., Véronique, C., Goldringer, I. (2014). Sensory Analyses and Nutritional Qualities of Hand-Made Breads with Organic Grown Wheat Bread Populations. *Food Nutr Sci*, doi: 10.4236/fns.2014.519199
- Yarpuz, D. (2011). Glutensiz Ekmek Üretimi Üzerine Araştırmalar. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 113 s.
- Yiğit, A. H., Doğan, İ. S. (2010). Ağrı İlindeki Ekmek Fırınlarnın Bazı Özelliklerinin Değerlendirilmesi Üzerine Bir Anket Çalışması. *YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi*, 20(2): 75–87, <https://dergipark.org.tr/tr/pub/yyutbd/issue/21983/236037>.

KIZILÖTESİ, MİKRODALGA, ULTRASES TEKNOLOJİLERİ VE KOMBİNASYONLARI KULLANILARAK MODİFİYE EDİLMİŞ DOĞAL BİYOPOLİMERLERİN ÇEŞİTLİ ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE BİR DERLEME

Lale Acar¹, Semin Özge Keskin^{1,2*}

¹Kocaeli Üniversitesi Polimer Bilimi ve Teknolojisi, Umuttepe/Kocaeli, Türkiye

²Kocaeli Üniversitesi İzmit MYO Gıda Teknolojisi, Kartepe/Kocaeli, Türkiye

Geliş / *Received*: 26.01.2021; Kabul / *Accepted*: 05.05.2021; Online baskı / *Published online*: 14.05.2021

Acar, L., Keskin, S.Ö. (2021). Kızılötesi, mikrodalga, ultrases teknolojileri ve kombinasyonları kullanılarak modifiye edilmiş doğal biyopolimerlerin çeşitli özellikleri üzerine bir derleme. *GIDA* (2021) 46 (4) 785-802 doi: 10.15237/gida. GD21022.

Acar, L., Keskin, S.Ö. (2021). A review on various properties of natural biopolymers modified by infrared, microwave, ultrasound technologies and their combinations. GIDA (2021) 46 (4) 785-802 doi: 10.15237/gida. GD21022

ÖZ

Doğal biyopolimerler, gıda, ambalajlama, tekstil, otomotiv, tıp, ilaç, vb. birçok alanda kullanılan çevre dostu, yeşil polimerlerdir. Doğal biyopolimerlerin farklı teknolojiler kullanılarak modifiye edilmeleriyle fonksiyonellikleri geliştirilebilmektedir. Modifiye edilmiş doğal biyopolimerler, gıda sanayinde enkapsülasyon malzemesi ve yüksek performanslı yenilebilir film, kaplama veya fonksiyonel gıda bileşeni olarak kullanılabilir. Kızılötesi, mikrodalga, ultrases teknolojileri ve kombinasyonları, kendilerine özgü etki mekanizmalarını kullanarak doğal biyopolimerleri degrade ve depolimerize etmekte ve fonksiyonelliklerini olumlu yönde etkilemektedirler. Mikrodalga ve ultrases-mikrodalga teknolojileri kullanılarak ekstraksiyon ve enzimatik hidroliz gibi işlemlerin verimi artırılabilir, işlem süresi kısaltılabilir ve elde edilen polimerlerin özellikleri iyileştirilebilir. Bu makalede, kızılötesi, mikrodalga ve ultrases teknolojileri ve kombinasyonlarının etki mekanizmalarından kısaca bahsedilerek bu teknolojiler kullanılarak modifiye edilmiş doğal biyopolimerlerin çeşitli özellikleri derlenmiş, mikrodalga ve ultrases-mikrodalga teknolojilerinin ekstraksiyon, enzimatik hidroliz gibi işlemlerin verimliliği, işlem süresi ve elde edilen polimerlerin özellikleri üzerindeki etkilerine yer verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Doğal biyopolimer, kızılötesi, kombinasyon, mikrodalga, modifikasyon, ultrases

A REVIEW ON VARIOUS PROPERTIES OF NATURAL BIOPOLYMERS MODIFIED BY INFRARED, MICROWAVE, ULTRASOUND TECHNOLOGIES AND THEIR COMBINATIONS

ABSTRACT

Natural biopolymers are environmentally friendly, green polymers, used in various fields, such as food production, food packaging, textile, automotive, medicine, drug, etc. Modification of natural biopolymers by use of different technologies can improve their functionalities. Modified natural biopolymers can be used as an encapsulation material, an ingredient of high performance edible film, coating or a functional food. Infrared, microwave and ultrasound and their combinations can degrade

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉: seminozgekeskin@gmail.com

☎: (+90) 262 351 3286-87/127

☎: (+90) 262 351 3288

Lale Acar; ORCID no: 0000-0002-5889-9843

Semin Özge Keskin; ORCID no: 0000-0002-4727-1508

and depolymerize natural biopolymers and affect their functionalities in a positive manner, according to their specific action mechanisms. Ultrasound and ultrasound-microwave combination technologies can increase extraction and enzymatic hydrolysis yield, decrease process time and improve properties of polymers. In this paper, action mechanisms of infrared, microwave and ultrasound technologies were mentioned briefly, various properties of natural biopolymers modified by those technologies and effects of ultrasound and ultrasound-microwave combination technologies on yield, process time of extraction and enzymatic hydrolysis processes were featured.

Keywords: Natural biopolymer, infrared, combination, microwave, modification, ultrasound

GİRİŞ

Hayvan, bitki, mikroorganizma gibi biyolojik kaynaklardan elde edilen polimerler, doğal biyopolimerler olarak adlandırılırlar. Günümüzde doğal biyopolimerlere olan ilgi, biyoyumlulukları ve biyolojik olarak parçalanabilirlikleri nedeniyle gün geçtikçe artmaktadır (Bhatia., 2016; Balaji vd., 2018). Tüketiciler, petrol ve diğer yenilenemeyen kaynaklara bağımlılığı azaltan, çevre dostu ürünler talep etmektedirler (Dangaran vd., 2009).

Biyopolimerlerin doğal haliyle işlenmesinin getirdiği teknolojik zorluklar ve kalite problemleri, çeşitli teknolojiler kullanılarak modifiye edilmelerini zorunlu kılmaktadır. Bu kapsamda, fiziksel teknolojiler, güvenli ve kolay kullanılabilir olmalarının yanı sıra sürdürülebilir ve çevre dostu olmalarından dolayı önemli bir yere sahiptir. Kızılötesi, mikrodalga, ultrases ve bunların kombine uygulamaları, fiziksel modifikasyon yöntemlerinden bazılarıdır. Bu teknolojiler kullanılarak polimer zincirleri arasındaki bağlar koparılmakta, polimerlerin molekül ağırlığı, çözünürlük, termal stabilite vb. gibi birçok özelliğinde değişiklikler meydana getirilebilmektedir.

Kızılötesi radyasyon, 0.78 ile 1000 μm arasındaki dalgaboyu aralığında elektromanyetik dalgalar oluşturur (Riadh vd., 2015; Semwal ve Meera, 2020; Lee., 2021). Kızılötesi radyasyonu, elektromanyetik radyasyon spektrumunda, görünür ışık bölgesi (0.38–0.78 μm) ile mikrodalga (1–1000 μm) arasında bulunur. Kızılötesi ışınlar dalga boylarına göre kendi içerisinde üç bölgeye ayrılmaktadır. Bunlar, yakın kızılötesi (NIR) (0.78–1.4 μm), orta kızılötesi (MIR) (1.4–3.0 μm) ve uzak kızılötesi (FIR) (3.0–1000 μm) radyasyonudur (Riadh vd., 2015; Lao vd., 2019; Lee, 2021; Rastogi, 2021). Ancak literatürde bu üç bölgeyi tanımlayan dalga boylarının alt ve üst

sınırları küçük farklılıklar gösterebilmektedir (Yılmaz Tuncel ve Tuncel, 2016). Kızılötesi ışınları bir materyalle temas ettiğinde, materyal tarafından yansıtılabilir, materyalin içinden geçebilir veya materyal tarafından absorbe edilebilir. Kızılötesi ışınları materyal tarafından absorbe edildiğinde, atomlar arası bağlarda titreşimsel değişikliklere neden olmaktadır. Kızılötesi ışınlarının yarattığı titreşim ve sürtünmeden dolayı materyalin yüzeyinde ısı üretilmekte; ısı, yüzeyden merkeze kademeli olarak iletilmekte böylece materyalin içi ısıtılmaktadır. (Aboud vd., 2019; Yadav vd., 2020; Rastogi, 2021).

Kızılötesi ısıtma işlemi, daha kısa uygulama süresi (yüksek ısı transfer katsayısı), daha yüksek enerji verimliliği, tek tip ürün sıcaklığı, temiz çalışma, daha düşük enerji maliyeti gibi çeşitli avantajlara sahip olduğundan tarımsal ürünlerin işlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Uraives ve Choomjaihan, 2019; Rastogi, 2021). Özellikle son yıllarda gıda işlemede kurutma, pişirme, kavurma, haşlama, pastörizasyon ve çözme gibi birçok işlem için kullanılmaktadır (Rastogi, 2021). Kızılötesi ısıtmanın kullanıldığı bir diğer alan ise biyopolimerlerin modifikasyonudur. Örneğin, doğal nişastalar, yüksek kesme hızı ve kuvvetine, düşük asitliğe ve yüksek-düşük sıcaklıklara karşı dayanıksızdır. Doğal nişastaların özelliklerini geliştirmek amacıyla modifikasyona ihtiyaç duyulmaktadır (İsmailoğlu ve Başman, 2015). Kızılötesi ısıtma da nişasta modifikasyonunda kullanılan bir teknolojidir (İsmailoğlu ve Başman, 2015, 2016; Çengelköy Köz, 2019). Farklı dalgaboylarındaki kızılötesi radyasyonla nişastanın granül yapısının ve reolojik özelliklerinin değiştiği ve nişastanın elde edildiği kaynağa bağlı olarak bu değişimlerin farklılık gösterdiği belirtilmektedir (Guo vd., 2020; Semwal ve Meera, 2020). Kızılötesi ısıtmada, uygulama sıcaklık ve süresinin

arttırılmasıyla tapiyoka nişastasının şişme gücünün ve sudaki çözünürlüğünün arttığı ve nişastanın iyotla verdiği rengin değişim gösterdiği bulunmuştur (Uraives ve Choomjaihan, 2019). Tavlanmış buğday ve mısır nişastaları ile yapılan çalışmalarda, kızılötesi ısıtma işleminin, nişastaların jelatinizasyon derecesini, kristalinitesini, reolojik özelliklerini ve sudaki çözünürlüğünü etkilediği tespit edilmiştir (İsmailoğlu ve Başman, 2015, 2016; Çengelköy Köz, 2019). Elde edilen sonuçlar, kızılötesi ısıtmanın nişasta modifikasyonunda etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Mikrodalgalar, elektromanyetik spektrumun radyo dalgaları ile kızılötesi ışınları arasında kalan, frekansları 300 MHz-300 GHz, dalga boyları 1mm-1m arasında olan iyonize edici olmayan elektromanyetik dalgalardır (Rattanadecho ve Makul, 2016; Qin vd., 2016; Martins vd., 2019; Verma vd., 2020). Mikrodalgayı soğuran malzemelerde ısınma, “dipol etkileşim” ve “iyonik iletim” olmak üzere iki mekanizma ile olmaktadır. Dipol etkileşimde, dipol momentli malzemeler (örneğin su molekülü), elektrik alan altında dönme hareketi yapmakta, bu dönme hareketi sonucu oluşan sürtünme kuvveti, moleküllerin enerji kazanıp ısınmasına neden olmaktadır. İyonik iletimde iyonlar, mikrodalganın elektrik alanının neden olduğu polarite değişimine bağlı olarak hareket etmekte ve çarpışmaktadırlar. Bu çarpışma sonucu açığa çıkan kinetik enerji, ısı enerjisine dönüşmekte ve iyon içeren madde ısınmaktadır (Mello vd., 2014; Martins vd., 2019; Verma vd., 2020). Mikrodalga ısıtma ile polimer zincirleri arasındaki hidrojen bağları kırılmakta ve moleküller arası çapraz bağlanmalar güçlenmektedir (Wang vd., 2013; Wang vd., 2016; Sun vd., 2018). Mikrodalga radyasyonu, homojen ısı dağılımı, daha iyi penetrasyon derinliği, daha kısa işleme süresi, daha yüksek verim, daha iyi ürün kalitesi, düşük maliyet, daha yüksek tekrarlanabilirlik sağlayan çevre dostu, daha temiz, daha yeşil bir yaklaşım sunması gibi avantajları nedeniyle gıda sanayi başta olmak üzere (fırınlama, pişirme, çözme, haşlama, dehidrasyon, pastörizasyon, sterilizasyon, temperleme gibi) bir çok sektörde giderek daha fazla kullanım alanı bulmaktadır (Keskin, 2003; Keskin vd., 2004a,

2004b, 2005; Singh vd., 2012; Desbrières vd., 2014; Rattanadecho ve Makul, 2016; Wang vd., 2016; Yang vd., 2017; Mizutani vd., 2019).

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, mikrodalga ısıtmanın çeşitli kaynaklardan elde edilen nişastaların reolojik ve termal özelliklerini, kristal yapısını ve sindirilebilirliğini etkilediği görülmektedir (Stevenson, 2005; Anderson ve Guraya, 2006; Ma vd., 2015; Nadiyah vd., 2015; Oyeyinka vd., 2019; Kumar vd., 2020). Mikrodalga ısıtmanın yağların kimyasal kaliteleri ve oksidatif stabiliteyi üzerine etkilerini inceleyen çalışmalarda, mikrodalga ısıtmanın yağların serbest yağ asidi profillerinde ve oksidatif stabiliteyi etkilediği görülmektedir (Tan vd., 2001; Pop, 2018; Arifoğlu ve Ögütçü, 2019; Mizutani vd., 2019; Karrar vd., 2020).

Ultrases işlemi, çeşitli biyopolimerleri depolimerize etmek için kullanılan yöntemlerden bir diğeridir. Ultrases işlemi, polimerlerin yapısını fiziksel olarak bozabilecek veya bileşenler arasında belirli kimyasal reaksiyonların oluşmasına yol açabilecek basınç, kayma kuvveti ve ısı üretmektedir. İnsan kulağı, 16 Hz ile 20 kHz frekansları arasındaki dalgalı enerjiyi ses olarak algılayabilir (Kasaai, 2013; Guimaraes vd., 2018; Bhargava vd., 2021). 20 kHz' den fazla olan, insan kulağı tarafından algılanamayacak kadar yüksek ses frekansı bölgesine de ultrases bölgesi adı verilmektedir (Firouz vd., 2019; McKenzie vd., 2019). Diğer bir ifadeyle ultrases, saniyede 20 000 veya daha fazla ses dalgasından oluşan mekanik bir enerjidir (Türk, 2013; Virkutyte, 2015). Sıvı içine uygulanan ultrases dalgaları, sürekli şekilde basınç ve genleşme döngüleri oluşturmaktadır. Bu döngüler sırasında moleküller birbirine doğru itilir ve uzaklaştırılır. Uzaklaşma sırasında ultrases kuvveti yüzey gerilimi kuvvetini aştığında sıvı içinde kabarcıklar oluşmaktadır. Bu kabarcıkların oluşumuna ve gelişmesine ‘kavitasyon’ denir (Gallo vd., 2018; Firouz vd., 2019). Bu işlem sonucunda, polimer zincirleri arasındaki kovalent ve kovalent olmayan bağlar kırılmakta ve polimer parçalanmaktadır (Akyüz, 2010).

Çeşitli uygulamalarda kullanılan ultrases dalgaları, yoğunluk ve frekansa bağlı olarak, düşük ve yüksek yoğunluklu ultrases olarak iki kategoriye ayrılabilir. Yüksek frekanslarda ve düşük güçlerde ultrases dalgaları fiziksel ölçümlerde, özellikle tıbbi ve diagnostik alanlar için kullanılmaktadır, “tanısal dalgalar” olarak da tanımlanmaktadır. Yüksek yoğunluklu ve düşük frekanslı ultrases dalgaları, polimerlerin fiziksel, mekanik ve kimyasal özellikleri üzerinde önemli etkilere neden olan frekansları 20 ila 100 kHz arasında değişen, yoğunlukları 10 ila 1000 W / cm^2 aralığında olan dalgalar (Gallo vd., 2018; Firouz vd., 2019; Bhargava vd., 2021). Doğal biyopolimerleri modifiye etmek için de yüksek yoğunluklu ultrases uygulaması kullanılabilmekte ve bu uygulama, giderek daha fazla bilimsel araştırmanın konusu olmaktadır (Arzeni vd., 2012; Vera vd., 2020).

Ultrases uygulaması, yüksek etkinliği, düşük teknoloji gereksinimi ve diğer geleneksel tekniklerle karşılaştırıldığında kısa işlem süresi, düşük işletme ve bakım maliyeti, iyileştirilmiş kalite özellikleri ve daha yeşil bir yaklaşım sunması gibi avantajları nedeniyle gıda sanayi başta olmak üzere ekstraksiyon, homojenizasyon, kristalizasyon, pastörizasyon, seperasyon, filtrasyon, vb. uygulamaların performanslarının artırılmasında kullanılmaktadır (Patist ve Bates, 2008; Virkutyte, 2015; Zhu, 2015; Gallo vd., 2018; Bhargava vd., 2021). Ayrıca ultrases uygulaması uzun polimerik makromoleküllerin parçalanması için ekonomik ve basit araçlardan biridir (Souza vd., 2013). Ultrases uygulamasının nişasta ve proteinler üzerine etkisini araştırılan çalışmalar incelendiğinde, nişasta ve proteinlerin birçok özelliğinin ultrases koşullarına bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Nişasta üzerine yapılan çalışmalar, ultrases işleminin nişasta granülünde mikroyapısal değişimlere neden olduğunu, nişasta granüllerinin kristalinitelerini azalttığını, çözünürlüklerini ve su tutma kapasitelerini arttırdığını göstermektedir (Jambrak vd., 2010; Monroy vd., 2018). Yüksek yoğunluklu ultrases uygulamasının proteinlerin özelliklerine etkisi dikkate alındığında ise protein solüsyonlarının viskozitelerinin, kıvam indekslerinin azaldığı, çözünürlüklerinin ve yüzey hidrofobisitesinin

arttığı bildirilmiştir (Arzeni vd., 2012; Amiri vd., 2018).

Kızılötesi, mikrodalga ve ultrases teknolojileri, polimerlerin modifikasyonunda tek başlarına kullanılabildikleri gibi kızılötesi-mikrodalga, ultrases-mikrodalga şeklinde kombinasyon olarak da uygulanabilmektedirler. Böylece sinerjistik bir etki oluşturularak polimerlerin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinde değişiklikler meydana getirilebilmektedir (Çengelköy Köz, 2019). Kızılötesi-mikrodalga kombinasyon uygulamasının nişasta özelliklerine etkisini araştırılan çalışmalara bakıldığında, nişastanın fizikokimyasal özelliklerinden su emme kapasitesinde, ışık geçirgenliğinde artış meydana geldiği, amiloz içeriği, pH ve sinerezis özelliklerinde ise azalma olduğu bildirilmiştir (Shah vd., 2016). Nişastaların fiziksel, optik, morfolojik, termal özellikleri ile X-ışını kırınım desenleri, modifikasyon işlemi ile belirgin bir şekilde değişmiştir (Çengelköy Köz, 2019). Ultrases-mikrodalga kombinasyon uygulamaları, nişasta, guar gam gibi polimerlerin depolimerizasyonunda, çeşitli kaynaklardan elde edilen protein ve nişastaların fiziksel ve kimyasal modifikasyonunda, yağlı tohumlardan yağ ekstraksiyonunda kullanılan etkin yöntemlerdir (Liu vd., 2012; Prajapat ve Gogate, 2015; Hassan vd., 2017; Li vd., 2020; Noman vd., 2020; Wang vd., 2020).

Bu teknolojilerle modifiye edilmiş doğal biyopolimerler, gıda sanayinde enkapsülasyon malzemesi ve yüksek performanslı yenilebilir film, kaplama veya fonksiyonel gıda bileşeni olarak kullanılabilmektedir (Çengelköy Köz, 2019; Cui ve Zhu, 2021).

Kızılötesi teknolojisinin doğal biyopolimerler üzerine etkisi

Kızılötesi ısıtmanın, nişastanın fiziksel modifikasyonunda kullanılabilecek etkin bir yöntem olduğu çeşitli bilimsel çalışmalarla ortaya konmuştur (Çizelge 1). Farklı güç ve sürelerde kızılötesi uygulaması, farklı nem düzeylerine tavllanmış mısır ve buğday nişastasını örneklerinin; termal, reolojik, x ışını kırınım deseni, renk ve sudaki çözünürlük gibi özelliklerinde değişimler

meydana getirmiştir (İsmailoğlu ve Başman, 2015, 2016; Çengelköy Köz, 2019). Kızılötesi ısıtmanın nişasta özellikleri üzerindeki etkisi, nişastanın elde edildiği kaynağa, kızılötesi radyasyon dalgaboyuna

ve ısı işlem koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermiştir (İsmailoğlu ve Başman, 2015, 2016; Çengelköy Köz, 2019; Uraives ve Choomjaihan, 2019; Guo vd., 2020).

Çizelge 1. Kızılötesi teknolojisinin doğal biyopolimerler üzerine etkisi

Biyopolimer	Biyopolimer tipi/kaynağı	Kızılötesi Koşulları	Uygulama	Biyopolimer Üzerine Etkileri	Kaynak
Nişasta	%20 ve %30 neme tavllanmış mısır ve buğday nişastası	30, 60 ve 90 dk, 550 ve 730 W		Termal, reolojik, x ışını kırınım deseni, sudaki çözünürlük gibi özelliklerde değişiklik, kızılötesi ısıtma gücünün artırılmasıyla kristalinite değerlerinde artış, viskozite değerlerinde azalış	İsmailoğlu ve Başman, 2015, 2016
Nişasta	%15 ve %25 neme tavllanmış mısır nişastası	30, 15, 15 dk, %20, 30, 50 güç		Nişastanın fiziksel, reolojik ve termal özelliklerinde iyileşme	Çengelköy Köz, 2019
Nişasta	Tapioka nişastası	170, 190 ve 210 °C, 1100, 1320 ve 1540 W, 20 saat boyunca her 2 saatte bir ölçüm		Nişasta granüllerinin şişme gücü ile renk değerinde artış, nişastanın iyotla verdiği mavi renk değerinde azalış	Uraives ve Choomjaihan, 2019
Nişasta	Pirinç, mısır, buğday, patates nişastası	Uzak radyasyonu, 50 °C, 12 sa	kızılötesi	Granüler şişmede azalma, patates nişastasında uzun vadede stabil yapı, pirinç ve buğday nişastasının yayılabilirlik özelliklerinde gelişme	Guo vd., 2020

Kızılötesi ısıtma sıcaklığı ve süresi arttıkça tapiyoka nişasta granüllerinin şişme gücü ile toplam renk farkı değerleri artmış, iyotla verdiği mavi renk değerleri azalmıştır. Bir diğer çalışmada, uzak kızılötesi radyasyon uygulaması, patates nişastasının yapısal dayanımını geliştirip, uzun vadede daha stabil bir yapı kazanmasını sağlarken pirinç ve buğday nişastalarında yayılabilirlik özelliğini geliştirmiştir (Guo vd., 2020).

Mikrodalga teknolojisinin doğal biyopolimerler üzerine etkisi

Mikrodalga ısıtma, işlem koşullarına ve nişasta çeşidine ve özelliklerine bağlı olarak nişastaların fiziksel, termal ve reolojik özelliklerini

değiştirmiştir (Çizelge 2). 0.17 veya 0.5W/g güçlerinde mikrodalga uygulamasıyla %15-40 neme sahip mısır nişastasının bütün çirşlenme parametreleri azalmış, çirşlenme sıcaklığı ise 0.5 W/g mikrodalga uygulamasıyla artmıştır (Stevenson vd., 2005). %20 neme tavllanmış mumsu ve mumsu olmayan pirinç nişastalarına mikrodalga uygulaması, nişastaların sindirilebilirlik ve morfolojik özelliklerini çok etkilememekle birlikte nişastaların reolojik özelliklerinde önemli değişikliklere neden olmuştur. Mikrodalga uygulamasından sonra mumsu nişasta, amilopektin zincirlerinin tekrar düzenlenmesinden kaynaklı daha yoğun bir yapıya kavuşmuştur (Anderson ve Guraya, 2006).

Mikrodalga ısıtma, patates nişastası-su sisteminin fiziksel özelliklerini etkilemiş, nişastaların partikül boyutunu, polarizasyon ve termal özelliklerini değiştirmiştir (Ma vd., 2015). Patates ve tapyoka nişastası süspansiyonlarına mikrodalga uygulamasıyla nişastaların çirşlenme sıcaklığı ve çirş stabilitesi ile amiloz içeriği ve şişme gücü artmış, suda çözünürlük ve jelatinizasyon entalpisi değerleri düşmüştür (Nadiyah vd., 2015). Diğer yandan elde edilen SEM görüntüleri, nişasta granüllerinin tahrip olduğunu, nişastaların çift kırınım özelliklerini kaybettiklerini göstermiştir. Mikrodalga ısıtma, yumru ve kök nişastalar üzerinde farklı etkiler oluşturmuştur (Nadiyah vd., 2015). Farklı güç ve sürelerde mikrodalga uygulaması, darı nişastasının çirşlenme kurve tipini, B-tipinden C-tipine değiştirmiş, kristallenme başlangıç sıcaklığını ve in vitro enzimatik sindirilebilirliği arttırmış, şişme gücü ve şeffaflığı ile jelatinizasyon entalpisini düşürmüştür (Li vd., 2019). Ayrıca mikrodalga uygulaması, darı nişastası granüllerinin orijinal görünümünü yok etmiş ve daha küçük ve ince tabakalı jel bloklarının oluşumuna neden olmuştur. Mikrodalga

uygulama süresinin artışı, Bambara yerfıstığı nişastasının şişme gücünü ve viskozitesini azaltmış, amiloz içeriği ve jelatinleşme sıcaklıklarını ise arttırmıştır (Oyeyinka vd., 2019). Mikrodalga ışınlama-retrogradasyon uygulaması, mısır nişastası (A-tipi kristallik), patates nişastası (B-tipi) ve kestane nişastasının (C-tipi) fizikokimyasal ve sindirilebilirlik özelliklerini değiştirmiştir. Nişastaların sindirilebilirliği, mikrodalga ışınması ve retrogradasyondan 8 saat sonrasına kadar artmış, 24 saatlik retrogradasyondan sonra, nişastanın sindirilebilirliği azalmıştır. Modifiye nişastaların dirençli nişasta içerikleri, doğal nişastaların dirençli nişasta içeriklerinden daha yüksek bulunmuştur (Wang vd., 2019). Sabit güç ve farklı sürelerde mikrodalga uygulaması, patates nişastasının fizikokimyasal, morfolojik, yapısal ve reolojik özelliklerini etkilemiştir (Kumar vd., 2020). Mikrodalga uygulama süresi arttıkça patates nişastalarının su emme kapasitesinde artış, yağ emme kapasitesinde düşüş ve viskozite değerlerinde değişim gözlenmiştir.

Çizelge 2. Mikrodalga teknolojisinin doğal biyopolimerler üzerine etkisi

Biyopolimer	Biyopolimer tipi/kaynağı	Mikrodalga Uygulama Koşulları	Biyopolimer Üzerine Etkileri	Kaynak
Nişasta	%15-40 neme sahip mısır nişastası	0.17 veya 0.5W/g mikrodalga radyasyonu, 1h süre	Çirşlenme parametrelerinde azalış, güç uygulamasının artması ile çirşlenme sıcaklığında artış	Stevenson vd., 2005
Nişasta	%20 neme tavlanmış mumsu ve mumsu olmayan pirinç nişastası	270, 540, 810, 1080, 1350 W güç, 0 ve 60dk	Sindirilebilirlik ve morfolojik özelliklerinde çok az etki, nişastaların reolojik özelliklerinde önemli değişim	Anderson ve Guraya, 2006
Nişasta	Patates nişastası	2450 MHz, 70 s için 1.000 W ısıtma; 50 s için 350 W ısıtma; 25 s için 650 W ısıtma	Nişastaların partikül boyutu, polarizasyon ve termal özelliklerinde değişim	Ma vd., 2015
Nişasta	Patates ve tapioka nişastası	2450 MHz, 1000 W güç, 50 ve 60 ° C	Mikrodalga ısıtma ile nişasta süspansiyonlarının çirşlenme sıcaklığında ve çirş stabilitesinde, amiloz içeriğinde ve şişme gücünde artış, suda çözünürlük ve jelatinizasyon entalpisi değerlerinde düşüş, patates nişastasının kristal yapısında değişim	Nadiyah vd., 2015

Modifiye doğal biyopolimerlerin özellikleri

Çizelge 2. devam

Biyopolimer	Biyopolimer tipi/kaynağı	Mikrodalga Uygulama Koşulları	Biyopolimer Üzerine Etkileri	Kaynak
Niştasta	Darı niştastası	2450 kHz, 700 W güç, 30, 60, 90 ve 120 s	Darı niştastasının çirşlenme kurve tipinin B-tipinden C-tipine değişme, kristallenme başlangıç sıcaklığında ve in vitro enzimatik sindirilebilirliğinde artış, şişme gücü, şeffaflığı ile jelatinizasyon entalpisinde düşüş	Li vd., 2019
Niştasta	Bambara yerfıstığı niştastası	2450 MHz frekans, 700W, 0, 10, 30 ve 60 s	Uygulama süresinin artmasıyla niştastanın şişme gücünde azalma, amiloz içeriği ve jelatinleşme sıcaklıklarında artış, viskozite değerlerinde azalış	Oyeyinka vd., 2019
Niştasta	Mısır, patates, kestane niştastası	2450 MHz, 120 mA, 90 s	Niştastaların sindirilebilirliğinde mikrodalga ışıması ve retrogradasyondan 8 saat sonrasına kadar artış, modifiye niştastaların dirençli niştasta içeriklerinde artış	Wang vd., 2019
Niştasta	Patates niştastası	2450 MHz frekans, 300W, 1, 3 ve 5 dk	Uygulama süresi ile su emme kapasitesinde artış, yağ emme kapasitesinde azalış ve viskozite değerlerinde değişim	Kumar vd., 2020
Lipid	Mısır ve soya fasulyesi yağı	2450 Hz frekans, 900 W güç, 4, 8, 12, 16 ve 20 dk	Belirli bir mikrodalga güç seviyesi için, DSC eğrisi parametreleri ve ısıtma periyotları arasında iyi bir korelasyon	Tan vd., 2001
Lipid	Aspir ve kolza tohumu yağı	1, 3 ve 5 dk	5 dakika mikrodalga uygulaması ile yağların peroksit indeksinde artış, çoklu doymamış yağ asidi profillerinde değişim	Pop, 2018
Lipid	Fındık, kanola ve mısır yağı	2450 MHz, 1200 W, 0, 3, 5, 10, 15, 20 ve 30 dk	Yağların serbest yağ asitliği, peroksit değeri, konjüge dien ve konjüge trien değerlerinde artış, oksidatif indüksiyon sürelerinde düşüş	Arifoğlu ve Öğütçü, 2019
Protein	Soya sütü	2450 MHz frekans, 70, 85 ve 100 °C, 2, 6 ve 10 dk	Soya sütünün sindirilebilirliğinde artış, tripsin inhibitörlerinin aktivitesinde azalış	Vanga vd., 2020
Protein ve yağ	Soya fasulyesi tohumu	500 W, 10, 30, 40 s	Proteinlerin kısmi denatürasyonu, tohum içindeki yağın tohumdan daha kolay ekstrakte edilebilmesi	Mizutani vd., 2019
Lipid	Gurum tohumu	2450 MHz frekans, 800 W, 2, 4 ve 6 dk	Mikrodalga ısıtma süresinin artmasıyla, yağın renk değerinde artma, kimyasal kalite ve oksidatif stabilitesinde iyileşme	Karrar vd., 2020

Mikrodalga ısıtma, yağların kalitelerini ve yağ asidi profillerini, ısıl işlem koşullarına, yağın özelliklerine ve çeşidine bağlı olarak farklı şekillerde etkilemiştir (Çizelge 2). Tan vd. (2001) yaptıkları çalışmada, mikrodalga uygulama zamanı ve gücünün iki bitkisel yağın (mısır yağı ve soya fasulyesi yağı) ısıl özellikleri ve kalitesi üzerindeki etkisini incelemiş ve mikrodalgada ısıtılmış yağlarda DSC eğrisi parametreleri ile diğer standart kimyasal yöntemler (peroksit değeri, anisidin değeri, serbest yağ aside içeriği, iyot değeri ve C18:2/C16:0 pik alan oranı) arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Elde edilen deneysel veriler, belirli bir mikrodalga güç seviyesi için, DSC eğrisi parametreleri ve ısıtma periyotları arasında iyi bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Farklı sürelerle uygulanan mikrodalga ısıtma, aspir ve kolza tohumu yağlarının kalitelerini (peroksit değeri, iyot değeri, refraktif indeks, asit değeri, nem içeriği) ve yağ asidi profillerini etkilemiştir. 5 dakika mikrodalga uygulaması, iki yağın da peroksit indeksini önemli düzeyde arttırmış, çoklu doymamış yağ asidi profillerini değiştirmiştir. Mikrodalga ısıtmanın kolza yağına oranla aspir yağını daha fazla etkilediği bulunmuştur (Pop, 2018). Farklı yağ asidi bileşimlerine sahip üç bitkisel yağ (fındık, kanola ve mısır yağlarının) uygulanan mikrodalga ısıtma, yağların bulanıklık, serbest yağ asitliği ve peroksit değeri ile konjüge dien ve trien değerleri ile oksidatif indüksiyon sürelerini değiştirmiştir (Arifoğlu ve Ögütçü, 2019). Tüm yağ örneklerinin serbest yağ asitliği, peroksit, konjüge dien ve konjüge trien değerleri, mikrodalga ısıtma süresine bağlı olarak artmış, oksidatif indüksiyon süreleri ise düşmüştür. Mikrodalga ısıtma, yağların türbidite değerlerini etkilememiştir (Arifoğlu ve Ögütçü, 2019).

Mikrodalga ısıtmanın protein özelliklerine olan etkisi, Vanga vd. (2020) tarafından incelenmiştir (Çizelge 2). 85 °C' de 10 dakikalık mikrodalga uygulaması, soya sütünün sindirilebilirliğini, mikrodalga uygulanmamış örneklere kıyasla % 93 oranında arttırmıştır. Mikrodalga uygulaması, tripsin inhibitörlerinin aktivitesini azaltmış, proteinlerin ikincil yapılarını değiştirerek soya sütünün sindirilebilirliğini iyileştirmiştir.

Mikrodalga teknolojisinin doğal biyopolimerlerin kaynağından ekstraksiyonunda fonksiyonları ve ekstraksiyon sonrası çeşitli özellikleri üzerine etkileri:

Mikrodalga ısıtma, doğal biyopolimerlerin modifikasyonunda kullanılabilirdiği gibi bu polimerlerin kaynağından ekstrakte edilmelerinde de kullanılmaktadır (Mizutani vd., 2019; Karrar vd., 2020). Mizutani vd. (2019) yaptıkları çalışmada, soya fasulyesi tohumlarının düşük nem koşullarında otoklav ve mikrodalgada ısıtılmasının, soya fasulyesi bileşenleri (proteinler ve yağ) üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Mikrodalga ısıtma, otoklav uygulamasına oranla daha avantajlı bulunmuştur. Proteinler, kısmen denatüre olmuş, tohum içindeki yağ, tohumdan daha kolay ekstrakte edilebilmiştir (Çizelge 2). Vidali pres ile ekstrakte edilen gurum tohumu yağına mikrodalga uygulamasıyla yağın yağ asidi profilinde küçük farklılıklar gözlenmiştir (Karrar vd., 2020). Mikrodalga ısıtma süresindeki artış, yağın renk değerini arttırmıştır. Genel olarak, mikrodalga ısıtma, gurum tohumu yağının kimyasal kalitesini ve oksidatif stabilitesini iyileştirmiştir (Karrar vd., 2020).

Ultrases teknolojisinin doğal biyopolimerler üzerine etkisi

Ultrases teknolojisinin çeşitli doğal biyopolimerler üzerine olan etkilerinin incelendiği çalışmalar, Çizelge 3' te özetlenmiştir. Farklı yoğunluklarda ve sürelerde ultrases uygulaması, çeşitli kaynaklardan elde edilen nişastaların fiziksel, termal ve reolojik özellikleri ile x-ışını kırınım desenlerini değiştirmiştir (Jambrak vd., 2010; Hu vd., 2014; Monroy vd., 2018; Li vd., 2019). Farklı yoğunluklarda ve sürelerde ultrases uygulamasıyla nişastanın jelatinizasyon entalpisi azalmış, şişme gücü ve çözünürlüğü ile su tutma kapasitesi artmış ve nişasta granüllerinde kristal bölge tahrip olmuştur (Jambrak vd., 2010). Farklı sürelerde çift frekanslı ve tek frekanslı ultrases uygulaması, etanol çözeltisi içinde süspanse edilmiş mısır nişastalarının özelliklerinde ve yapılarında değişikliklere neden olmuştur. Çift frekanslı ultrases uygulamasıyla nişastanın şeffaflığı iyileşmiş, donma-çözülme stabilitesi değişmiş, jelatinizasyon entalpisi değeri ve kristalitesi

azalmıştır (Hu vd., 2014). Ultrases uygulaması, manyok nişasta granüllerinde yapısal düzensizliklere, mikroyapılarında ve kristalizasyon seviyelerinde değişime neden olmuştur. Ultrases uygulama koşulları değiştirilerek farklı nişasta türevleri elde edilebilmiştir (Monroy vd., 2018). 700 W güçte farklı sürelerde ultrases uygulaması, darı nişastasının in vitro enzimatik sindirilebilirliğini, jelatinizasyon entalpisini, şişme gücünü ve şeffaflığını arttırmış, kristalinitesini ve pik viskozitesini azaltmış, nişasta granüllerinin orijinal görünümüne tamamen zarar vermeden sadece çatlak ve gözenek oluşturmuştur (Li vd., 2019).

Ultrases uygulamasının %1' lik selüloz-su süspansiyonunun morfolojisi, partikül boyutu, kristalinitesi ve kristal boyutu üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, ultrases uygulamasının selüloz partiküllerini kısa lifler haline dönüştürdüğü, 1 ve 5 saatlik ultrases uygulaması sonrasında selüloz lif uzunluğunun 80-120 µm' den sırasıyla 30-50 µm ve 20-30 µm' ye düştüğü

bulunmuştur. Partikül ve kristal boyutundaki en yüksek düşüş, ultrases uygulamasının ilk 1 saatinde meydana gelmiş, zaman ilerledikçe ultrases etkinliği düşmüştür. Farklı sıcaklıkta ultrases uygulaması, istatistiksel olarak selülozun özelliklerinde önemli bir değişime neden olmamıştır (Sumari vd., 2013).

Yüksek yoğunluklu ultrases uygulamasının farklı molekül ağırlığına sahip hidroksipropil metil selülozların (HPMC) moleküler ve fonksiyonel özellikleri (bulutlanma noktası, jelleşme sıcaklığı, termal geçişler, görünür viskozite ve su hareketliliği) üzerine etkilerini inceleyen çalışma sonuçlarına göre HPMC' ye ultrases uygulaması, konsantrasyona bağlı geçici kümelerin oluşumuna ve bulutlanma noktasının düşmesine neden olmuştur. Ultrases uygulaması, HPMC' nin emülsifiye edici davranışını etkilememiştir. Yüksek molekül ağırlıklı HPMC için viskozite ve su hareketliliğindeki değişiklikler, düşük molekül ağırlıklı HPMC' ye oranla daha belirgin bulunmuştur (Camino vd., 2009).

Çizelge 3. Ultrases teknolojisinin doğal biyopolimerler üzerine etkisi

Biyopolimer	Biyopolimer tipi/kaynağı	Ultrases Uygulama Koşulları	Biyopolimer Üzerine Etkileri	Kaynak
Nişasta	Mısır nişastasası	100, 300 ve 400 W güç, farklı yoğunluklarda (34, 55, 73W cm^{-2}), 15 ve 30 dk, %100 sabit genlik	Jelatinizasyon entalpisinde azalış, şişme gücü, çözünürlük ve su tutma kapasitesinde artış ve granüllerin kristal bölgesinde tahrip	Jambrak vd., 2010
Nişasta	Mısır nişastasası	Çift frekanslı (20+25 kHz) ve tek frekanslı (20 kHz, 25kHz), 30 °C, 0, 5, 10, 15, 20, 30 ve 40 dk	Nişasta şeffaflığında iyileşme, donma-çözülme stabilitesinde belirgin değişim, jelatinizasyon entalpisini ve kristalinitede azalma	Hu vd., 2014
Nişasta	Manyok nişastasası	%40 genlik, 750W güç, 0, 5, 10 ve 20 dk	Nişasta granüllerinde yapısal düzensizlikler, mikroyapılarında ve kristalizasyon seviyelerinde değişim	Monroy vd., 2018
Nişasta	Darı nişastasası	25+ 40+ 80 kHz frekans, 700 W güçte, 15, 30, 45 ve 60 dk	İn vitro enzimatik sindirilebilirlik, jelatinizasyon entalpisini, şişme gücü ve şeffaflıkta artış, kristalinite, pik viskozitesinde azalış	Li vd., 2019

Çizelge 3. devam

Biyopolimer	Biyopolimer tipi/kaynağı	Ultrases Uygulama Koşulları	Biyopolimer Üzerine Etkileri	Kaynak
Selüloz	%1' lik selüloz- su süspansiyonu	28 kHz, 300W, 40 ve 60 °C, 1-5 sa	Selüloz partiküllerinde kısa lifler haline dönüşüm, ultrases uygulamasının ilk 1 saatinde partikül ve kristal boyutunda en yüksek düşüş	Sumari vd., 2013
Gam	Hidroksipropil metil selüloz (HPMC)	20 kHz frekans, %20 genlik	Konsantrasyona bağlı geçici kümelerin oluşumu ve bulutlanma noktasında düşüş, yüksek moleküler ağırlıklı HPMC için viskozite ve su hareketliliğinde daha belirgin değişim	Camino vd., 2009
Protein + Gam	Balık miyofibriler proteini + ksantan zımkı	20 kHz frekans, 0, 150, 300, 450 ve 600 W güç	300W' lık ultrases uygulamasıyla, emülsiyonun parçacık boyutu, yüzey gerilimi ve görünür viskozitesinde düşüş, depolama stabilitesinde artış	Xiong vd., 2019
Protein	%10 peyniraltı suyu proteini konsantresi, soya proteini izolatu ve yumurta beyazı proteini	20 dk boyunca 20 kHz frekans, $4,27 \pm 0,71$ W güç ve %20 genlik	Tüm protein solüsyonlarının kıvam indekslerinde düşüş, yüzey hidrofobitelerinde artış	Arzeni vd., 2012
Protein	Zein	Çift frekanslı (40 ± 2 ve 68 ± 2 kHz), 0, 10, 20, 30, 40, 50 ve 60 dk	Uygulama süresinin artmasıyla proteinlerin çözünürlüğünde artma, uzun sonikasyon süreleriyle zeinin ortalama parçacık boyutu ve boyut dağılımında artma, çift frekanslı ultrases uygulaması ile zeinin yapısal ve fiziksel özelliklerinde değişim	Ren vd., 2015
Protein	Sığır miyofibriler proteini	20 kHz frekans, 100 ve 300W güç, 0, 10, 20 ve 30 dk	Uygulama süresi ve gücün artmasıyla viskozitede azalma, pH, reaktif sülfidril içeriği, su tutma kapasitesi ve jel mukavemetinde en yüksek değer, ultrases uygulama sonrası proteinlerin partikül boyutunda düşüş	Amiri vd., 2018
Protein	Soya sütü	25 kHz, 400 W, 1, 4, 8, 12 ve 16 dk	Tripsin inhibitör aktivitesinde azalma, sindirilebilirlikte iyileşme	Vanga vd., 2020

Miyofibriler protein ve ksantan zımkı ile stabilize edilmiş emülsiyona 300W' lık ultrases uygulaması, emülsiyonun parçacık boyutunu ve yüzey gerilimini ve görünür viskozitesini azaltmış,

depolama stabilitesini arttırmıştır (Xiong vd., 2019).

Yüksek yoğunluklu ultrases uygulaması, pH' sı 6.5-7.1' e ayarlanmış protein solüsyonlarının (%10' luk peyniraltı suyu proteini konsantresi, soya proteini izolatu ve yumurta beyazı proteini) kıvam indekslerini düşürmüş, yüzey hidrofobitelerini arttırmıştır. Yumurta beyazı proteininin jelleşme performansı, yüksek yoğunluklu ultrases uygulaması ile değişmemiş, peyniraltı suyu proteini konsantresi daha yüksek bir elastik karakter sergilemiştir (Arzeni vd., 2012). Çift frekanslı (bir frekanstan diğerine geçerek) ultrases uygulaması, zeinin yapısal ve fiziksel özelliklerini değiştirmiştir (Ren vd., 2015). Ultrases işlemine tabi tutulan zein proteinlerinin çözünürlüğü, uygulama süresi arttıkça önemli ölçüde artmıştır. Daha uzun sonikasyon süreleri (> 20 dakika) için zeinin ortalama parçacık boyutu ve boyut dağılımı artmıştır. Ultrases uygulamasıyla zein mikroyapısı değişmiş, birçok mikro delik görülmüştür (Ren vd., 2015). Yüksek yoğunluklu ultrases uygulanması, sığır miyofibriler proteinlerinin fizikokimyasal, fonksiyonel ve reolojik özelliklerini değiştirmiştir. pH, reaktif sülfidril içeriği, su tutma kapasitesi ve jel mukavemetinde en yüksek değer 300W' de 30 dk ultrases uygulamasına tabi tutulan örneklerde elde edilmiştir. Proteinlerin partikül boyutu, ultrases dalgalarının kaviteasyon kuvveti nedeniyle ultrases uygulamasından sonra azalmıştır. 100 ve 300W 30 dk ultrases uygulamaları hariç olmak üzere ultrases ile işlem gören örneklerin kontrolden

daha sert ve elastik olduğu bulunmuştur. Sonikasyonun süresi ve gücü arttıkça viskozitede azalma meydana gelmiştir (Amiri vd., 2018). Ultrases uygulaması, tripsin inhibitör aktivitesinin azaltılmasında ve proteinlerin ikincil yapılarını değiştirerek soya sütünün sindirilebilirliğinin iyileştirilmesinde potansiyel uygulamalardır. 16 dakikalık ultrases işlemine tabi tutulmuş soya sütünün tripsin inhibitör aktivitesi, ultrases uygulanmamış örneklere kıyasla %52 azalmıştır (Vanga vd., 2020).

Kombine uygulamaların doğal biyopolimerler üzerine etkileri
Kızılötesi-mikrodalga kombinasyonunun doğal biyopolimerler üzerine etkileri

Kızılötesi-mikrodalga kombinasyon ısıtma, çeşitli nişastaların fiziksel, reolojik ve termal özelliklerini değiştirmiştir (Shah vd., 2016; Çengelköy Köz, 2019) (Çizelge 4). Hint kestanesinde elde edilen nişastaya sabit güçte farklı zaman aralıkları ile arka arkaya kızılötesi ve mikrodalga ısıtma uygulaması, hidroksil gruplarının fazlalaştırmış ve 3240 1/cm' de tepe yoğunluğunun artmasına sebep olmuştur. Uygulanan radyasyonla nişasta granüllerinin yüzeyinde çatlaklar oluşmuş, su emme kapasitesinde ve ışık geçirgenliğinde artış; amiloz içeriği, pH ve sinerezis özelliklerinde azalma meydana gelmiştir. Hem mikrodalga hem kızılötesi uygulamaları, nişastanın antioksidan aktivitesini iyileştirmiştir (Shah vd., 2016).

Çizelge 4. Kızılötesi-mikrodalga kombinasyonunun doğal biyopolimerler üzerine etkileri

Biyopolimer	Biyopolimer tipi/kaynağı	Kızılötesi-Mikrodalga Kombinasyonu Uygulama Koşulları	Biyopolimer Üzerine Etkileri	Kaynak
Nişasta	%22 ± 3 neme tavllanmış hint kestanesinde elde edilen nişasta	Sabit güçte, 15, 30 ve 45s	Su emme kapasitesi ve ışık geçirgenliğinde artış, amiloz içeriği, pH ve sinerezis özelliklerinde azalma, antioksidan aktivitesinde iyileşme	Shah vd., 2016
Nişasta	%15 ve %25 neme tavllanmış mısır nişastası	%20kızılötesi- %20mikrodalga güç15dk %30kızılötesi- %30mikrodalga güç 7,5dk	Nişastanın fiziksel, reolojik ve termal özelliklerinde iyileşme	Çengelköy Köz, 2019

Kızılötesi ve mikrodalga uygulamasının eş zamanlı yapıldığı çalışmada, farklı nem içeriğine tavllanmış mısır nişastaları, farklı güç ve sürelerde kızılötesi ve mikrodalga ısıtmaya tabi tutulmuştur. Nişastaların fiziksel, optik, morfolojik, termal özellikleri ile X-ışını kırınım desenleri, modifikasyon işlemi ile belirgin bir şekilde değişmiştir (Çengelköy Köz, 2019).

Ultras-es-mikrodalga kombinasyonun doğal biyopolimerler üzerine etkileri

Ultras-es-mikrodalga uygulaması, doğal biyopolimerlerin fiziksel, reolojik ve termal özelliklerini değiştirmiştir (Çizelge 5). Guar gamın sulu çözeltisinin depolimerizasyonu için tek tek ve kombinasyon halinde ultras-es ve mikrodalga teknolojilerinin uygulandığı çalışmada, tekli uygulamalardan ultras-es teknolojisinin, kombine uygulamalardan ise önce mikrodalga ardından ultras-es uygulamasının guar gamın depolimerizasyonunda daha etkili olduğu bulunmuştur (Prajapat and Gogate, 2015). Kestane nişastasında ikili modifikasyon (ultras-es-

mikrodalga modifiye nişasta ve mikrodalga-ultras-es modifiye nişasta) uygulaması, ultras-es ve mikrodalga işleminin sinerjistik etkisine bağlı olarak, sadece ultras-es veya mikrodalga uygulamasına nazaran daha belirgin değişimlere neden olmuştur (Wang vd., 2020). Ultras-es-mikrodalga kombinasyon uygulamasıyla nişastaların şişme gücü, jelatinizasyon entalpi ve kristalinite değerleri düşmüş, daha zayıf çift-kırınım özelliği göstermiş ve nişastanın katmanlı yapısı ve çift sarmal yapısı daha ciddi şekilde bozulmuştur. Ayrıca ultras-es-mikrodalga modifiye nişasta örneklerinin yağ emme kapasitesi; mikrodalga-ultras-es modifiye nişasta örneklerinin ise su emme kapasitesi en yüksek bulunmuş ve mikrodalga-ultras-es modifiye nişasta örneklerinin donma-çözünme kararlılığı en iyi çıkmıştır. Tekli veya ikili modifikasyondan bağımsız olarak ultras-es ve mikrodalga uygulanmış örneklerin şişme gücü, maksimum, inceleme sonrası, son ve karıştırma viskoziteleri ve çirilenme sıcaklıkları azalmıştır (Wang vd., 2020).

Çizelge 5. Ultras-es-mikrodalga kombinasyonun doğal biyopolimerler üzerine etkileri

Biyopolimer	Biyopolimer tipi/kaynağı	Ultras-es-Mikrodalga Kombinasyonu Uygulama Koşulları	Biyopolimer Üzerine Etkileri	Kaynak
Gam	Guar gam	Ultras-es; 20 kHz sabit frekans, 240 W güç Mikrodalga; 800 W nominal güce ve değişken güç çıkışı %17, %33, %55, %77 ve %100	Kombine uygulamalarda önce mikrodalga ardından ultras-es uygulamasıyla daha etkili depolimerizasyon	Prajapat ve Gogate, 2015
Nişasta	Kestane nişastası	Ultras-es 20 kHz frekans, 500 W güçte, 60 dk, mikrodalga 2450 MHz frekans, 30 W güçte, 90 s	Kombine uygulamayla nişastanın şişme gücü, kristalinite, jelatinleşme entalpisinde düşüş ve daha zayıf çift-kırınım özelliği, nişastanın katmanlı yapısı ve çift sarmal yapısında bozulma, ultras-es-mikrodalga modifiye nişasta örneklerinde en yüksek yağ emme kapasitesi, mikrodalga-ultras-es modifiye nişasta örneklerinde en yüksek su emme kapasitesi ve en iyi donma-çözülme kararlılığı	Wang vd., 2020

Çizelge 5. devam

Biyopolimer	Biyopolimer tipi/kaynağı	Ultrases-Mikrodalga Kombinasyonu Uygulama Koşulları	Biyopolimer Üzerine Etkiler	Kaynak
Lipid	Sorgum tohumu	Ultrases + mikrodalga 5 dk/%40 + 15s / 450 W 5 dk/%60 + 15s / 700 W 10 dk/%40 + 30s / 450 W 10 dk/%60 + 30s / 700 W	Mikrodalga ve ultrases kombinasyonunun yüksek kaliteli sorgum yağı elde etmek için en iyi yöntem olması	Hassan vd., 2017
Nişasta	Mısır nişastası	Süre/Mikrodalga/ Ultrases/ Sıcaklık 40dk/140W/350W/54°C 45dk/150W/ 400W/ 56°C 50dk/160W/ 450W/ 58°C	Niştastanın kalitesinde iyileşme, tek düze gözenek yoğunluğuna sahip nişasta eldesi	Liu vd., 2012
Protein	Balık miyofibriler proteini	Çeşitli ultrasonik güç (100, 200, 300 ve 400 W), Sabit mikrodalga gücü (100 W), ultrason frekansı 28 kHz, mikrodalğanın frekansı 2450 Hz	Kombine ultrason-mikrodalga uygulamasıyla antioksidan özellikler ve termal stabilitede iyileşme, miyofibriler proteinlerden hidrolizat elde ederken hidroliz reaksiyonuna proteinlerin daha açık hale gelmesi ve hidrolizat veriminin daha yüksek olması	Li vd., 2020
Protein	Çin mersin balığı	Mikrodalga 10 ila 800 W arasında değişen güçte ve 2.450 MHz frekansta, ultrases 50 W (sabit) güçte ve 40 kHz frekansta, 4, 8, 15 ve 25 dk	Teknolojilerin birarada uygulanmasıyla enzimatik hidroliz yönteminin etkinliğinde ve örneklerin antioksidan aktivitelerinde artış	Noman vd., 2020

Ultrases-mikrodalga kombinasyon uygulamasının doğal biyopolimerlerin kaynağından ekstraksiyonunda fonksiyonları ve ekstraksiyon sonrası çeşitli özellikleri üzerine etkileri:

Ultrases ve mikrodalga kombinasyon uygulaması, sorgum tohumlarının yağ asitleri bileşimini ve yağ verimini etkilemiştir (Hassan vd., 2017). Yüksek kaliteli sorgum yağı elde etmede ultrases-mikrodalga kombinasyonu, tek başına mikrodalga ya da tek başına ultrases uygulamalarına kıyasla en iyi yöntem olmuştur (Çizelge 5).

Ultrases-mikrodalga kombinasyon uygulamasının doğal biyopolimerlerin enzimlerle hidrolizinde fonksiyonları ve ekstraksiyon sonrası çeşitli özellikleri üzerine etkileri:

Geleneksel enzim hidroliz yöntemi, ultrases-mikrodalga uygulaması ile birleştirildiğinde, mısır niştastasının kalitesi iyileşmiş, tek düze gözenek yoğunluğuna sahip nişasta elde edilmiştir (Liu vd., 2012) (Çizelge 5).

Ultrases-mikrodalga kombinasyon uygulaması, miyofibriler protein peptidlerinin ve Çin mersin balığı protein hidrolizatlarının antioksidan

özelliklerini, termal stabilitelelerini iyileştirmiş, enzimatik hidroliz yönteminin etkinliğini arttırmıştır (Li vd., 2020; Noman vd., 2020).

SONUÇ

Kızılötesi, mikrodalga ve ultrases teknolojileri, doğal biyopolimerlerin modifikasyonunda başarıyla kullanılmaktadır. Kullanılan bu teknolojilerin proses koşullarına (kızılötesi için frekans, dalgaboyu, güç, süre; mikrodalga için frekans, güç, süre; ultrases için frekans, yoğunluk, süre, vb.), uygulama ekipmanına ve biyopolimerlerin tipine ve elde edildikleri kaynaklara bağlı olarak biyopolimerlerin özelliklerinde meydana getirdikleri değişimler farklılık göstermektedir. Kızılötesi uygulaması, nişastanın granül yapısını ve reolojik özelliklerini değiştirmiş ve nişastanın elde edildiği kaynağa bağlı olarak bu değişimlerin düzeyi farklılık göstermiştir. Mikrodalga uygulaması, nişastanın şişme gücünü, amiloz içeriğini, jelatinizasyon entalpisini ve viskozitesini azaltırken çirş stabilitesini, çirşlenme sıcaklığını arttırmış, yağların oksidatif stabilitelelerini değiştirmiştir. Ultrases uygulaması, polimerlerin morfolojisini, boyutlarını, reolojik ve çözünürlük özelliklerini değiştirmiş, polisakaritlerin ve yağların kaynağından ultrases yardımıyla ekstraksiyonunda verimi arttırmış, ekstraksiyon süresini kısaltmıştır. Ayrıca polimerlerin enzimatik hidrolizini kolaylaştırmıştır. Kızılötesi-mikrodalga ve ultrases-mikrodalga teknolojilerinin birarada kullanılmasıyla sinerjistik bir etki oluşturularak polimerlerin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinde daha kısa sürede daha belirgin değişiklikler meydana getirilmiştir. Bu makale kapsamında ele alınan teknolojiler, gıda endüstrisinde kullanılmak üzere doğal biyopolimerlerin fonksiyonelliklerinin geliştirilmesinde yüksek potansiyele sahiptir. Kızılötesi ve kızılötesi-mikrodalga uygulamalarının nişasta dışındaki polimerler üzerine etkileri konularında sınırlı sayıda çalışma yer almaktadır. Bu kapsamda daha fazla veri üretilmesine ihtiyaç vardır. Diğer yandan, biyopolimerlerin tipine ve elde edildiği kaynağa bağlı olarak uygulanan işlem koşullarının farklılık göstermesi, kullanılan ekipmanların standart özelliklere sahip olmamaları ve bilimsel çalışmalarda deneysel tasarımın laboratuvar

ölçekli ekipmanlar kullanılarak yapılmış olması, bu teknolojilerin endüstriyel olarak yaygınlaştırılmalarını sınırlandırmaktadır. Bu teknolojilerin endüstriyel ölçekte kullanımının yaygınlaştırılması için biyopolimerin tipi ve özelliklerine özgü endüstriyel ölçekte standart yeni tasarımlar gerçekleştirilebilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu makale ile ilgili olarak başka kişiler ve/veya kurumlar arasında çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar, makalenin yazılmasında ve yayınlanmasında katkı sağlamışlardır. Makalenin hazırlanmasında başka kişi ve/veya kurumların katkısı yoktur.

KAYNAKLAR

- Aboud, S.A., Altemimi, A.B., Al-Hilphy, A.R. S., Lee, Y., Cacciola, F. (2019). A comprehensive review on infrared heating applications in food processing. *Molecules*, 24(22): 4125.
- Akyüz A.Ö. (2010). Ultrasesin polimerlere etkileri, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 141 s.
- Amiri A., Sharifian P., Soltanzadeh N. (2018). Application of ultrasound treatment for improving the physicochemical, functional and rheological properties of myofibrillar proteins, *Int J Biol Macromol*, 111:139-147.
- Anderson A.K., Guraya H.S. (2006). Effects of microwave heat-moisture treatment on properties of waxy and non-waxy rice starches, *Food Chem*, 97(2): 318–323.
- Arifoğlu, N., Öğütçü, M. (2019). Effect of microwave heating on quality parameters of hazelnut, Canola and Corn Oils. *Akademik Gıda*, 17(1): 23-29.
- Arzeni C., Martinez K., Zema P., Arias A., Perez O.E., Pilosof A.M.R. (2012). Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. *J Food Eng*, 108(3): 463–472.

- Balaji, A.B., Pakalapati, H., Khalid, M., Walvekar, R., Siddiqui, H. (2018). Natural and synthetic biocompatible and biodegradable polymers. In: *Biodegradable and Biocompatible Polymer Composites*, Elsevier, pp. 3-32.
- Bhargava, N., Mor, R.S., Kumar, K., Sharanagat, V.S. (2021). Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrason Sonochem*, 70: 105293.
- Bhatia, S. (2016). Natural polymers vs synthetic polymer. In: *Natural Polymer Drug Delivery Systems*, Springer, pp. 95-118.
- Camino N.A., Perez O.E., Pilosof A.M.R. (2009). Molecular and functional modification of hydroxypropylmethylcellulose by high-intensity ultrasound, *Food Hydrocoll*, 23(4): 1089–1095.
- Cui, R.B., Zhu, F. (2021). Ultrasound modified polysaccharides: A review of structure, physicochemical properties, biological activities and food applications. *Trends Food Sci Technol*, 107: 491-508.
- Çengelköy Köz, E. (2019). Farklı ısıtma teknolojileri-nem uygulaması ile modifiye edilmiş nişastaların ve bu nişastalardan elde edilen yenilebilir filmlerin özellikleri, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Polimer Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı YL Tezi, (Tez Danışmanı: Semin Özge (Özkoç) Keskin), Kocaeli, Türkiye. 131 s.
- Dangaran, K., Tomasula, P.M., Qi, P. (2009). Structure and function of protein-based edible films and coatings. In: *Edible Films and Coatings for Food Applications*, Embuscado M. E. and Huber K. C., (ed.), Springer, pp. 25-56.
- Desbrières J., Petit C., Reynaud S. (2014). Microwave-assisted modifications of polysaccharides, *Pure Appl Chem*, 86(11): 1695–1706.
- Firouz, M.S., Farahmandi, A., Hosseinpour, S. (2019). Recent advances in ultrasound application as a novel technique in analysis, processing and quality control of fruits, juices and dairy products industries: A review. *Ultrason Sonochem*, 57: 73-88.
- Gallo M., Ferrara L., Naviglio D. (2018). Application of ultrasound in food science and technology: A Perspective, *Foods*, 7(10): 164.
- Guimaraes, J.T., Silva, E.K., Alvarenga, V.O., Costa, A.L.R., Cunha, R.L., Sant'Ana, A.S., Freitas, M.Q., Meireles, M.A.A., Cruz, A.G. (2018). Physicochemical changes and microbial inactivation after high-intensity ultrasound processing of prebiotic whey beverage applying different ultrasonic power levels. *Ultrason Sonochem*, 44: 251-260.
- Guo B., Wu J., Hu X., Luo S., Wang H., Xu S., Huang Z., Liu C. (2020). Effects of controlled far-infrared treatment on granular swelling and rheological properties of crop starches, *Starch/Stärke*, 72(3-4): 1900251.
- Hassan, S., Imran, M., Ahmad, N., Khan, M. K. (2017). Lipids characterization of ultrasound and microwave processed germinated sorghum. *Lipids Health Dis*, 16, 125.
- Hu A., Li L., Zheng J., Lu J., Meng X., Liu Y., Rehman R. (2014). Different-frequency ultrasonic effects on properties and structure of corn starch, *J Sci Food Agric*, 94(14): 2929-2934.
- İsmailoğlu, S. Ö., Başman, A. (2015). Effects of infrared heat-moisture treatment on the physicochemical properties of corn starch. *Starch/Stärke*, 67(5-6): 528-539.
- İsmailoğlu, S. Ö., Başman, A. (2016). Physicochemical properties of infrared heat-moisture treated wheat starch, *Starch/Stärke*, 68(1-2): 67-75.
- Jambrak, A. R., Herceg Z., Subaric, D., Babic, J., Brncic, M., Brncic, S.R., Bosiljkov, T., Cvek D., Tripalo, B., Gelo, J. (2010). Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydr Polym*, 79(1): 91-100.
- Karrar, E., Sheth, S., Wei, W., Wang, X. (2020). Effect of microwave heating on lipid composition, oxidative stability, color value, chemical properties, and antioxidant activity of gurum (*Citrulluslanatus var. Colocynthoide*) seed oil. *Biocatal Agric Biotechnol*, 23,101504.

- Kasaai M.R. (2013). Input power-mechanism relationship for ultrasonic irradiation: Food and polymer applications, *J Nat Sci*, 05(08): 14-22.
- Keskin, S.O. (2003). Effects of different ovens and enzymes on quality parameters of bread. ODTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı YL Tezi, (Tez Danışmanı: Servet Gülüm Şumnu, Yardımcı Danışman: Serpil Şahin), Ankara, Türkiye. 135 s.
- Keskin, S.O., Sumnu, G., Sahin, S., (2004a). Bread baking in halogen lamp microwave combination oven. *Food Res Int*, 37(5):489-495.
- Keskin, S.O., Sumnu, G., Sahin, S., (2004b). Usage of enzymes in a novel baking process. *Nahrung/Food*, 48(2):156-160.
- Keskin S.O., Ozturk, S., Sahin, S., Köksel, H., Sumnu, G., (2005). Halogen lamp microwave combination baking of cookies. *Eur Food Res Technol*, 220(5-6): 546-551.
- Kumar, Y., Singh, L., Sharanagat, V. L., Patel, A., Kumar, K., (2020). Effect of microwave treatment (low power and varying time) on potato starch: Microstructure, thermo-functional, pasting and rheological properties. *Int J Biol Macromol*, 155: 27–35.
- Lao, YY., Zhang, M., Chitrakar, B., Bhandari, B., Fan, D.C. (2019). Efficient plant foods processing based on infrared heating. *Food Rev Int*, 35(7): 640-663.
- Lee, E.H. (2021). A review on applications of infrared heating for food processing in comparison to other industries, In: *Innovative Food Processing Technologies: A Comprehensive Review*, Article in press, Knoerzer, K. and Muthukumarappan, K. (chief ed.), Elsevier, pp. 431-455. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22670-X>
- Li Y., Hu A., Zheng J., Wang X. (2019). Comparative studies on structure and physicochemical changes of millet starch under microwave and ultrasound at the same power., *Int J Biol Macromol*, 141: 76–84.
- Li, Z., Wang, J., Zheng, B., Guo, Z. (2020). Impact of combined ultrasound-microwave treatment on structural and functional properties of golden threadfin bream (*Nemipterus virgatus*) myofibrillar proteins and hydrolysates. *Ultrason Sonochem*, 65: 105063.
- Liu, Z.D., Yang, Y., Liang, H., Bi, L., Gong, B. (2012). Study on technology of ultrasound-microwave assisted improves preparation of porous starch. *Mater Manuf Process*, Vol. 476-478, pp. 744-750.
- Martins, C.P.C., Cavalcanti, R.N., Couto, S.M., Moraes, J., Esmerino, E.A., Silva, M.C., Raices, R.S.L., Gut, J.A.W., Ramaswamy, H.S., Tadini, C.C., Cruz, A.G. (2019). Microwave processing: Current background and effects on the physicochemical and microbiological aspects of dairy products. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 18(1): 67-83.
- Ma S., Fan D., Wang L., Lian H., Zhao J., Zhang H., Chen W. (2015). The impact of microwave heating on the granule state and thermal properties of potato starch, *Starch/Starke*, 67(5-6): 391–398.
- McKenzie, TG., Karimi, F., Ashokkumar, M., Qiao, GG. (2019). Ultrasound and sonochemistry for radical polymerization: Sound synthesis. *Chem Eur J*, 25(21): 5372-5388.
- Mello P.A., Barin J.S., Guarnieri R.A. (2014). Microwave heating, In: *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*, Elsevier, 59-75.
- Mizutani Y., Shibata M., Yamada S., Nambu Y., Hirotsuka M., Matsumura Y. (2019). Effects of heat treatment under low moisture conditions on the protein and oil in soybean seeds, *Food Chem*, 275:577–584.
- Monroy, Y., Rivero, S., Garcia, M.A. (2018). Microstructural and techno-functional properties of cassava starch modified by ultrasound. *Ultrason Sonochem*, 42: 795-804.
- Nadiah, N. I., Uthumporn, U., Syahariza, Z. A. (2015). Effect of microwave heating on potato and tapioca starches in water suspension. *Int J Adv Sci Eng Inform Technol*, 5(4): 264-271.
- Noman, A., Qixing, J., Xu, Y., Abed, S.M., Obadi, M., Ali, A.H., Bukhaiti, W.Q., Xia, W. (2020). Effects of ultrasonic, microwave, and combined

- ultrasonic microwave pretreatments on the enzymatic hydrolysis process and protein hydrolysate properties obtained from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *J Food Biochem*, 44: e13292.
- Oyeyinka, S. A., Umaru, E., Olatunde, S. J., Joseph, J. K. (2019). Effect of short microwave heating time on physicochemical and functional properties of Bambara groundnut starch. *Food Biosci*, 28: 36–41.
- Patist, A., Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 9:147–154.
- Pop, F. (2018). Effect of microwave heating on quality and fatty acids composition of vegetable oils, *Stud Univ Babeş-Bolyai Biol*, 63(2):43-52.
- Prajapat A.L., Gogate P.R. (2015). Depolymerization of guar gum solution using different approaches based on ultrasound and microwave irradiations, *Chem Eng Process*, 88: 1-9.
- Qin X.S., Luo S.Z., Cai J., Zhong X.Y., Jiang S.T., Zheng Z., Zhao Y.Y. (2016). Effects of microwave pretreatment and transglutaminase crosslinking on the gelation properties of soybean protein isolate and wheat gluten mixtures, *J Sci Food Agric*, 96(10): 3559-3566.
- Rastogi, N.K. (2021). Infrared heating in drying operations, In: *Innovative Food Processing Technologies: A Comprehensive Review*, Article in press, Knoerzer, K. and Muthukumarappan, K. (chief ed.), Elsevier, pp. 456-476. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22671-1>
- Rattanadecho, P., Makul, N. (2016). Microwave-assisted drying: A Review of the State-of-the-Art. *Dry Technol*, 34(1):1-38.
- Ren X., Wei X., Ma H., Zhou H., Guo J., Mao S., Hu A. (2015). Effects of a dual-frequency frequency-sweeping ultrasound treatment on the properties and structure of the zein protein. *Cereal Chem*, 92(2):193–197.
- Riadh, M.H., Ahmad, S.A.B., Marhaban, M.H., Soh, A.C. (2015). Infrared heating in food drying: An overview. *Dry Technol*, 33(3):322-335.
- Semwal, J., Meera, M.S. (2020). Infrared radiation: Impact on physicochemical and functional characteristics of grain starch. *Starch*, 2000112.
- Shah, U., Gani, A., Ashwar, B.A., Shah, A., Wani, I.A., Masoodi. F.A. (2016). Effect of infrared and microwave radiations on properties of IndianHorse Chestnut starch. *Int J Biol Macromol*, 84:166–173.
- Singh, V., P. Kumar, P., Sanghi, R. (2012). Use of microwave irradiation in the grafting modification of the polysaccharides-A review, *Prog Polym Sci*, 37(2):340-364.
- Souza H.K.S., Campiña J.M., Sousa A.M.M., Silva F., Gonçalves M.P. (2013). Ultrasound-assisted preparation of size-controlled chitosan nanoparticles: Characterization and fabrication of transparent biofilms, *Food Hydrocoll*, 31(2): 227-236.
- Stevenson, D.G., Biswas, A., Inglett, (2005). G.E. Thermal and pasting properties of microwaved corn starch. *Starch*, 57(8):347-353.
- Sumari S., Roesyadi A., Sumarno S. (2013). Effects of ultrasound on the morphology, particle size, crystallinity, and crystallite size of cellulose. *Sci Study and Res: Chem Chem Eng*, 14 (4), pp. 229 – 239.
- Sun H., Shao X., Jiang R., Ma Z., Wang H. (2018). Effects of ultrasonic/microwave-assisted treatment on the properties of corn distarch phosphate/corn straw cellulose films and structure characterization. *J Food Sci Technol*, 55(4):1467-1477.
- Tan, C.P., Man, Y.B.C., Jinap, S., Yusoff, M.S.A. (2001). Effects of microwave heating on changes in chemical and thermal properties of vegetable oils. *J Am Oil Chem Soc*, 78(12): 1227-1232.
- Türk V. (2013). Ultrasonik depolimerizasyon, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi (Tez Danışmanı: Ali Özhan Akyüz), Afon, Türkiye, 62 s.
- Uraives, P., Choomjaihan, P. (2019). Some physicochemical properties of tapioca starch during infrared heat treatment, In *IOP Conference*

Series: Earth and Environmental Science (Vol. 301, p. 012044). IOP Publishing.

Vanga, S.K., Wang, J., Raghavan, V. (2020). Effect of ultrasound and microwave processing on the structure, in-vitro digestibility and trypsin inhibitor activity of soymilk proteins. *LWT-Food Sci Technol*, 131: 109708.

Vera A., Tapia C., Abugoch L. (2020). Effect of high-intensity ultrasound treatment in combination with transglutaminase and nanoparticles on structural, mechanical, and physicochemical properties of quinoa proteins/chitosan edible films, *Int J Biol Macromol*, 144: 536-543.

Verma, D.K., Mahanti, N.K., Thakur, M., Chakraborty, S.K., Srivastav, P.P. (2020). Microwave heating: Alternative thermal process technology for food application. In: *Emerging Thermal and Nonthermal Technologies in Food Processing*, pp.25-67.

Virkutyte, J. (2015). The use of power ultrasound in biofuel production, bioremediation, and other applications, In: *Power Ultrasonics Applications of High-Intensity Ultrasound*. pp.1095-1122.

Wang, M., Sun, M., Zhang, YY., Chen, Y., Wu, YW., Ouyang, J. (2019). Effect of microwave irradiation-retrogradation treatment on the digestive and physicochemical properties of starches with different crystallinity. *Food Chem*, 298: 125015.

Wang, M., Wu, Y., Liu, Y., Ouyang, J (2020). Effect of ultrasonic and microwave dual-treatment on the physicochemical properties of chestnut starch. *Polym*, 12(8):1718.

Wang, N., Gao, Y., Wang, P., Xie, T., Xiao, Z. (2016). Effect of microwave modification on mechanical properties and structural characteristics of soy protein isolate and zein blended film. *Czech J Food Sci*, 34(2): 180-188.

Wang Z., Sun X., Lian Z., Wang X., Zhou J., Ma Z. (2013). The effects of ultrasonic/microwave assisted treatment on the Properties of soy protein isolate/microcrystalline wheat-bran cellulose film. *J Food Eng*, 114(2): 183-191.

Xiong Y., Li Q., Miao S., Zhang Y., Zheng B., Zhang L. (2019). Effect of ultrasound on physicochemical properties of emulsion stabilized by fish myofibrillar protein and xanthan gum, *Innov Food Sci Emerg Technol*, 54: 225-234.

Yadav, G., Gupta, N., Sood, M., Anjum, N., Chib, A. (2020). Infrared heating and its application in food processing. *J Pharm Innov*, 9(2): 142-151.

Yang, Q., Qi, L., Luo, Z., Kong, X., Xiao, Z., Wang, P., Peng, X. (2017). Effect of microwave irradiation on internal molecular structure and physical properties of waxy maize starch. *Food Hydrocoll*, 69: 473-482.

Yılmaz Tuncel, N., Tuncel, N.B. (2016). Kızılötesi teknolojisi ve gıda işlemedeki kullanımı. *Akademik Gıda*, 14(2): 196-203.

Zhu, F. (2015). Impact of ultrasound on structure, physicochemical properties, modifications, and applications of starch. *Trends Food Sci Technol*, 43(1): 1-17.



PİLİÇ ETİNDEN İZOLE EDİLEN YÜKSEK SEVİYEDE AMİNOGLİKOZİT DİRENÇLİ ENTEROKOKLARIN ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ*

Meltem Yalçın, Yasin Tuncer**

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

Geliş / Received: 02.04.2021; Kabul / Accepted: 11.05.2021; Online baskı / Published online: 15.05.2021

Yalçın, M., Tuncer, Y. (2021). Piliç etinden izole edilen yüksek seviyede aminoglikozit dirençli enterokokların antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi. GIDA (2021) 46 (4) 803-816 doi: 10.15237/gida. GD21063

Yalçın, M., Tuncer, Y. (2021). Determination of the antibiotic resistance profiles of high-level aminoglycosid-resistant enterococci isolated from broiler meat. GIDA (2021) 46 (4) 803-816 doi: 10.15237/gida. GD21063

ÖZ

Bu çalışmada, Antalya ve Isparta illerinden temin edilen 112 piliç eti örneğinde yüksek seviyede aminoglikozit dirençli (YSAD) *Enterococcus* yaygınlığı araştırılmış ve izolatların antibiyotik direnç profilleri belirlenmiştir. Çalışmada toplam 32 YSAD *Enterococcus* suşu izole edilmiştir. Moleküler yöntemler ile izolatların 18'i *E. faecium*, 5'i *E. faecalis*, 5'i *E. durans*, 3'ü *E. avium* ve 1'i *E. casseliflavus* olarak tanımlanmıştır. Disk difüzyon testi sonucu, izolatların en duyarlı olduğu antibiyotiklerin ampisilin (%93.75), linezolid (%93.75), penisilin G (%90.62), teikoplanin (%90.62), nitrofurantoin (%78.12), vankomisin (%75) ve kloramfenikol (%68.75) olduğu belirlenmiştir. İzolatların en dirençli olduğu antibiyotiklerin ise eritromisin (%96.87), minosiklin (%96.87), streptomisin (%96.87) ve tetrasiklin (%96.87) olduğu tespit edilmiştir. İzolatların gentamisin ve streptomisin minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerlerinin sırasıyla 16 ile >4096 ve 64 ile >4096 µg/mL arasında değiştiği belirlenmiştir. MİK testleri sonucu, 32 YSAD *Enterococcus* izolatının 18'inin hem yüksek seviyede streptomisin dirençli (YSSD) hem de yüksek seviyede gentamisin dirençli (YSGD) oldukları tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Piliç eti, *Enterococcus*, yüksek seviyede aminoglikozit direnci, antibiyotik direnç, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

DETERMINATION OF THE ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILES OF HIGH-LEVEL AMINOGLYCOSID-RESISTANT ENTEROCOCCI ISOLATED FROM BROILER MEAT

ABSTRACT

In this study, the prevalence of high-level aminoglycoside-resistant (HLAR) *Enterococcus* in broiler meat samples obtained from Antalya and Isparta provinces was investigated and antibiotic resistance

*Bu çalışma Meltem Yalçın'ın yüksek lisans tez çalışmasından alınmıştır. Bu çalışmanın bir kısmı 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Yaşam Kongresi (IHSLC 2018) Burdur/Türkiye'de sözlü sunum olarak sunulmuş ve kongre kitabında bildiri olarak basılmıştır. *This paper is MSc thesis of Meltem Yalçın. This study was presented as a oral presentation at the 1st International Health Science and Life Congress (IHSLC 2018) Burdur/Turkey, and a part of this study was published in the book of proceedings.*

** Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉: yasintuncer@sdu.edu.tr

☎: (+90) 246 211 1713

☎: (+90) 246 237 0437

Meltem Yalçın; ORCID no: 0000-0001-5320-032X

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

profiles of isolates was detected. A total of 32 HLAR *Enterococcus* strains were isolated in this study. Isolates were identified as 18 *E. faecium*, 5 *E. faecalis*, 5 *E. durans*, 3 *E. avium* and 1 *E. casseliflavus* by molecular methods. As a result of the disc diffusion test, HLAR *Enterococcus* isolates were found to be most susceptible to ampicillin (93.75%), linezolid (93.75%), penicillin G (90.62%), teikoplanine (90.62%), nitrofurantoin (78.12%), vancomycin (75%) and chloramphenicol (68.75%). It has been determined that the antibiotics to which the isolates are most resistant are erythromycin (96.87%), minocycline (96.87%), streptomycin (96.87%), and tetracycline (96.87%). Gentamicin and streptomycin minimum inhibitory concentration (MIC) values of HLAR isolates were detected changing in the ranged from 16 to >4096 and 64 to >4096 µg/mL, respectively. According to the MIC test results, 18 out of 32 HLAR isolates were identified as both high-level gentamicin-resistant (HLGR) and high-level streptomycin-resistant (HLSR).

Keywords: Broiler meat, *Enterococcus*, high-level aminoglycoside resistance, antibiotic resistance, polymerase chain reaction (PCR)

GİRİŞ

Enterokoklar Gram pozitif, spor oluşturmeyen, katalaz ve oksidaz negatif, fakültatif anaerob ve kok morfolojisine sahip bakterilerdir. Enterokoklar çevrede çok geniş bir alana yayılmış olup, ekosistem içerisinde memelilerden, kuşlardan, kanatlılardan, insan ve hayvan sindirim sisteminden, topraktan, yüzey sularından, bitkilerden ve çeşitli fermente gıdalardan izole edilebilmektedirler (Devriese ve Pot, 1995). Enterokoklar farklı sıcaklık ve pH derecelerine dayanıklı olmalarının yanında ekstrem tuz konsantrasyonunda da gelişebilme yeteneklerinden dolayı fermente gıdalardan yüksek sıklıkla izole edilebilmektedirler (Cariolato vd., 2008; Özden Tücer vd., 2013; Demirgöl ve Tücer, 2017; Hanchi vd., 2018). Enterokoklar lipolitik ve esterolitik aktivite göstermelerinin yanı sıra, sitratın yıkımı ve uçucu aromatik bileşikler oluşturabilme gibi özellikleri ile bazı gıdaların tat, renk ve koku gibi organoleptik özelliklerini iyileştirmekte ve geliştirmektedirler. Bu nedenle, diğer laktik asit bakterileri ile birlikte fermente süt ve et ürünlerinde doğal starter kültür olarak kullanılabilmektedirler (Giraffa, 2002; Hugas vd., 2003).

Enterokokların bazı fermente gıdalarda starter kültür olarak aktif rol almalarının yanı sıra bağışıklık sistemi zayıflamış insanlarda bakteriyemi, endokarditis, idrar yolu enfeksiyonları gibi nozokomiyal hastalıklara sebep oldukları bilinmektedir. Enterokoklar primer patojenler olarak değerlendirilmemelerine rağmen antimikrobiyal ajanlara karşı yüksek direnç gösterme yeteneklerine bağlı olarak dünya

genelinde nozokomiyal enfeksiyonlara neden olabilmektedirler (Linden ve Miller, 1999). Enterokokların birçok antibiyotige karşı doğal (intrensek) direnç göstermelerinin yanı sıra klinik olarak önemli farklı grup antibiyotiklere karşı da kolaylıkla direnç kazanabilmeleri bu bakterilerin patojenitesini artıran önemli bir etkidir (Yogurtcu ve Tücer, 2013; Abauehnaga vd., 2016). Enterokoklar başta β-laktamlar ve aminoglikozitler olmak üzere birçok antibiyotige karşı doğal dirence sahiptirler (Garrido vd., 2014). Gentamisin ve streptomisin klinik uygulamalarda kullanılan iki önemli aminoglikozit grubu üyesi antibiyotiktir. Genel olarak enterokoklar, düşük hücresel geçirgenliklerinden dolayı aminoglikozitlere karşı orta seviyede doğal direnç gösterirler (Bismuth ve Courvalin, 2010; Niu vd., 2016). Diğer taraftan son yıllarda yapılan çalışmalar ile klinik örneklerin (Niu vd., 2016; Shete vd., 2017) yanı sıra tavuk eti (Choi ve Woo, 2013), et ve et ürünleri (Jaimee ve Halami, 2016), çiğ süt ve peynir (Özdemir ve Tücer, 2020) gibi gıda maddelerinden de yüksek seviyede gentamisin (YSGD) (MİK≥500 µg/mL) ve streptomisin dirençli (YSSD) (MİK≥2000 µg/mL) bakterilerin izole edildiği rapor edilmiştir. Aminoglikozitler yaşamı tehdit eden enfeksiyonların tedavisinde, tedavi yöntemlerinin önemli bir bileşeni olmuştur. Bu nedenle bakterilerde yüksek seviyede aminoglikozit direncinin yaygınlaşması enfeksiyonların tedavisinde sorunlara yol açma riskini beraberinde getirmektedir (Yao ve Moellering, 2007). Aminoglikozit direnci hücrede aynı anda var olabilen 16S rRNA veya ribozomal proteinlerin mutasyonu yoluyla hedefin modifikasyonu, 16S

rRNA'nın metilasyonu, dış membranın geçirgenliğinin modifikasyonu veya azalmış iç membran taşınmasıyla geçirgenliğin azalması, aktif akış pompaları ile antibiyotığın hücre dışına aktarımı, çok düşük aktiviteye sahip bir asetiltransferaza sıkıca bağlanarak antibiyotığın sekestrasyonu ve antibiyotik molekülünün enzimatik inaktivasyonu gibi birkaç mekanizma yoluyla oluşabilmektedir (Ramirez ve Tolmasky, 2010). Yararlı mikroflorayı oluşturan laktik asit bakterilerinin klinik olarak önemli aminoglikozit grubu ilaçlara karşı direnç kazanması ciddi endişe uyandırmaktadır (Jackson vd., 2011; Özdemir ve Tuncer, 2020).

Bu çalışmada Isparta ve Antalya illerinden temin edilen piliç eti örneklerinde YSAD *Enterococcus* suşlarının yaygınlığı araştırılmış ve izolatların antibiyotik direnç profilleri belirlenmiştir. Ayrıca izolatların gentamisin ve streptomisin MİK değerleri tespit edilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Piliç eti örnekleri

Çalışmada kullanılan 112 piliç eti örneği (39 kanat, 37 göğüs, 20 but, 16 bagnet) Antalya ve Isparta illerinde bulunan kasap ve marketlerden 2017 yılı Haziran-Ağustos aylarını kapsayan 3 aylık zaman aralığında temin edilmiştir. Piliç eti örnekleri soğuk zincir altında laboratuara getirilmiş ve aynı gün analiz edilmiştir.

YSAD muhtemel *Enterococcus* suşlarının izolasyonu

YSAD *Enterococcus* suşlarının izolasyonu için piliç eti örneklerinden 25 g aseptik koşullar altında tartılmış ve steril çelik blenderda (Waring Commercial 8011 ES, Torrington, CT, ABD), 225 mL fizyolojik tuzlu su (FTS) çözeltisi (FTS, %0.85 NaCl, w/v) ile homojen hale gelinceye kadar karıştırılmıştır. Hazırlanan bu dilüsyondan 100 µL alınarak YSGD *Enterococcus* suşlarının izolasyonu için 500 µg/mL gentamisin, YSSD *Enterococcus* suşlarının izolasyonu için ise 2000 µg/mL streptomisin içeren iki farklı Enterococcosel agar (Becton Dickinson, Almanya) ve MRS agar besiyeri ortamlarına aktarılmış ve Drigalski spatülü ile yüzeye yayılmıştır. Petri kutuları 37°C'de 2-5 gün inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda Enterococcosel agar ortamında kahve rengi-siyah merkezli etrafında kahve rengi zon görülen, MRS agar ortamında ise gelişme gösteren bütün koloniler YSGD veya YSSD muhtemel *Enterococcus* izolatı olarak düşünülmüştür. Daha sonra koloniler izole edildikleri konsantrasyonda gentamisin veya streptomisin ilave edilmiş MRS broth besiyeri ortamında kültüre edilmiştir. İzolatların saflık kontrolleri Enterococcosel agar besiyeri ortamında yapılmıştır.

YSAD muhtemel *Enterococcus* izolatlarının tanısı

Morfolojik tanı ve katalaz testi

YSAD muhtemel *Enterococcus* izolatlarının mikroskopik morfolojileri Gram boyama metodu ile hazırlanan preparatların ışık mikroskopunda (Leica DM500, Almanya) incelenmesi ile belirlenmiştir (Temiz, 1994). Mikroskopik morfolojileri belirlenen izolatların katalaz testleri %3 hidrojen peroksit (H₂O₂) (Merck, Darmstadt, Almanya) çözeltisi kullanılarak tespit edilmiştir (Temiz, 1994). Katalaz testinde *S. aureus* ATCC 25923 suşu pozitif, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşu ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

Kültürel testler

İzolatların *Enterococcus* cinsi üyesi olup olmadıklarının belirlenmesi için kültürel testler yapılmıştır. Kültürel testler için izolatlar MRS broth ortamında 37°C'de 18 saat geliştirildikten sonra %6.5 (w/v) NaCl ilave edilmiş ve pH'sı 9.6'ya ayarlanmış iki ayrı MRS broth ortamına inoküle edilmiş ve 37°C'de 18 saat kültüre edilmiştir (Manero ve Blanch, 1999). Bu testlere ek olarak izolatların MRS broth ortamında 10°C ve 45°C'de gelişme özellikleri ve 60°C'de 30 dakika sıcaklık uygulaması sonrası hayatta kalmaları test edilmiştir (Morandi vd., 2006).

Genomik DNA izolasyonu

Genomik DNA izolasyonu için YSAD izolatları MRS broth ortamında 37°C'de 18 saat süre ile geliştirilmiştir. Bu kültürlerden steril Eppendorf tüplerine 0.5 mL aktarılmış ve hücreler 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj (Sigma 2-16P, Rotor No: 12148, Almanya) edilmiştir. Hücre çöktelleri

0.5 mL liziz çözeltisi ile çözülmüş ve tüpler su banyosu (Nüve NB9, Türkiye) içerisinde 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra tüplere 30 µL sodyum dodesil sülfat (SDS, % 10 w/v) ilave edilmiş ve 80 °C'ye ayarlanmış su banyosunda (Nüve NB5) 5 dakika tutulmuştur. Süre sonunda lize olan hücre süspansiyonları üzerine 0.7 mL fenol-kloroform (1:10) ilave edilerek 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Üst faz alınarak yeni steril Eppendorf tüplerine aktarılmış ve üzerine 0.7 mL 2-propanol ilave edildikten sonra tüpler bir kez daha 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından oluşan çökelti 50 µL Tris-EDTA (pH 8.0) içerisinde çözülmüştür. İzole edilen genomik DNA örnekleri kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Cancilla vd., 1992).

Genomik DNA örneklerinin elektroforezi % 0.7 (w/v) agaroz içeren jellerde yapılmıştır. Elektroforez işlemi tris-asetat elektroforez tamponu eşliğinde OWL EASYCAST B2 yatay elektroforez jel sisteminde (Thermo Fisher Scientific, ABD) gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işlemi, 85 voltta 1.5-2 saat süreyle yapılmıştır. Jel 0.2 µg/mL etidyum bromit (Amresco, Solon, Ohio, ABD) içeren çözeltide 45 dakika boyanmıştır. Boyanmış jeller, 312 nm dalga boyunda ultraviyole ışık (Vilber Lourmat, ECX-F20.M, Fransa) altında incelenerek Nikon D5100 dijital fotoğraf makinesi (Nikon Corp. Japonya) kullanılarak fotoğraflanmıştır.

YSAD izolatların cinsine özgü primerler ile cins düzeyinde tanısı

YSAD izolatların cins düzeyinde tanısı Çizelge 1'de verilen *Enterococcus* cinsine özgü primer çifti kullanılarak TurboCycler 2 (Blue-Ray Biotech Ltd., Tayvan) gradient termal döngü cihazında yapılmıştır. PZR işlemi toplam 50 µL PZR karışımı (25 µL 2x PCR master miks (Thermo #K0171, Litvanya), 20 µL nükleaz içermeyen su, 3 µL kalıp DNA, 1 µL ileri primer ve 1 µL geri primer) kullanılarak 1 döngü başlangıç denatürasyonu (95°C'de 15 dakika), 40 döngü çoğalma (95°C'de 15 saniye, 62°C'de 1 dakika, 72°C'de 30 saniye) ve 1 döngü son uzama (72°C'de 10 dakika) aşamalarından oluşan

protokol takip edilerek gerçekleştirilmiştir (Sahoo vd., 2015).

Çoğaltılan PZR fragmentlerinin elektroforezi OWL EASYCAST B2 (Thermo) yatay elektroforez tankı kullanılarak % 2 agaroz (w/v) oranı ile hazırlanan jellerde yapılmış ve fragment büyüklükleri O'GeneRuler™ 100-bp DNA marker (Thermo #SM1153) kullanılarak hesaplanmıştır. Jeller etidyum bromit (Amresco) ile boyanmış ve UV ışık altında fotoğraflanmıştır.

YSAD Enterococcus izolatlarının türe özgü primerler ile tür düzeyinde tanısı

YSAD *Enterococcus* izolatlarının tür düzeyinde tanısında Jackson vd. (2004a) tarafından önerilen *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. hirae* ve *E. mundtii* türlerine özgü primer çiftleri kullanılmıştır (Çizelge 1). PZR denemelerinde 1 döngü başlangıç denatürasyonu (95°C'de 4 dakika), 30 döngü çoğalma (95°C'de 30 saniye, 55°C'de (*E. mundtii* için 60°C) 1 dakika, 72°C'de 1 dakika) ve 1 döngü son uzama (72°C'de 7 dakika) aşamalarından oluşan protokol kullanılmıştır. PZR denemelerinde Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Bakteriyel Genetik Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilen *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 51559, *E. durans* NYE4, *E. casseliflavus* DYE1 ve *E. gallinarum* DYE26 suşları kontrol olarak kullanılmıştır. Çoğaltılan PZR fragmentlerinin agaroz jel elektroforezi OWL EASYCAST B2 (Thermo) yatay elektroforez tankında % 2 agaroz (w/v) oranı ile hazırlanan jellerde yapılmıştır. Elektroforez işlemini takiben jeller etidyum bromit (Amresco) ile boyanmış ve UV ışık altında fotoğraflanmıştır. Fragment büyüklüklerinin hesaplanmasında O'GeneRuler™ 100-bp DNA marker (Thermo) kullanılmıştır.

16S rDNA dizi analizi

Türe özgü spesifik primer kullanılarak tür düzeyinde tanısı yapılamayan 3 izolatın (MSE63.1, MSE63.2 ve MSE111.1) tür düzeyinde tanısı 16S rDNA dizi analizi ile yapılmıştır. PZR işlemi TurboCycler 2 gradient termal döngü cihazında (Blue-Ray Biotech) gerçekleştirilmiştir. Enterokok suşlarında 16S rDNA bölgesi,

Edwards vd. (1989) tarafından önerilen pA (ileri) ve pE' (geri) genel bakteri primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır (Çizelge 1). PZR işleminde 1 döngü başlangıç denatürasyonu (94°C'de 2 dakika), 30 döngü çoğalma (94°C'de 30 saniye, 55°C'de 1 dakika, 72°C'de 90 saniye) ve 1 döngü son uzama (72°C'de 10 dakika) aşamalarından oluşan protokol kullanılmıştır. Çoğaltılan PZR fragmentlerinin agaroz jel elektroforezi yatay elektroforez tankında % 1 agaroz (w/v) oranı ile hazırlanan jellerde yapılmıştır. Elektroforez işlemini takiben jeller etidyum bromit (Amresco)

ile boyanmış ve UV ışık altında fotoğraflanmıştır. Fragment büyüklüklerinin hesaplanmasında O'GeneRuler™ 100-bp DNA marker (Thermo) kullanılmıştır. PZR ürünlerinin DNA dizi analizi Oligomer Biyoteknoloji A.Ş.'de (ODTÜ, Teknokent, Ankara, Türkiye) yaptırılmıştır. Sekans işleminde Applied Biosystems® AB 3730XL (Thermo, ABD) otomatik gen sekans cihazı kullanılmıştır. 16S rDNA dizi benzerliği National Center for Biotechnology Information (NCBI) BLAST programı kullanılarak tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan primer dizileri ve ürün büyüklükleri
Table 1. Primers sequences and product sizes used in this study

Gen <i>Gene</i>	Primer dizisi (5' - 3') <i>Primer sequences (5' - 3')</i>	Ürün boyutu (bp) <i>Product size (bp)</i>	Kaynak <i>Reference</i>
<i>Enterococcus</i>	f: TACTGACAAACCATTCATGATG r: AACTTCGTCACCAACGCGAAC	112	Sahoo vd. 2005
<i>E. casseliflavus</i>	f: TCCTGAATTAGGTGAAAAAAC r: GCTAGTTTACCGTCITTAACG	288	Jackson vd. 2004a
<i>E. durans</i>	f: CCTACTGATATTAAGACAGCG r: TAATCCTAAGATAGGTGTTTG	295	Jackson vd. 2004a
<i>E. faecalis</i>	f: ACTTATGTGACTAACTTAACC r: TAATGGTGAATCITGGTTTGG	360	Jackson vd. 2004a
<i>E. faecium</i>	f: GAAAAACAATAGAAGAATTAT r: TGCITTTTTGAATTCITCTTTA	215	Jackson vd. 2004a
<i>E. gallinarum</i>	f: TTACTTGCTGATTTTGATTCG r: TGAATTCITCTTTGAAATCAG	173	Jackson vd. 2004a
<i>E. hirae</i>	f: CTTTCIGATATGGATGCTGTC r: TAAATTCTTCCITAAATGTTG	187	Jackson vd. 2004a
<i>E. mundtii</i>	f: CAGACATGGATGCTATTCATCT r: GCCATGATTTCCAGAAGAAT	98	Jackson vd. 2004a
16S rRNA	f: AGAGTTTGATCCTGGCTCAG r: CCGTCAATTCCTTGTAGTTT	921	Edwards vd. 1989

Antibiyotik direnç

YSAD *Enterococcus* suşlarının antibiyotik direnç profilleri Oxoid Ltd. Şti. (İngiltere)'den temin edilen ampicilin (10 µg), doksisisiklin (30 µg), eritromisin (15 µg), gentamisin (120 µg), kloramfenikol (30 µg), levofloksasin (5 µg), linezolid (30 µg), minosiklin (30 µg), nitrofurantoin (300 µg), norfloksasin (10 µg), penisilin G (10 U), quinupristin/dalfopristin (15 µg), rifampin (5 µg), siprofloksasin (5 µg), streptomisin (300 µg), teikoplanin (30 µg), tetrasiklin (30 µg) ve vankomisin (30 µg) içeren antibiyotik diskleri kullanılarak disk difüzyon

yöntemi ile belirlenmiştir (Cariolato vd., 2008). Enterokok suşlarının antibiyotik direnci ve duyarlılığı Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nün (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 2016 yılı kılavuzuna göre değerlendirilmiştir.

Gentamisin ve streptomisin MİK değerlerinin belirlenmesi

İzolatların streptomisin ve gentamisin MİK değerleri 96 kuyucuklu steril polistiren mikrotitre tabaklar (LP Italiano L120138, İtalya) kullanılarak sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Gentamisin ve streptomisin konsantrasyonu 0.125-4096 µg/mL aralığında dilüe edilmiştir. Denemelerde antibiyotik ilave edilmemiş kuyu kontrol olarak kullanılmıştır. MİK testinde *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 51559 ve *E. faecalis* ATCC 51299 suşları referans kültür olarak kullanılmıştır. Enterokok suşlarının MİK değerleri CLSI'nin 2016 ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi'nin (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) 2018 yılı kılavuzlarına göre değerlendirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

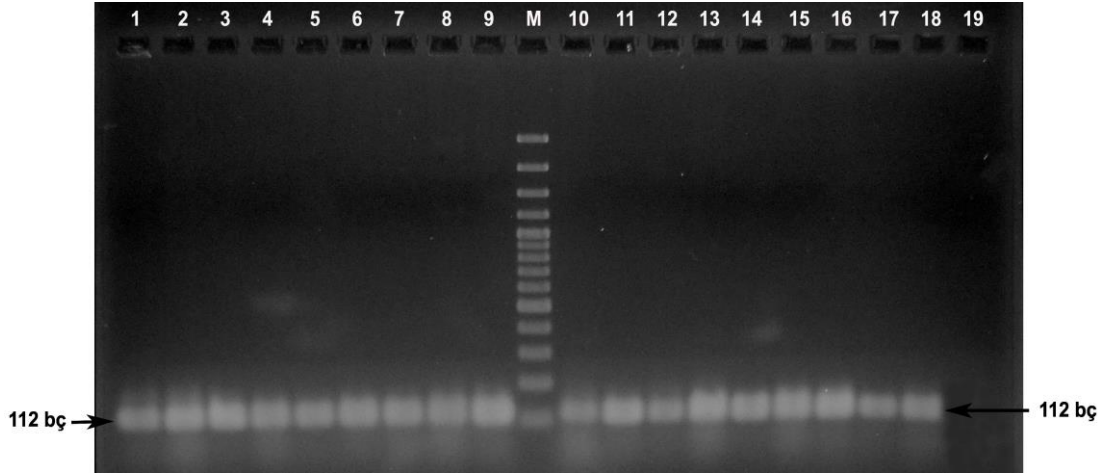
Çalışma kapsamında 112 piliç eti örneğinden toplam 36 YSAD suşu izole edilmiştir. İzolatların 10'u gentamisin (500 µg/mL) ve 26'sı ise streptomisin (2000 µg/mL) içeren besiyeri ortamlarından izole edilmiştir. İzolatların cins düzeyinde tanısı klasik metotlar (Gram boyama, katalaz testi ve kültürel testler) ve *Enterococcus* cinsine özgü primer çifti kullanılarak PZR ile yapılmıştır. Gram boyama sonrası 32 izolatın Gram pozitif kok (monokok, dipkok ve kısa zincir), 2 izolatın Gram negatif kok/kokobasil, 1 izolatın Gram pozitif basil, 1 izolatın ise Gram negatif basil morfolojisinde olduğu tespit edilmiştir. Gram boyama sonucu Gram negatif (3 izolat) ve Gram pozitif basil morfolojisinde (1 izolat) olduğu tespit edilen izolatlar *Enterococcus* cinsi üyesi olmadığı düşünülerek elimine edilmiştir. Çalışmaya Gram pozitif kok morfolojisine sahip 32 izolat (7 YSGD ve 25 YSSD) ile devam edilmiştir. Katalaz testi ile 32 YSAD izolatının tamamının katalaz negatif özellik gösterdiği belirlenmiştir. YSAD izolatlarının 10°C, 37°C ve 45°C inkübasyon sıcaklığında, pH'sı 9.6'ya ayarlanmış ve % 6.5 NaCl içeren MRS broth besiyeri ortamlarında gelişme gösterebildiği belirlenmiştir. MSE63.1, MSE63.2 ve MSE111.1 kodlu izolatlar % 6.5 NaCl içeren MRS broth ortamında zayıf gelişme göstermiştir. İzolatların tamamının 60°C'de 30 dakika sıcaklık uygulamasına dirençli olduğu belirlenmiştir. Klasik tanı yöntemlerinden elde edilen bilgiler ışığında piliç eti örneklerinden izole edilen 32 YSAD izolatı *Enterococcus* cinsi üyesi olarak tanımlanmıştır. İzolatların cins düzeyinde tanısı *Enterococcus* cinsine özgü primerler çiftinin

kullanıldığı PZR işlemi ile doğrulanmıştır. PZR denemesi sonucu 32 YSAD izolatın tamamının *Enterococcus* cinsine özgü primerler ile beklenildiği gibi 112 kb büyüklüğünde fragmentler verdiği tespit edilmiştir (Şekil 1). Bu sonuçlar klasik tanı testi sonuçlarını desteklemiş ve YSAD izolatların tamamının *Enterococcus* cinsi üyesi olduğu doğrulanmıştır. Gentamisin içeren MRS agar ortamından izole edilen suşlara MGM, Enterococcosel agar ortamından izole edilenlere ise MGE kodu verilmiştir. Benzer olarak streptomisin içeren MRS agar ortamından izole edilen suşlara MSM, Enterococcosel agar ortamından izole edilenlere ise MSE kodu verilmiştir. Enterokoklar kanatlılarda bulunabilen ve dünya genelinde yayılım gösteren bakterilerdir. Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da piliç eti örneklerinden enterokok cinsi üyesi suşların izole edildiği rapor edilmiştir (Bakarata vd., 2000; Harada vd., 2004; Klibi vd., 2015; Kim vd., 2018; Sanlibaba vd., 2018). Ayrıca piliç etinden izole edilen *Enterococcus* izolatlarının antibiyotik direnç profillerinin araştırıldığı bazı çalışmalarda da YSAD *Enterococcus* suşlarının varlığı bildirilmiştir (Donabedian vd., 2003; Kim vd., 2018; Sanlibaba vd., 2018).

YSAD *Enterococcus* izolatlarının tür düzeyinde tanısı türe özgü primer çiftleri kullanılarak PZR ile yapılmıştır. Çalışmada kullanılan primer çiftleri ile amplifikasyon vermeyen 3 izolatın tanısı ise 16S rDNA dizi analizi yöntemi ile yapılmıştır. Türe özgü primer çiftleri kullanılarak yapılan tür düzeyinde tanı testleri sonucu 32 YSAD *Enterococcus* izolatının 18'i *E. faecium*, 5'i *E. faecalis*, 5'i *E. durans*, 1'i *E. casseliflavus* olarak tanımlanmıştır. MSE63.1, MSE63.2 ve MSE111.1 kodlu izolatlar ise tür düzeyinde tanımlanamamıştır. Bu izolatların tür düzeyinde tanısı 16S rDNA dizi analizi ile yapılmıştır. 16S rDNA dizi analizi sonucu MSE63.1, MSE63.2 ve MSE111.1 kodlu izolatların *E. avium* genomu ile % 99 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında 32 YSAD *Enterococcus* izolatının 18'i *E. faecium* (% 56.25), 5'i *E. faecalis* (% 15.63), 5'i *E. durans* (% 15.63), 3'ü *E. avium* (% 9.37) ve 1'i *E. casseliflavus* (% 3.12) olarak tanımlanmıştır. YSAD *Enterococcus* türleri arasında baskın türün *E. faecium* olduğu tespit edilmiştir. Her ne kadar

YSAD *Enterococcus* izolasyonu yapılması amaçlanmamış olsa da bu çalışmadan elde edilen sonuçlara benzer olarak Kasımoğlu-Doğru vd. (2010) tavuk boyun derisinden, Sanlibaba vd. (2018) ise paketlenmiş piliç eti örneklerinden izole edilen *Enterococcus* türleri arasında *E. faecium*'un dominant tür olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca farklı araştırmacılar tarafından yapılan

çalışmalarda da *E. faecium* ve *E. faecalis* türlerine kıyasla daha az sıklıkla da olsa *E. casseliflavus*, *E. hirae*, *E. durans*, *E. gallinarum* ve/veya *E. avium* türlerine de rastlandığı bildirilmiştir (Franz vd., 1999; Bakarar vd., 2000; Butaye vd., 2001; Kasımoğlu-Doğru vd. 2010; Klibi vd., 2015; Sanlibaba vd., 2018; Kim vd., 2018).



Şekil 1. YSAD izolatlarının *Enterococcus* cinsine özgü primerler ile çoğaltılan PZR fragmentleri 1-17: YSAD izolatları; M: O'Gene Ruler DNA 100 bç DNA marker (Thermo); 18: *E. faecalis* ATCC 29212 (pozitif kontrol) ; 19: negatif kontrol (su)

Figure 1. PCR fragments of HLAR isolates amplified with *Enterococcus* genus specific primers 1-17: HLAR isolates; M: O'Gene Ruler 100 bp DNA marker (Thermo); 18: *E. faecalis* ATCC 29212 (positive control) ; 19: negative control (water)

Piliç eti örneklerinden izole edilen YSAD *Enterococcus* türlerinin dağılımı Çizelge 2'de verilmiştir. Elde edilen bulgulara benzer olarak piliç eti ve tavuk ile ilişkili örneklerden (dışkı, kör bağırsak veya boyun derisi) izole edilen *Enterococcus* türlerinin antibiyotik direnç profillerinin araştırıldığı geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda da YSAD *E. faecium* (Yoshimura vd., 2000; Harada vd., 2004; Jackson vd., 2004b; Petsaris vd., 2005; Diarra vd., 2010; Kasımoğlu-Doğru vd. 2010; Sanlibaba vd., 2018), *E. faecalis* (Yoshimura vd., 2000; Harada vd., 2004; Jackson vd., 2004b; Diarra vd., 2010; Kasımoğlu-Doğru vd. 2010; Choi ve Woo, 2013; Sanlibaba vd., 2018), *E. durans* (Jackson vd., 2004b), *E. gallinarum* (Harada vd., 2004; Jackson vd., 2004b) ve *E. hirae* (Jackson vd., 2004b; Diarra vd., 2010) türlerine rastlandığı bildirilmiştir.

Disk difüzyon testi sonucu piliç eti örneklerinden izole edilen 32 YSAD *Enterococcus* izolatının 4 ile 16 arasında değişen sayıda antibiyotiğe direnç gösterdiği belirlenmiştir. İzolatlar arasından en geniş antibiyotik direnç profiline sahip izolatın *E. faecalis* MSM93.1 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3). İzolatların tamamının (% 100) çoklu antibiyotik direncine sahip olduğu belirlenmiştir. Geçmiş yıllarda piliç eti veya tavuk ile ilişkili örneklerden (dışkı ve kör bağırsak) izole edilen enterokokların antibiyotik direnç profillerinin araştırıldığı çalışmalarda da enterokok izolatlarının çoklu antibiyotik direncine sahip olduğu bildirilmiştir (Diarra vd., 2010; Kim vd., 2018; Sanlibaba vd., 2018).

Çizelge 2. Piliç eti örneklerinden izole edilen YSAD* *Enterococcus* türlerinin dağılımı
 Table 2. Distribution of HLAR* *Enterococcus* species isolated from broiler meat samples

<i>Enterococcus</i> türü <i>Enterococcus</i> species	Piliç eti örnekleri/ Broiler meat samples (n= 112)			
	Baget/Drumstick (n=16)	But/Leg (n=20)	Göğüs/Breast (n= 37)	Kanat/Wings (n= 39)
	YSGD/YSSD** HLGR/HLSR**	YSGD/YSSD HLGR/HLSR	YSGD/YSSD HLGR/HLSR	YSGD/YSSD HLGR/HLSR
<i>E. faecium</i> (n= 18)	0/1	0/7	0/4	0/6
<i>E. faecalis</i> (n= 5)	0/1	0/1	1/1	0/1
<i>E. durans</i> (n= 5)	0/0	0/0	4/0	1/0
<i>E. avium</i> (n= 3)	0/0	0/0	0/0	0/3
<i>E. casseliflavus</i> (n= 1)	0/0	0/0	0/0	1/0
Toplam/Total	0/2	0/8	5/5	2/10

*YSAD: Yüksek seviyede aminoglikozid dirençli/HLAR: High-level aminoglycoside-resistant

** YSGD: Yüksek seviyede gentamisin dirençli/HLGR: High-level gentamicin-resistant; YSSD: Yüksek seviyede streptomisin dirençli/HLSR: High-level streptomycin-resistant

YSAD izolatların en duyarlı olduğu antibiyotiklerin ampisilin (%93.75), linezolid (%93.75), penisilin G (%90.62), teikoplanin (%90.62), nitrofurantoin (%78.12), vankomisin (%75) ve kloramfenikol (%68.75) olduğu tespit edilmiştir. Eritromisin dışında izolatların denemelerde kullanılan diğer antibiyotiklere ise farklı oranda duyarlı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4). Elde edilen bu bulgulara benzer olarak El-Ghazawy vd. (2016), YSAD klinik *Enterococcus* izolatlarının linezolide (%97.9), teikoplanine (%93.7) ve vankomisine (%93.7) yüksek oranda duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. YSAD *Enterococcus* izolatlarının en dirençli olduğu antibiyotiklerin eritromisin (%96.87), minosiklin (%96.87), streptomisin (%96.87) ve tetrasiklin (%96.87) olduğu belirlenmiştir. Benzer olarak Mendiratta vd. (2008), YSAD klinik *Enterococcus* izolatlarında yüksek oranda eritromisin ve tetrasiklin direnci tespit etmişlerdir. Bu bulgulara ilaveten izolatların siprofloksasin, kloramfenikol ve rifampisin direnç oranları da bu çalışmadan elde edilen bulgulara benzerlik göstermektedir. Diğer taraftan, araştırmacılar bizim bulgularımızın aksine izolatların ampisiline ve penisiline yüksek oranda direnç gösterdiğini rapor etmişlerdir. El-Ghazawy vd. (2016), YSAD klinik *Enterococcus* izolatlarının antibiyotik direnç profillerini araştırdıkları çalışmalarında bizim bulgularımıza benzer olarak yüksek oranda (%78.7) eritromisin

direnci tespit etmişlerdir. Ancak araştırmacılar YSAD klinik *Enterococcus* suşlarında bizim bulgularımıza kıyasla daha yüksek oranda ampisilin (% 40.4) ve penisilin (% 46.8) direnci tespit ettiklerini rapor etmişlerdir.

Piliç eti örneklerinden izole edilen YSAD *Enterococcus* türlerinin antibiyotik duyarlılık ve direnç yüzdeleri Çizelge 5'de verilmiştir. *E. faecalis* ve *E. faecium* türü üyesi izolatların antibiyotik direnç profillerinin diğer izolatlara nazaran daha geniş olduğu tespit edilmiştir. *E. faecalis* izolatlarının linezolid hariç, *E. faecium* izolatlarının ise linezolid, teikoplanin ve vankomisin hariç denemelerde kullanılan diğer antibiyotiklere direnç gösteren izolatlarının olduğu belirlenmiştir. Geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda *Enterococcus* türlerinin antibiyotik dirençlerinin izolasyon kaynağına bağlı olarak değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, yapılan çalışmalar *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin diğer türlere nazan daha geniş antibiyotik direncine sahip olduğunu göstermiştir (Chajacka-Wierzchowska vd., 2012; Yogurtcu ve Tücer, 2013; Demirgöl ve Tücer, 2017; Russo vd., 2018).

Çizelge 3. YSAD *Enterococcus* suşlarının antibiyotik direnç profilleri ve gentemisin ve streptomisin MİK değerleri

Table 3. Antibiotic resistance profiles and gentamicin and streptomycin MIC values of HLA^R *Enterococcus* strains

Suşlar Strains	Antibiyotik direnç* Antibiotic resistance	MİK (µg/mL)** MIC (µg/mL)	
		CN	S
<i>E. durans</i> MGE13.1	DO, E, CN, QD, MH, F, S, TE	>4096 ^R	4096 ^R
<i>E. durans</i> MGE13.2	E, CN, QD, MH, F, S, TE	4096 ^R	4096 ^R
<i>E. durans</i> MGE13.3	E, CN, QD, MH, F, S, TE	>4096 ^R	2048 ^R
<i>E. durans</i> MGE13.4	E, CN, QD, MH, F, S, TE	>4096 ^R	2048 ^R
<i>E. faecium</i> MSM14.1	DO, E, CN, LEV, MH, RD, S, TE	4096 ^R	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSE31.1	DO, E, CN, MH, F, NOR, P, S, TE	1024 ^R	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSE53.1	DO, E, CN, C, MH, S, TE	4096 ^R	>4096 ^R
<i>E. faecalis</i> MSM53.1	DO, E, CN, LEV, QD, MH, NOR, CIP, S, TE	4096 ^R	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSE58.1	DO, E, CN, C, LEV, MH, NOR, CIP, S, TE	>4096 ^R	>4096 ^R
<i>E. faecalis</i> MGE58.1	DO, E, CN, C, MH, NOR, P, CIP, S, TE	>4096 ^R	>4096 ^R
<i>E. faecalis</i> MSE61.1	DO, E, CN, QD, MH, S, TE	>4096 ^R	>4096 ^R
<i>E. durans</i> MGE63.1	E, CN, C, QD, S,	>4096 ^R	>4096 ^R
<i>E. avium</i> MSE63.1	E, CN, C, LEV, QD, MH, F, NOR, CIP, S, TE	4096 ^R	>4096 ^R
<i>E. avium</i> MSE63.2	CN, MH, S, TE	2048 ^R	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSM76.1	DO, E, LEV, MH, NOR, CIP, S, TE	32	>4096 ^R
<i>E. faecalis</i> MSM 93.1	AMP, DO, E, C, LEV, LZD, QD, MH, NOR, P, RD, CIP, S, TEC, TE, VA	128	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSM95.1	DO, E, LEV, MH, CP, S, TE	32	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSM103.1	AMP, DO, E, MH, RD, S, TE	64	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSM104.1	DO, E, MH, S, TE	64	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSE104.1	DO, E, CN, LEV, MH, S, TE	>4096 ^R	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSE104.2	DO, E, CN, LEV, MH, NOR, CIP, S, TE	>4096 ^R	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSM105.1	DO, E, QD, MH, CIP, S, TE	64	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSM106.1	DO, E, MH, RD, S, TE	64	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSM107.1	DO, E, MH, CIP, S, TE	32	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSM108.1	DO, E, MH, S, TE	32	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSM109.1	DO, E, MH, RD, S, TE	32	>4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSM110.1	DO, E, MH, NOR, RD, CIP, S, TE	32	>4096 ^R
<i>E. casseliflavus</i> MGM111.1	E, CN, C, MH, TE	4096 ^R	64
<i>E. avium</i> MSE111.1	E, CN, MH, S, TE	512 ^R	4096 ^R
<i>E. faecium</i> MSE111.2	E, LEV, QD, MH, S, TE	256 ^R	>4096 ^R
<i>E. faecalis</i> MSM112.1	DO, E, QD, MH, NOR, CIP, S, TE	16	2048 ^R
<i>E. faecium</i> MSM112.2	DO, E, LEV, MH, RD, CIP, S, TE	64	>4096 ^R

*AMP: Ampisilin/*Ampicilin* (10 µg); DO: Doksisisiklin/*Doxycycline* (30 µg); E: Eritromisin/*Erytromycin* (15 µg); CN: Gentamisin/*Gentamicin* (120 µg); C: Kloramfenikol/*Chloramphenicol* (30 µg); LEV: Levofloksasin/*Levofloxacin* (5 µg); LZD: Linezolid/*Linezolid* (30 µg); MH: Minosiklin/*Minocycline* (30 µg); F: Nitrofurantoin/*Nitrofurantoin* (300 µg); NOR: Norfloksasin/*Norfloxacin* (10 µg); P: Penisilin G/*Penicillin G* (10 U); QD: Quinupristin/dalfopristin/*Quinupristin/dalfopristin* (15 µg); RD: Rifampin/*Rifampin* (5 µg); CIP: Siprofloksasin/*Ciprofloxacin* (5 µg); S: Streptomisin/*Streptomycin* (300 µg); TEC: Teikoplanin/*Teicoplanin* (30 µg); TE: Tetrasiklin/*Tetracycline* (30 µg); VA: Vankomisin/*Vancomycin* (30 µg)

** R: Dirençli/*Resistant*. EUCAST kırılma noktaları tablolarına (2018) göre gentamisin ve streptomisin MİK sınır değerleri sırasıyla >128 ve >512 µg/mL olarak alınmıştır. According to the EUCAST breakpoints tables (2018), gentamicin and streptomycin MIC breakpoints are >128 and >512 µg/mL, respectively.

Çizelge 4. YSAD *Enterococcus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik yüzdeleri (%)
 Table 4. Antibiotic resistance and susceptibility rates of HLAAR *Enterococcus* isolates (%)

Antibiyotikler/ <i>Antibiotics</i>	S*		I		R	
	<i>n</i> **	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Ampisilin/ <i>Ampicilin</i>	30	93.75	0	0	2	6.25
Doksisiklin/ <i>Doxycycline</i>	1	3.13	8	25	23	71.87
Eritromisin/ <i>Erythromycin</i>	0	0	1	3.13	31	96.87
Gentamisin/ <i>Gentamicin</i>	14	43.75	0	0	18	56.25
Kloramfenikol/ <i>Chloramphenicol</i>	22	68.75	3	9.37	7	21.88
Levofloksasin/ <i>Levofloxacin</i>	14	43.75	7	21.87	11	34.38
Linezolid/ <i>Linezolid</i>	30	93.75	1	3.13	1	3.12
Minosiklin/ <i>Minocycline</i>	1	3.13	0	0	31	96.87
Nitrofurantoin/ <i>Nitrofurantoin</i>	25	78.12	1	3.13	6	18.75
Norfloksasin/ <i>Norfloxacin</i>	9	28.13	13	40.62	10	31.25
Penisilin G/ <i>Penicillin G</i>	29	90.63	0	0	3	9.37
Quinupristin/dalfopristin <i>Quinupristin/dalfopristin</i>	5	15.63	15	46.87	12	37.50
Rifampin/ <i>Rifampin</i>	15	46.87	10	31.25	7	21.88
Siprofloksasin/ <i>Ciprofloxacin</i>	5	15.63	13	40.62	14	43.75
Streptomisin/ <i>Streptomycin</i>	1	3.13	0	0	31	96.87
Teikoplanin/ <i>Teicoplanin</i>	29	90.62	2	6.25	1	3.13
Tetrasiklin/ <i>Tetracycline</i>	1	3.13	0	0	31	96.87
Vankomisin/ <i>Vancomycin</i>	24	75	7	21.87	1	3.13

* S: Duyarlı/*Susceptible*; I: Orta seviyede dirençli/*Intermediary*; R: Dirençli/*Resistant*

** *n*: izolat sayısı / *number of isolate*

YSAD *Enterococcus* izolatlarının gentamisin ve streptomisin MİK değerleri Çizelge 3'de verilmiştir. İzolatların gentamisin MİK değerlerinin 16 ile >4096 µg/mL ve streptomisin MİK değerlerinin ise 64 ile >4096 µg/mL arasında değiştiği belirlenmiştir. MİK testi sonucu YSSD izolatlarının tamamı streptomisine, YSGD izolatlarının tamamı ise gentamisine dirençli bulunmuştur. Aynı zamanda YSSD izolatlarının %56'sının gentamisine ve YSGD izolatlarının ise %85.71'inin streptomisine karşı yüksek seviyede dirence sahip olduğu belirlenmiştir. 32 YSAD *Enterococcus* izolatının 18'inin (%56.25) hem YSSD hem de YSGD oldukları tespit edilmiştir. Jackson vd. (2004b), kümes hayvanları karkaslarından izole ettikleri enterokoklardan, 37 izolatın (% 23) gentamisine (MİK> 500 µg/mL), 31 izolatın streptomisine (% 19) (MİK> 1000 µg/mL) dirençli olduğunu saptamışlardır. Harada vd. (2004), piliç eti örneklerinden izole ettikleri 19

suşun gentamisin MİK değerlerinin 256-2048 µg/mL arasında olduğunu bildirmişlerdir. Petsaris vd. (2005), tavuk kör bağırsak örneklerinden izole ettikleri 90 *E. faecium* izolatından 3'ünün yüksek gentamisin direncine sahip olduğunu (MİK> 512 µg/mL) bulmuşlardır. Diarra vd. (2010), tavuk dışkı ve kör bağırsak örneklerinden izole ettikleri 69 enterokok izolatının MİK değerlerinin gentamisin için 128-512 µg/mL, streptomisin için ise 512-2048 µg/mL arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Choi ve Woo (2013), Kore'de yaptıkları çalışmada 2003 ve 2010 yılları arasında toplanan perakende piliç eti örneklerinden izole edilmiş 101 *E. faecalis* izolatının 11'inin gentamisine yüksek seviyede direnç (MİK> 2048 µg/mL) gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Çizelge 5. YSAD *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. avium* ve *E. casseliflavus* suşlarının antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik yüzdeleri (%)

Table 5. Antibiotic resistance and susceptibility rates of HLAR *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. avium* and *E. casseliflavus* isolates (%)

Antibiyotikler Antibiotics	<i>E. faecium</i> (n: 18)			<i>E. faecalis</i> (n: 5)			<i>E. durans</i> (n: 5)			<i>E. avium</i> (n: 3)			<i>E. casseliflavus</i> (n: 1)		
	S**	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Ampisilin <i>Ampicilin</i>	94.44	0	5.56	80	0	20	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Doksisiklin <i>Doxycycline</i>	0	5.56	94.44	0	0	100	20	60	20	0	100	0	0	100	0
Eritromisin <i>Erytromycin</i>	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	33.33	66.67	0	0	100
Kloramfenikol <i>Chloramphenicol</i>	11.11	11.11	77.78	40	0	60	80	0	20	33.33	0	66.67	0	0	100
Gentamisin <i>Gentamicin</i>	55.56	0	44.44	20	0	80	0	0	100	0	0	100	0	0	100
Levofloksasin <i>Levofloxacin</i>	27.78	27.78	44.44	20	40	40	100	0	0	66.67	0	33.33	100	0	0
Linezolid <i>Linezolid</i>	100	0	0	60	20	20	100	0	0	0	0	100	100	0	0
Minosiklin <i>Minocycline</i>	0	0	100	0	0	100	20	0	80	0	0	100	0	0	100
Nitrofurantoin <i>Nitrofurantoin</i>	88.88	5.56	5.56	100	0	0	20	0	80	66.67	0	33.33	100	0	0
Norfloksasin <i>Norfloxacin</i>	11.11	61.11	27.78	0	20	80	80	20	0	66.67	0	33.33	100	0	0
Penisilin G <i>Penicillin G</i>	94.44	0	5.56	60	0	40	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Quinupristin/dalfopristin <i>Quinupristin/ dalfopristin</i>	16.67	72.12	11.11	0	20	80	0	0	100	33.33	33.33	33.33	100	0	0
Rifampin <i>Rifampin</i>	16.67	50	33.33	60	20	20	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Siprofloksasin <i>Ciprofloxacin</i>	0	50	50	20	0	100	20	80	0	66.67	0	33.33	100	0	0
Streptomisin <i>Streptomycin</i>	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	100	0	0
Teikoplanin <i>Teicoplanin</i>	94.44	5.56	0	60	20	20	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Tetrasiklin <i>Tetracycline</i>	0	0	100	0	0	100	20	0	80	0	0	100	0	0	100
Vankomisin <i>Vancomycin</i>	61.11	38.89	0	80	0	20	100	0	0	100	0	0	100	0	0

*n: izolat sayısı / number of isolate

** S: Duyarlı / Susceptible; I: Orta seviyede dirençli / Intermediary; R: Dirençli / Resistant

SONUÇ

Enterokokların antibiyotiklere karşı gösterdikleri direnç bu bakterilerin patojenitesine katkıda bulunan faktörlerin başında gelmektedir. Antibiyotik direncin yaygınlaşması global düzeyde endişe uyandırmaktadır. Antimikrobiyal ajanlar, hayvan yetiştiriciliğinde terapötik ve terapötik olmayan amaçlarla kullanılabilir. Kommensal ve patojen bakterilerde antibiyotik direncin artışıdaki temel unsurların başında klinik öneme sahip antibiyotiklerin hayvan yetiştiriciliğinde bilinçsiz ve kontrolsüz olarak kullanımı gelmektedir. Aminoglikozitler yaşamı tehdit eden enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerdir. Bakterilerde yüksek seviyede aminoglikozit direncinin yaygınlaşması enfeksiyonların tedavisinde sorunlara yol açma

riskini beraberinde getirmektedir. Çalışma kapsamında piliç eti örneklerinden YSAD *Enterococcus* suşlarının izole edilmesi ve izolatların tamamının çoklu antibiyotik direnç özelliği göstermesi bu suşların antibiyotik direnç genlerinin yayılmasında rezervuar görevi görebilmesi nedeniyle endişe uyandırıcıdır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı 5010-YL1-17 nolu proje ile maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

YT, çalışma konusunu belirlemiş ve deneysel çalışma düzenini planlamıştır. MY ve YT deneysel çalışmaları gerçekleştirmiştir. MY makalenin taslağını oluşturmuş, YT makalenin son halini almasını sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKLAR

Abauelnaga, M., Lamas, A., Quintela-Baluja, M., Osman, M., Miranda, J.M., Cepeda, A., Franco, C.M. (2016). Evaluation of the extent of virulence factors and antibiotic resistance in enterococci isolated from fermented and unfermented foods. *Ann Microbiol*, 66: 577-585.

Barakat, R.K., Griffiths, M.W., Harris, L.J. (2000). Isolation and characterisation of *Carnobacterium*, *Lactococcus*, and *Enterococcus* spp. from cooked, modified atmosphere packed, refrigerated, poultry meat. *Int J Food Microbiol*, 62(1-2): 83-94.

Bismuth, R., Courvalin, P. (2010). Aminoglycosides and Gram-positive bacteria: antibiogram, 3rd edn. ESKA, Portland

Butaye, P., Devriese, L.A., Haesebrouck, F. (2001). Differences in antibiotic resistance patterns of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains isolated from farm and pet animals. *Antimicrob Agents Chemother*, 45(5): 1374-1378.

Cancilla, M.R., Powell, I.B., Hillier, A.J., Davidson, B.E. (1992). Rapid genomic fingerprinting of *Lactococcus lactis* strains by arbitrarily primed polymerase chain reaction with 32P and fluorescent labels. *Appl Environ Microbiol*, 58(5): 1772-1775.

Cariolato, D., Andrighetto, C., Lombardi, A. (2008). Occurrence of virulence factors and antibiotic resistances in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* collected from dairy and human samples in North Italy. *Food Control*, 19(9): 886-892.

Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A., Nalepa, B., Laniewska-Trokenheim, L. (2012). Occurrence and antibiotic resistance of enterococci in ready-to-eat food of animal origin. *Afr J Microbiol Res*, 6(39): 6773-6780.

Choi, J-M., Woo, G-J. (2013). Molecular characterization of high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis* from chicken meat in Korea. *Int J Food Microbiol*, 165(1): 1-6.

Clinical and Laboratory Standards Institute, (CLSI 2016). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement M100-S26 CLSI, Wayne, PA.

Demirgöl, F., Tücer, Y. (2017). Detection of antibiotic resistance and resistance genes in enterococci isolated from sucuk, a traditional Turkish dry fermented sausage. *Korean J Food Sci An*, 37: 670-681.

Devriese, L.A., Pot, B. (1995). The genus *Enterococcus*. In: *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, Wood, B.J.B. & Holzapfel, W.H. (eds.), Blackie Academic & Professional, London, United Kingdom, 327-367.

Diarra, M.S., Rempel, H., Champagne, J., Masson, L., Pritchard, J., Edward, T. (2010). Distribution of antimicrobial resistance and virulence genes in *Enterococcus* spp. and characterization of isolates from broiler chickens. *Appl Environ Microbiol*, 76(24): 8033-8043.

Donabedian, S.M., Thal, L.A., Hershberger, E., Perri, M.B., Chow, J.W., Bartlett, P., Jones, R., Joyce, K., Rossiter, S., Gay, K., Johnson, J., Mackinson, C., Debess, E., Madden, J., Angulo, F., Zervos, M.J. (2003). Molecular characterization of gentamicin-resistant *enterococci* in the United States: evidence of spread from animals to humans through food. *J Clin Microbiol*, 41(3): 1109-1113.

Edwards, U., Rogall, T., Blocker, H., Emde, M., Bottger, E.C. (1989). Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucl Acids Res*, 17: 7843-7853.

El-Ghazawy, I.F., Okasha, H.A.S., Mazloum, S.M. (2016). A study of high level aminoglycoside resistant enterococci. *Afr J Microbiol Res*, 10(16): 572-577.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, (EUCAST 2018).

- Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 8.0, valid from 2018-01-01.
https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.0_Breakpoint_Tables.pdf
- Franz, C.M.A.P., Holzappel, W.H., Stiles, M.E. (1999). Enterococci at the crossroad of food safety. *Int J Food Microbiol*, 47(1-2): 1-24.
- Garrido, A.M., Galvez, A., Pulido, R.P. (2014). Antimicrobial resistance in enterococci. *J Infect Dis Ther*, 2: 150.
- Giraffa, G. (2002). Enterococci from food. *FEMS Microbiol Rev*, 26: 163-171.
- Hanchi, H., Mottawea W., Sebei K., Hammami R. (2018). The genus *Enterococcus*: between probiotic potential and safety concerns-an update. *Front Microbiol*, 9: 1791.
- Harada, T., Mito, Y., Otsuki, K., Murase, T. (2004). Resistance to gentamicin and vancomycin in enterococcal strains isolated from retail broiler chickens in Japan. *J Food Prot*, 67(10): 2292-2295.
- Hugas, M., Garigga, M., Aymerich, M.T. (2003). Functionality of enterococci in meat products. *Int J Food Microbiol*, 88(2-3): 223-233.
- Jackson, C.R., Fedorka-Cray, P.J., Barrett, J.B. (2004a). Use of the genus and species specific multiplex PCR for identification of enterococci. *J Clin Microbiol*, 42(8): 3558-3565.
- Jackson, C.R., Fedorka-Cray, P.J., Barrett, J.B., Ladely, S.D. (2004b). Genetic relatedness of high-level aminoglycoside-resistant enterococci isolated from poultry carcasses. *Avian Dis*, 48(1): 100-107.
- Jackson, C.R., Lombard, J.E., Dargatz, D.A., Fedorka-Cray, P.J. (2011). Prevalence, species distribution and antimicrobial resistance of enterococci isolated from US dairy cattle. *Lett Appl Microbiol*, 52(1): 41-48.
- Kasimoğlu-Doğru, A., Gencay, Y.E., Ayaz, N.D. (2010). Prevalence and antibiotic resistance profiles of *Enterococcus* species in chicken at slaughter level; absence of *vanA* and *vanB* genes in *E. faecalis* and *E. faecium*. *Res Vet Sci*, 89(2): 153-158.
- Klibi, N., Aouini, R., Borgo, F., Ben Said, L., Ferrario, C., Dziri, R., Boudabous, A., Torres, C., Ben Slama, K. (2015). Antibiotic resistance and virulence of faecal *enterococci* isolated from food-producing animals in Tunisia. *Ann Microbiol*, 65: 695-702.
- Kim, Y.-J., Park, J.-H., Seo, K.H. (2018). Comparison of the loads and antibiotic-resistance profiles of *Enterococcus* species from conventional and organic chicken carcasses in South Korea. *Poultry Science*, 97:271-278.
- Linden, P.K., Miller, C.B. (1999). Vancomycin-resistant enterococci: the clinical effect of a common nosocomial pathogen. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 33(2): 113-120.
- Manero, A., Blanch, A.R. (1999). Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. *Appl Environ Microbiol*, 65: 4425-4430.
- Mendiratta, D.K., Kaur, H., Deotale, V., Thamke, D.C., Narang, R., Narang, P. (2008). Status of high level aminoglycoside resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* in a rural hospital of central India. *Indian J Med Microbiol*, 26(4): 369-371.
- Morandi, S., Brasca, M., Andrighetto, C., Lombardi, A., Lodi, R. (2006). Technological and molecular characterisation of enterococci isolated from North–West Italian dairy products. *Int Dairy J*, 16: 867-875.
- Niu H., Yu H., Hu T., Tian G., Zhang L., Guo X., Hu H., Wang Z. (2016). The prevalence of aminoglycoside-modifying enzyme and virulence genes among enterococci with high-level aminoglycoside resistance in Inner Mongolia, China. *Braz J Microbiol*, 47: 691-696.
- Özdemir, R., Tuncer, Y. (2020). Detection of antibiotic resistance profiles and aminoglycoside-modifying enzyme (AME) genes in high-level aminoglycoside-resistant (HLAR) enterococci isolated from raw milk and traditional cheeses in Turkey. *Mol Biol Rep*, 47:1703-1712.
- Özden, Tuncer, B., Ay, Z., Tuncer, Y. (2013). Occurrence of enterocin genes, virulence factors,

- and antibiotic resistance 3 bacteriocin-producer *Enterococcus faecium* strains isolated from Turkish tulum cheese. *Turk J Biol*, 37: 443-449.
- Petsaris, O., Miszczak, F., Gicquel-Bruneau, M., Perrin-Guyomard, A., Humbert, F., Sanders, P., Leclercq, R. (2005). Combined antimicrobial resistance in *Enterococcus faecium* isolated from chickens. *Appl Environ Microbiol*, 71(5): 2796-2799.
- Ramirez, M., Tolmasky M. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat*, 13(6): 151-171.
- Russo, N., Caggia, C., Pino, A., Teresa, M.C., Arioli, S., Randazzo, C.L. (2018). *Enterococcus* spp. in Ragusano PDO and Pecorino Siciliano cheese types: A snapshot of their antibiotic resistance distribution. *Food Chem Toxicol*, 120: 277-286.
- Sahoo, T.K., Jena P.K., Nagar N., Patel A.K., Seshadri S. (2015). In vitro evaluation of probiotic properties of lactic acid bacteria from the gut of *Labeo rohita* and *Catla catla*. *Probiotics & Antimicro Prot*, 7: 126-136.
- Sanlibaba, P., Tezel B.U., Senturk E. (2018). Antimicrobial resistance of *Enterococcus* species isolated from chicken in Turkey. *Korean J Food Sci An*, 38(2): 391-402.
- Temiz, A. (1994). *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*. Şafak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, 266 s. ISBN:975-95834-0-2
- Yao, J.D.C., Moellering, R.C. (2007). Antibacterial agent, In: *Manual of Clinical Microbiology*, Murray, P.R. (chief ed), ASM, Washington DC, 1077-1113.
- Yogurtcu, N.N., Tuncer, Y. (2013). Antibiotic susceptibility patterns of *Enterococcus* strains isolated from Turkish tulum cheese. *Int J Dairy Technol*, 66: 236-242.
- Yoshimura, H., Ishimaru, M., Endoh, Y.S., Kojima, A. (2000). Antimicrobial susceptibilities of enterococci isolated from faeces of broiler and layer chickens. *Lett Appl Microbiol*, 31(6): 427-432.



INFLUENCE OF ULTRASONIC AND ELECTRICAL PRETREATMENTS ON THE DRYING AND QUALITY CHARACTERISTICS OF KIWİ FRUIT SLICES

Hamza Bozkır^{1*}, Ahsen Rayman Ergün²

¹Sakarya University of Applied Sciences, Food Processing Department, Vocational School of Pamukova, Sakarya, Turkey

²Food Engineering Department, Faculty of Engineering, Ege University, Izmir, Turkey

Received / Geliş: 02.02.2021; Accepted / Kabul: 05.05.2021; Published online / Online baskı: 21.05.2021

Bozkır, H., Rayman-Ergün, A. (2021). Influence of ultrasonic and electrical pretreatments on the drying and quality characteristics of kiwi fruit slices. *GIDA* (2021) 46 (4) 817-829 doi: 10.15237/gida.GD21025

Bozkır, H., Rayman-Ergün, A. (2021). Ultrasonik ve elektriksel ön işlemlerin kiwi dilimlerinin kuruma ve kalite özelliklerine etkisi. *GIDA* (2021) 46 (4) 817-829 doi: 10.15237/gida.GD21025

ABSTRACT

In this study, the drying characteristics and quality properties of electrical (ET) and ultrasound (US) pretreated kiwi fruit slices were investigated. Electrical and ultrasound pretreatments were carried out on the parameters of 100 V- 40 sec. and 35 kHz-30 min respectively. After the pretreatments, the kiwi fruit slices were dehydrated using a convective dryer at 50°C and 1.5 m/s air flow rate. The effects of these pretreatments on the drying rate and quality properties (the total phenolic content, vitamin C, pectin contents, rehydration rate, acidity, and color values) were evaluated. Consequently, the US and ET pretreatments provided an increase in the drying rate by 18.34% and 21.65% respectively. The combination of pretreatments (ET+US) increased the drying rate by 35.70%. The ET pretreatment produced minimum changes in the samples' pectin content and color values, and the US application increased the vitamin C, rehydration capacity, and acidity.

Keywords: Kiwi fruit, electrical, ultrasound, drying, and quality.

ULTRASONİK VE ELEKTRİKSEL ÖN İŞLEMLERİN KİVİ DİLİMLERİNİN KURUMA VE KALİTE ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

ÖZ

Bu çalışmada, elektriksel (ET) ve ultrases (US) ön işlemi görmüş kiwi dilimlerinin kuruma karakteristiği ve kalite özellikleri araştırılmıştır. Elektriksel ve ultrasonik ön işlemler sırasıyla, 100V-40 s ve 35 kHz frekansta 30 dak. parametreleriyle gerçekleştirilmiştir. Ön işlemlerden sonra kiwi dilimleri, 50 °C'de ve 1.5 m/s hava akış hızında bir konvektif kurutucu kullanılarak kurutulmuştur. Bu ön işlemlerin kuruma hızı ve kalite özelliklerine (toplam fenolik madde, C vitamini, pektin içerikleri, rehidrasyon hızı, asitlik ve renk değerleri) etkileri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, US ve ET ön işlemleri, kurutma hızında sırasıyla %18.34 ve %21.65 artış sağlamıştır. Ön işlemlerin kombinasyonu (ET + US) kuruma hızını %35.70 artırmıştır. ET ön işlemi, örneklerin pektin içeriği ve renk değerlerinde minimum değişiklik meydana getirirken, US uygulaması kiwi dilimlerinde C vitamini, rehidrasyon kapasitesi ve asitlik gibi kalite özelliklerini artırmıştır.

Anahtar kelimeler: Kivi, elektriksel, ultrases, kurutma, kalite

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ bozkirhamza@gmail.com,

☎ (+90) 264 616 0813

☎ (+90) 264 616 0014

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

Ahsen Rayman Ergün; ORCID no: 0000-0003-0943-1950

INTRODUCTION

Drying is one of the oldest method of food preservation and the most common technique used in the food industry. Conventional air-drying allows longer shelf life and smaller space for storage (Nowacka et al., 2012; Demiray et al., 2017; Bozkır et al., 2021). However, there is a large loss of thermal energy and a lengthy drying time throughout the falling rate period in convective drying (Wang and Xi, 2005). Moreover, conventional hot air drying also causes changes in the physical, chemical, and nutritional properties of food such as undesired food flavor, color decomposition, tough texture, severe browning, low rehydration rate, vitamin degradation, and loss of essential amino acids (Deng and Zhao, 2008; Ricce et al., 2016).

In recent years, some pre-treatment operations have been performed to enhance the drying rate, to decrease the initial water content, or to change the fruit tissue structure (Fernandes and Rodrigues, 2007). These pre-treatments include blanching, vacuum, electric pulses, electrical applications, and power ultrasound (Jambrak et al., 2007; Fernandes et al., 2008a; Deng and Zhao, 2008; Barba et al., 2015; Çakmak et al., 2016).

Electrical pre-treatment application improves the cell membrane permeability of fruit tissues and increases the coefficients of mass transfer (Bazhal, et al., 2003). Electrical pre-treatment enables water to transition faster from the cell to the fruit surface decreasing the time of drying. The electrical application as a pre-treatment was applied previously for the drying of carrots and mushrooms (Baysal et al., 2012; İçier et al., 2013; Çakmak et al., 2016). Ultrasonic pretreatment is used for decreasing the moisture content or altering the fruit and vegetable tissue microstructure so that drying becomes faster (Azoubel et al., 2010). It was reported that ultrasound pretreatment improves the processes or products chemically, mechanically, and physically (Fernandes et al., 2011). The ultrasonic pretreatment could be applied by immersing of the fruit in water or in a hypertonic aqueous solution (Azoubel et al., 2010). Ultrasound as a pre-treatment was applied for dehydration of

pineapple (Fernandes et al., 2008a), genipap, banana, jambo, melon, pineapple, papaya (Fernandes and Rodrigues, 2008), banana (Azoubel et al., 2010), strawberry (Gamboa-Santos et al., 2014), garlic (Bozkır et al., 2019), and carrot (Santacatalina et al., 2012). However, ultrasound pre-treatment has been investigated for fruit and vegetable drying, to the best of the authors' knowledge, no studies have been available about applying electrical and ultrasound pretreatments prior to the drying of kiwi fruit.

Literature studies with kiwi fruit (*Actinidia chinensis*) stated that the stableness of kiwi fruit, which has a short-life, is lost during storage because of softening and vitamin loss (Femenia et al., 2009). In addition, drying of this fruit leads to a reduction in precious bioactive ingredients (vitamins, antioxidants, phenolic compounds, and flavor compounds) and sensory properties (color and flavor) (Simal et al., 2005; Kaya et al., 2008; Darıcı and Şen, 2011). Consequently, in this study, the aims were to evaluate the influences of electrical and ultrasound applications on the conventional air drying of kiwi fruits in terms of drying rates and quality properties.

MATERIALS AND METHODS

Material

Hayward (*Actinidia deliciosa*) type kiwi fruits were supplied from the markets in Izmir, Turkey. The kiwi fruits were kept at +4°C and 80-90% relative humidity until processing.

Method

Drying procedure

Electrical pretreatment

The electrical pretreatment (ET) was performed using a drum type electropulsation sketched out with the cooperation of Çermak Machine (Manisa-Turkey). ET possess two drums with stainless steel pins and voltage part, which delivers alternative electric current to the system. The distance between pins was 2.4 cm, distance between the drums was 5 cm, and the cycling speed of cylinders was 25 s per 1 cycle (Baysal et al., 2007). The ET was carried out at the conditions of 20 V-90 s, 40 V-60 s, and 100 V-40 s. After performing the experiments 100V-40 s

was chosen due to ensuring the shortest drying time. The ET pretreatment was performed to whole the kiwi fruits (30°C), and then the kiwi fruits were washed, peeled and sliced to a

thickness of 6 mm (Çakmak et al., 2016). The production scheme for dried fruit is shown in Fig. 1.

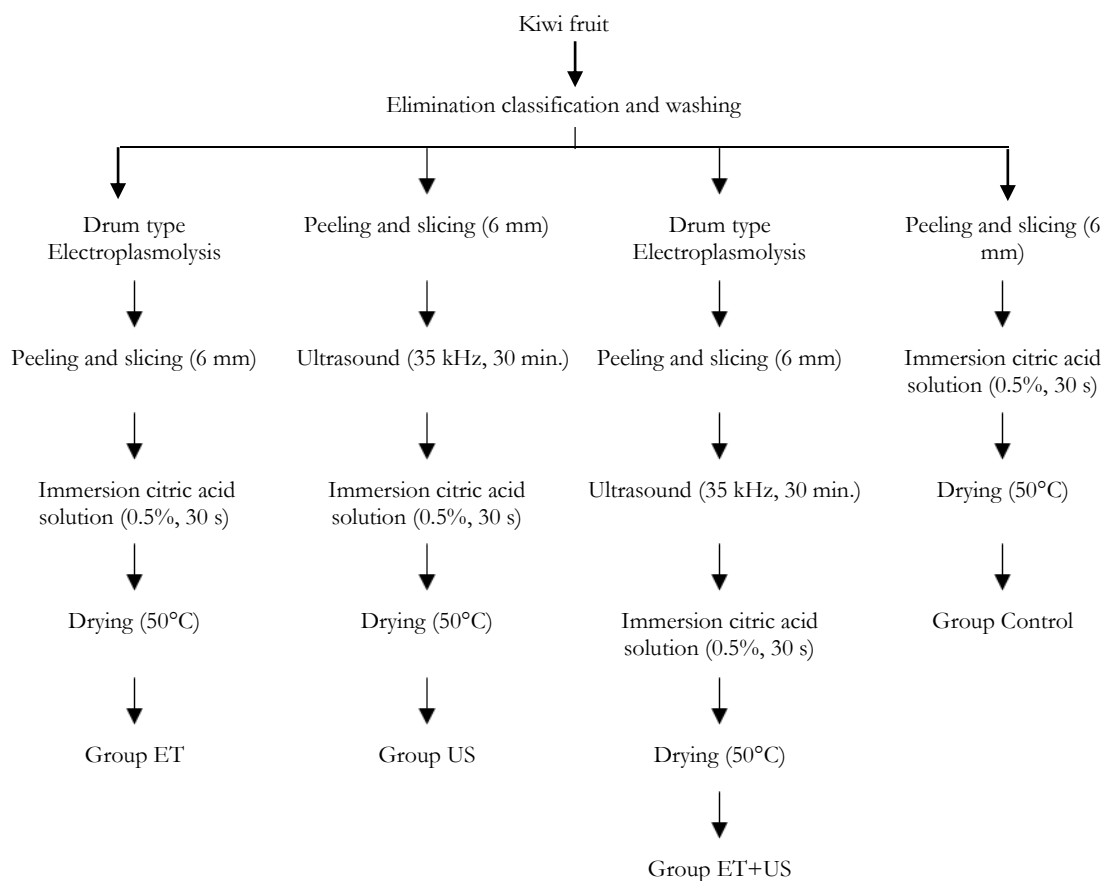


Figure 1. Dried kiwi fruit slices production scheme

*ET: Electrical pre-treatment, US:Ultrasound pre-treatment, and ET+US:Electrical and ultrasound pre-treatment

Ultrasound pretreatment

The kiwi fruits were washed and peeled. The kiwi fruit samples were sliced to a 6 mm thickness. Then, the kiwi fruit to water was set to 1:4 (w/w) (Sonorex Super Ultrasonic Bath-RK-106, 100% power: 480 W, 35 kHz and 30°C). The ultrasound pretreatment was performed for 10, 20, and 30 min at 30°C (Çakmak et al., 2016). The ultrasound 30 min application was decided, and it provided the shortest drying time.

Convective drying

Before convective drying, a sliced 6 mm sample was immersed into a citric acid solution (0.5%) for

30 s to reduce the degradation of color. The kiwi fruit slices placed uniformly on a perforated aluminum tray (18x27cm) were dried in the tray dryer (Model UOP8, Armfield Limited, England). The operating conditions of the dryer were adjusted as 50°C and 1.5 m s⁻¹ air velocity. In the drying process, the weights of kiwi fruit slices were weighed with digital scales (RADWAG WTC 2000, Radom, Poland) at each 5 min until moisture content of below 10%. The initial moisture content of samples were identified as 81±0.01 g/100 g (wet basis) using an MOC-63U Shimadzu infrared moisture detector (AOAC, 1990).

Drying rate

To collect data the drying process, the weight of the dry matter (d.m.) of kiwi fruits was detected (W_s), and the weight of the wet solid (W) was defined at different times (t):

$$X_t = \frac{W - W_s}{W_s} \text{ (kg H}_2\text{O/kg d.m.)} \quad (1)$$

X : free moisture content (kg H₂O/kg d.m.) was computed for every value of X_t for the constant drying and X_e : equilibrium moisture content (kg H₂O/kg d.m.) was determined.

$$X = X_t - X_e \quad (2)$$

The drying rate of kiwi fruit slices (R) was calculated using equation (3),

$$R = - \left(\frac{W_s}{A} \right) * \left(\frac{dx}{dt} \right) \quad (3)$$

where A is the surface field of drying process (m²) (Çakmak et al., 2016).

The moisture ratio of kiwi fruit slices (MR) was computed using equation 4.

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_i - M_e} \quad (4)$$

where M_t is the moisture content at any time, M_i is the initial moisture content, and M_e is the equilibrium moisture content (kg H₂O/kg d.m.). The effective moisture diffusivity (D_{eff}) of the samples was computed using Fick's laws diffusion (Eq. 5).

$$MR = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{(2n-1)^2} \exp \left[- (2n-1)^2 \pi^2 \frac{D_{eff} t}{4L^2} \right] \quad (5)$$

where D_{eff} is the effective moisture diffusivity (m²/s), t is the time (s), and L is the thickness of kiwi fruit slices. The only first term of equation (6) was taken into to account, because of long drying time; it was presented in a logarithmic form.

$$\ln(MR) = \ln \left(\frac{8}{\pi^2} \right) - \left(\pi^2 \frac{D_{eff}}{4L^2} t \right) \quad (6)$$

The effective diffusion coefficients of samples (slope) was computed by plotting $\ln(MR)$ versus drying time using equation (7) (Demiray et al., 2017; Tekgül and Çalışkan Koç, 2020).

$$slope = \pi^2 \frac{D_{eff}}{4L^2} \quad (7)$$

Methods of Analyses

The quality characteristics were investigated using physical and chemical analyses. Samples were analyzed to determine the following:

The moisture content was determined using 5 g sliced kiwi fruit samples and analyzing them with an infrared moisture detector at 105°C, 1 h (Shimadzu MOC-63U). The total acidity was measured using the potentiometric titration of the acidity by placing 10 g of a sample into 90 mL of deionized water. After filtration, the 10 g filtrate was taken to titration, with a solution of 0.1 N NaOH (Merck, Darmstadt, Germany) up to a pH 8.1. The result is given as g /100 g dry matter (d.m.) when referencing the citric acid (AOAC, 1995). The pH values were identified with a pH-meter (WTW InoLab, Weilheim, Germany) (AOAC, 1995). The water activity of samples was detected using the water activity detector Testo AG 400 (Germany). The total phenolic content of samples was determined using the method of Folin-Ciocalteu (Franke et al., 2004). The amount of total phenolic content in the samples expressed as milligrams of gallic acid (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis) equivalents (GAE) per gram of dry basis. The ascorbic acid content of samples was determined with the spectrophotometric (Varian Cary 50 Scan spectrophotometer) method (Hişıl 2004). For standart curve the oxalic acid (Merck) solution (4%), a dye solution (2,6-dichloroindophenol) and ascorbic acid (Riedel de Haen, Hannover, Germany) solution using a series of different concentrations were prepared and the absorbance at a wavelength of 518 nm against a standard showing the concentration of vitamin C curve was obtained 10 g sample and 90 mL of stabilizer solution was mixed and then filtered with filter paper (Whatman No.1). Two separate test tubes containing 1 mL of sample and 9 mL of distilled water which is blank and 1 mL of sample and 9 mL of dye solution were prepared. The concentration was determined from the standard curve versus the absorbance value by multiplying by 10 for calculating the amount of ascorbic acid in the 100 g sample and expressed as mg/100 g d.m.

The rehydration capacity of dried kiwi fruit samples was determined in accordance with Cui et al. (2008) and Çakmak et al. (2016). The rehydration ratio was computed using equation 8.

$$\text{Rehydration ratio} = \frac{\text{Weight rehydrated sample (g)}}{\text{Weight dry sample (g)}} \quad (8)$$

Bulk density of samples was computed using equation (9) and the volume of 2 g dried sample measured using a graduated cylinder (Goula and Adamopoulos, 2005).

$$\rho_{\text{bulk}} = \frac{m}{V} \text{ (g/ml)} \quad (9)$$

Pectin content was investigated according to Anon (1968). The method is based on the extraction of pectin with ethanol after centrifugation; the precipitated part was treated with NaOH and completed to 100 mL with deionized water. After filtration, samples were prepared with carbazol and ethanol. Six milliliters of sulfuric acid were added to both samples then they were placed in a water bath for 5 min. Then absorbance values were taken at 525 nm with Varian Cary 50 Scan (Australia) spectrophotometre and pectin contents were

calculated with the calibration curve, which was made by using galactronic acid anhydrate standards. Results were expressed as mg galactronic acid anhydrate (GA-AH)/100 g dry matter. The Color values (L^* , a^* , and b^*) of samples were detected with a Hunter Lab Color CX1633 (Flex, Management Company).

Statistical analysis

Statistical analysis was analyzed using SPSS 20 (SPSS Inc., USA). The one-way analysis of variance (ANOVA) and Duncan's multiple range test ($P < 0.05$) was performed to determine the difference between the pretreatment groups. The drying experiments were repeated three times, and all measurements were triplicated.

RESULTS AND DISCUSSION

Effects of pretreatments on the drying characteristics

The dimensionless moisture content (MR) versus drying time was shown in Fig. 2. The MR of the samples reduced exponentially with drying time. The results agreed with the previous studies about varied materials when dried (Gogus and Maskan, 2001; Kadi and Hamlat, 2002).

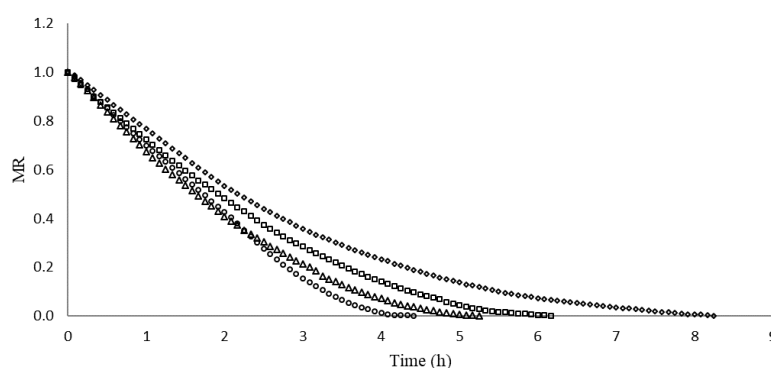


Figure 2. The dimensionless moisture content in the untreated and the pretreated kiwi slices during drying (◇Control, □ET, △US, ○ET+US).

*ET: Electrical pre-treatment, US:Ultrasound pre-treatment, and ET+US:Electrical and ultrasound pre-treatment

In figure 3 the changes in the moisture contents of samples due to time were given. The kiwi fruit slices' moisture contents were about 4.26 kg H₂O/kg d.m. for the control and ET and 4.66 kg

H₂O/kg d.m. for US and US+ET groups, respectively. The ultrasound pre-treatment increased the initial moisture content of samples in the US and US+ET groups. Similarly, the

ultrasound pretreated apple slices at a frequency of 35 kHz for 30 min increased the moisture content from 5.6 H₂O/kg d.m. to 7.5 H₂O/kg d.m. (Fijalkowska et al., 2016). Moreover, it was reported that the ultrasound-pretreated banana prior to drying created an increasing the moisture content (Fernandes and Rodrigues, 2007; Azoubel et al., 2010). The ultrasound pretreatment created a rapid compression and expansion of the food cells. This phenomenon is called the sponge effect (Mulet et al., 2003; Miano et al., 2016; Ricce et al., 2016). The US and ET pre-treatments decreased the drying time compared to the control samples. The time was 8.25 h in the control group but in the ET pretreated samples 6.17 hours was sufficient for drying. Decrease of the drying time after electrical pre-treatment was explained due to the electroporation and thermal breakdown of the membranes (Wang and Sastry, 2002). In the US group this time falls to 5.25 hours, whereas, in the

group of combined pretreatments the samples dried within 4.42 hours. The ultrasound pretreatment reduced the drying time compared to the control. Similar results were reported that ultrasound decreased the drying time of pineapples by over 1 hour of air-drying time (Fernandes et al., 2008a). It was reported that mass transfer was affected with the break down the cell organelles before causing in the cell wall disruption (Rojas et al., 2016).

Similar results were found in accordance with former researches it was detected ultrasound pretreatment reduced the drying time 5 - 40% for banana (Fernandes and Rodrigues, 2007; Azoubel et al., 2010), 36% for pineapple (Fernandes et al., 2008a), 28% for melon (Fernandes et al., 2008b), 16% for papaya (Fernandes et al. 2008c), and 17% for apple (Fijalkowska et al., 2016).

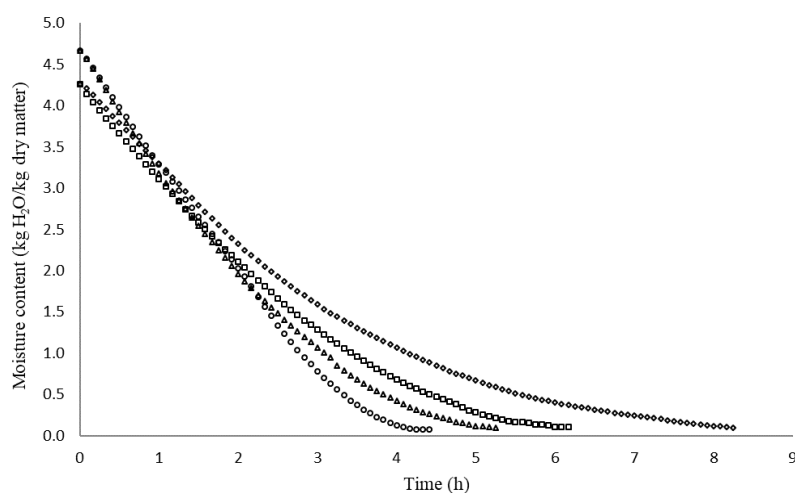


Figure 3. Drying curves for the sliced kiwi fruit (\diamond Control, \square ET, Δ US, \circ ET+US).

*ET: Electrical pre-treatment, US:Ultrasound pre-treatment, and ET+US:Electrical and ultrasound pre-treatment

In figure 4 the drying rates changing with the moisture content were given. The constant rate period did not exist so drying occurred at a falling rate period. The drying rate of samples reduced as the moisture content declined. Similar to this study, the drying kinetics exhibited only a falling rate period in the research of Simal et al. (2005). The drying rates were found as 0.713 kg H₂O/h.m² in the control group; 0.844 kg

H₂O/h.m² in the ET group, 0.867 kg H₂O/h.m² in the US and 0.968 kg H₂O/h.m² in the combined group. The drying rate increased in the ET, US, US+ET groups to 18.34, 21.65, and 35.70%, respectively, compared to the control group. Similar to these results, It was determined that the drying rate of the electrical and ultrasound pretreated mushroom slices increased about 37.10% compared to untreated group

(Çakmak et al., 2016). The drying rate of the ultrasound pretreated apple cubes (30 min) resulted in a higher value (0.052 kg/kg d.b. min) than the group with untreated group (0.042 kg/kg d.b. min) (Nowacka et al., 2012). Similarly, the increase of the drying rate for the ultrasound pretreatment samples was observed in carrot slices, apples and, scallop (Ricce et al., 2016; Magalhães et al., 2017; Bai et al., 2017). It was found that high-intensity ultrasound increased the drying rate of persimmon at the lowest air velocities (0.5, 1, 2, and 4 m/s) (Cárcel et al., 2007). The ultrasound

was effective on heat sensitive fruits, such as strawberry, for improving the drying rate (García-Noguera et al., 2010; Gamboa-Santos et al., 2014). In addition, for the other types of drying applications, sonication was also preferred because the ultrasonic treatment enhanced the dehydration rate and reduced the time required for the microwave freeze drying of sea cucumbers (Duan et al., 2008) and the ultrasonic application during atmospheric freeze drying of carrot provided a decrease of drying time by 60% (Santacatalina et al., 2012).

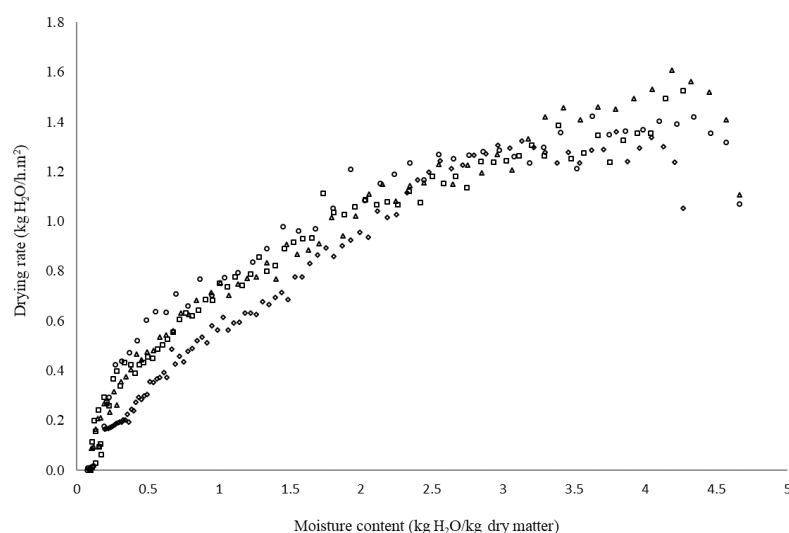


Figure 4. Drying rate versus the moisture content for sliced kiwi fruit (\diamond Control, \square ET, Δ US, \circ ET+US).

*ET: Electrical pre-treatment, US: Ultrasound pre-treatment, and ET+US:Electrical and ultrasound pre-treatment

The moisture transfer during the drying of kiwi fruit slices were computed using Fick's laws diffusion model. The effective moisture diffusivity (D_{eff}) of the samples were found to be as 6.085, 7.303, 9.128, and, $10.954 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ for the control, ET, US, and ET+US respectively. It was reported that the effective moisture diffusivity of hot air-dried kiwi fruit slices (30 – 90°C) varied between 3.00 and $17.21 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (Simal et al., 2005). Nowacka et al. (2012) reported that the effective moisture diffusivity of ultrasound pretreated apple cubes (30 min) prior to hot air drying (70°C, 1.5 m/s) raised ($2.168 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) when compared to untreated group

($1.829 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$). Similarly, Fijalkowska et al. (2016) reported that the effective diffusivity coefficient of ultrasound pretreated apple slices prior to hot air-drying (70°C, 2 m/s) resulted in a higher value than the untreated sample. In another study, the effective moisture diffusivity of the kiwi fruit slices in drying after the application of the ultrasound pretreatment increased parallel with the treatment time when the thickness was 6 mm. They also emphasized that the thickness of 6 mm was more effective than the thickness of 8 mm. It was stated that increases in the value of diffusivity had a great significance during the drying stage (Toosi et al., 2011). Kek et al. (2013)

who studied the osmotic dehydration of guava slices via indirect sonication using an ultrasonic bath system and direct sonication using an ultrasonic probe system found that applying ultrasound pre-osmotic treatment in 70°Brix before the hot air drying, decreased the drying time by 33%, and increased the effective diffusivity by 35%.

Effects of pretreatments on the quality parameters

The final moisture content was below 10 g water/100 g dry matter. There were no significant difference among the moisture contents of the pretreated groups ($p>0.05$). However, the moisture content of the control groups were significantly different from the ET and the US ($P<0.05$). The acidity was found highest in the US group and lowest in the combination group. It could be said that ultrasound pretreated was more effective for cell degradation than ET in terms of releasing the compounds, but after the drying process the acidic compounds diminished. The

difference between the pretreated and control groups were statistically significant ($P< 0.05$) as shown in the Table 1. After the drying process total acidity of sample reduced so, the pH values increased. In the control group this value was 3.48, in US+ET group the value was found as 3.63. Castaldo et al. (1992) found that the pH values of kiwi puree samples changes between 3.11 - 3.47. Femenia et al. (2009) found the pH values of kiwi fruit between 4.0 ± 0.3 - 5.3 ± 0.5 for unripe, half-ripe, and ripe fruits.

The water activities of the samples were also shown in the Table 1. In the US pretreated group, the water activity was found higher than the other groups. This was because of the high moisture content of this group. The difference between the pretreated and untreated samples was found statistically significant ($P<0.05$). Kek et al. (2013) identified the water activity of hot-air dried guava as 0.48 whereas the sonicated samples had higher values (0.53 – 0.61).

Table 1. Some quality characteristics of dried kiwi slices

Samples	Moisture content (g water/100g d.m.)	Titration acidity (g/100g d.m.)	pH	Water activity	Total phenolic contents (mg/g d.m.)	Vitamin C (mg/100g d.m.)	Rehydration rate	Bulk density (g/ml)	Pectin content (mg G/A-AH/100g d.m.)
Control	7.210±0.11 ^b	3.527±0.012 ^b	3.485±0.005 ^c	0.496±0.001 ^d	4.888±0.037 ^a	41.417±0.211 ^b	3.098±0.003 ^d	0.414±0.001 ^a	8.104±0.134 ^d
ET	7.715±0.365 ^a	3.246±0.013 ^c	3.597±0.006 ^b	0.528±0.001 ^b	4.576±0.055 ^c	47.647±1.165 ^a	3.190±0.001 ^c	0.281±0.017 ^c	9.535±.355 ^c
US	7.775±0.215 ^a	3.717±0.101 ^a	3.445±0.005 ^d	0.543±0.001 ^a	4.700±0.063 ^b	48.992±1.145 ^a	3.452±0.001 ^b	0.305±0.005 ^b	10.851±0.153 ^b
ET+US	7.405±0.195 ^{ab}	3.154±0.026 ^d	3.635±0.005 ^a	0.502±0.003 ^c	4.468±0.060 ^d	30.154±0.829 ^c	3.490±0.002 ^a	0.243±0.013 ^d	13.699±0.170 ^a

Different letters (^a to ^d) within columns represent significant difference at the level of $P<0.05$.

*ET: Electrical pre-treatment, US:Ultrasound pre-treatment, and ET+US:Electrical and ultrasound pre-treatment

The effect of the applications on the total phenolic contents of the ET, US and, ET+US groups were detected statistically significant ($P<0.05$). The US pretreated samples had the higher total phenolic content than ET and ET+US groups. Park et al. (2014) found the total polyphenols of Hayward type kiwi fruit as $4.48 \pm$

0.44 (mg GAE/g). For the kiwi fruit, the phenolics were found as 5.62 ± 0.65 mg GAE/g d.m., and the flavonoids were found as 1.68 ± 0.1 mg catechin equivalent/g d.m. (Gorinstein et al., 2009). Due to these phenolic compounds in different cultivars the antioxidant contents of the kiwi fruits were found between 1.61 ± 0.15 to 42.1

4 ± 4.32 mg GAE/g d.m. (Park et al., 2014). It was noticed that the total phenolic content of the dried kiwi fruit slices using hot air (40 – 60°C) between 500 and 958.70 mg gallic acid/100g d.m. (Chin et al., 2015). Similarly, to these results Opalic et al. (2009) reported that the ultrasound pre-treatment of dried apple causes a decrease in the total phenol content. The loss in the phenolics and anthocyanins was explained with the cell rupture surface after cavitation in the ultrasound treatments (Stojanovic and Silva, 2007). In contrast to this study, the total phenolics content of hot air dried apple slices decreased with temperature, but at high air velocity, the retardation of thermal degradation occurred (Vega-Gálvez et al., 2012).

In Table 1, the vitamin C contents of kiwi fruit slices were given as mg/100g d.m. The vitamin C content of US pretreatment group was raised by 18% in comparison with untreated group. However, in the combined ET+US group the vitamin C loss was found as 17.5%. The difference was statistically significant in all groups compared to the untreated groups ($P < 0.05$). However, the difference between the US and ET groups were not statistically significant ($p > 0.05$). Indeed, ascorbic acid which is known as being sensitive to heat, light, and processes, the loss was an expected result, but, the pretreatments minimized the losses. In contrast to this study, decreases in the L-ascorbic acid after sonication were determined in a previous study (Lee et al., 2005). Kaya et al. (2010) determined that the vitamin C of dried kiwi slices using hot air (35, 45, 55, and 65°C and velocities at 0.3, 0.6 and 0.9 m s⁻¹) ranged between 27.47 and 117.65 vitamin C mg/100 g of kiwi fruit. Çalışkan et al. (2015) reported that the vitamin C of freeze dried kiwi fruit was found as 40.95 - 54.97 mg/100 g.

The rehydration capacity was effective on the continuity, and sensory quality (Erbay et al., 2009). In Table 1, the rehydration capacities were given for the samples. The ET+US group was found as the group that had the higher capacity. This showed that, electrical and ultrasound assisted drying produced only minimal damage to the product. The rehydration capacity was found

higher in the US assisted atmospheric freeze drying than atmospheric freeze drying of carrot (Santacatalina et al., 2012). The rehydration ratio changed with air velocity and temperature indicating tissue damage due to applications in the apple slices (Vega-Gálvez et al., 2012). The maximum bulk density was determined in the control group and the minimum in the combination group. It was determined that there was a significant difference among the bulk densities of all the samples ($P < 0.05$).

In all the pretreated samples when compared to the control group due to the cell degradation the total pectin contents increased and it was found statistically significant ($P < 0.05$). Femenia et al. (2009) investigated the pectin contents of air dried kiwi fruits at different ripening stages. They mentioned that the degree of methylesterification of pectin changes with ripening and methylated pectin was more resistant to degradation and solubilization because of the heat effect.

L*, a*, and b* values samples were measured and shown in the Table 2. It was found that the maximum and minimum lightness values were the ET and ET+US groups respectively. The difference was not statistically significant in the US when compared to the untreated group ($p > 0.05$). Similar results were found in previous studies such as the ultrasound pretreatment applied green peas and potatoes had no effect on the color of plant tissue compared to the control samples (Bantle and Eikevik, 2011; Schössler et al., 2012). It was found that the difference between a* value of all groups was determined statistically significant ($P < 0.05$). Similarly, Fijalkowska et al. (2016) reported that the a* value of the ultrasound pretreated apple slices before hot air-drying increased more than that of the untreated sample group. It has been determined that the b* values decreased after pre-treatments. The changes in the b* values were found significant ($P < 0.05$). Kek et al. (2013) who studied the hot air drying of guava slices found that the ultrasound pre-osmotic treatment decreased the total color change by 38%. They also indicated that ultrasound before air drying

caused a decrease in the a^* , and increase in the b^* values. Vega-Gálvez et al. (2012) indicated that the color difference showed the best results at 80°C for the drying of apples. In parallel with our results, the values of the browning index showed that hot air drying caused more brown compounds in the kiwi fruit (Mohammadi et al., 2008). After air the drying of kiwi fruit, the L^* and

b^* reduced, and the a^* value increased during drying (Maskan, 2001). It was previously explained by Pingret et al. (2013) that ultrasound causes color changes due to the degradation of pigments and browning reactions in the fruits and fruit products.

Table 2. Color properties of dried kiwifruit samples

Samples	L^*	a^*	b^*
CONTROL	44.94±0.04 ^b	-9.24±0.02 ^a	31.835±0.09 ^a
ET	47.51±0.08 ^a	-6.95±0.02 ^d	24.96±0.03 ^c
US	46.24±0.12 ^{ab}	-7.87±0.03 ^c	28.44±0.01 ^b
ET+US	38.12±1.53 ^c	-8.83±0.05 ^b	23.34±0.07 ^d

Different letters (^a to ^d) within columns represent significant difference at the level of $P < 0.05$.

*ET: Electrical pre-treatment, US:Ultrasound pre-treatment, and ET+US:Electrical and ultrasound pre-treatment

CONCLUSION

The drying rate increased by 18.34, 21.65, and 35.70% with the applications of ET, US, and a combination of them, respectively, when compared to the control samples. While the mass transfer and diffusivity increased, the drying time of the kiwi slices decreased due to cell degradation. It was found that the ultrasound pretreatments protected the quality characteristics of the samples such as total phenolic content, rehydration capacity, and acidity better than the other applications. Losses in the a^* values of the kiwi samples were due to the oxidation and browning reactions and were found to be minimized in the ET pretreated samples. The bulk density values were found lower in the pretreated groups compared to the control samples due to the shrinkage after quick drying. The results show that ET, US, and also the combination of them improves the drying quality and also the chemical and physical properties of kiwi fruit slices. In further studies, this subject could be evaluated for the sensory quality of the fruits and vegetables.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTION

Hamza Bozkir: Conceptualization, data curation, investigation, methodology, supervision, writing - review & editing, formal analysis. Ahsen Rayman

Ergün: Conceptualization, data curation, investigation, methodology, writing - review & editing, formal analysis.

REFERENCES

- ANON, (1968). IFJU, Methods of analyses. Method-26. International federation of fruit juice producers. 10, Rue De Liege, Paris, France.
- AOAC, (1990). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (15th ed.) Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists
- AOAC, (1995) Official methods of analysis of AOAC international (16th ed.). Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemist
- Azoubel, P.M., Baima, M.D.A.M., Amorim, M.D.R., Oliveira, S.S.B. (2010). Effect of ultrasound on banana CV pacovan drying kinetics. *J Food Eng*, 97(2), 194-198.
- Bantle M, Eikevik TM, (2011) Parametric study of high-intensity ultrasound in the atmospheric freeze drying of peas. *Drying Technol*, 29, 1230-1239.
- Barba, F.J., Parniakov, O., Pereira, S.A., Wiktor, A., Grimi, N., Boussetta, N., Vorobiev, E. (2015). Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. *Food Res Int*, 77(4), 773-798.

- Baysal, T., Icier, F., Yıldız, H., Demirdöven, A. (2007). Effects of electropulsation applications on yield and quality in pomegranate and cherry juice production. Ege University, Scientific Research Project-07 BIL 027, Turkey
- Baysal, T., Rayman, A., Bozkır, H. (2012). Investigation of the effects of electropulsation application on drying. *Proceedings of the International conference on Bio and Food Electrotechnologies (BFE)*, Salerno, ITALY, 58.
- Bazhal, M.I., Ngadi, M.O., Raghavan, V.G.S. (2003). Influence of pulsed electropulsation on the porous structure of apple tissue. *Biosyst Eng*, 86, 51-57.
- Bozkır H, Tekgöl Y, Erten ES. (2021). Effects of tray drying, vacuum infrared drying, and vacuum microwave drying techniques on quality characteristics and aroma profile of orange peels. *J Food Process Eng*, 2021;44:e13611.
- Bozkır, H., Rayman Ergün, A., Tekgöl, Y. (2019). Ultrasound as pretreatment for drying garlic slices in microwave and convective dryer. *Food Sci Biotechnol*, 28, 347–354.
- Çakmak, R.Ş., Tekeoğlu, O., Bozkır, H., Ergün, A.R., Baysal, T. (2016). Effects of electrical and sonication pretreatments on the drying rate and quality of mushrooms. *LWT-Food Sci Technol*, 69, 197-202.
- Çalışkan, G., Ergun, K., Dirim, S.N. (2015). Freeze drying of kiwi (*Actinidia deliciosa*) puree and the powder properties. *Ital J Food Sci*, 27(3), 385-396.
- Cárcel, J.A., García-Pérez, J.V., Riera, E., Mulet, A. (2007). Influence of high-intensity ultrasound on drying kinetics of persimmon. *Drying Technol*, 25:1, 185-193.
- Castaldo, D., Lo, Voi, A., Trifiro, A., Gherardi, S. (1992). Composition of Italian kiwi (*Actinidia chinensis*) puree. *J Agric Food Chem*, 40, 594-598.
- Chin, S.K., Siew, E.S., Soon, W.L. (2015). Drying characteristics and quality evaluation of kiwi slices under hot air natural convective drying method. *Int Food Res J*, 22(6), 2188-2195.
- Cui, Z.W., Li, C.Y., Song, C.F., Song, Y. (2008). Combined microwave vacuum and freeze drying of carrot and apple chips. *Drying Technol*, 26:12, 1517-523.
- Darıcı, S., Şen, S. (2011). Investigating the effect of air flow rate on the drying rate of kiwi fruit. X. Congress of National Installation, Izmir- Turkey.
- Demiray, E., Seker, A., Tülek, Y. (2017). Drying kinetics of onion (*Allium cepa* L.) slices with convective and microwave drying. *Heat Mass Transf*, 53, 1817-1827
- Deng Y, Zhao Y, (2008). Effect of pulsed vacuum and ultrasound osmopretreatments on glass transition temperature, texture, microstructure and calcium penetration of dried apples (Fuji). *LWT-Food Sci Technol*, 41, 1575-1585.
- Duan, X., Zhang, M., Li, X., Mujumdar, A.S. (2008). Ultrasonically enhanced osmotic pretreatment of sea cucumber prior to microwave freeze drying. *Drying Technol*, 26:4, 420-426.
- Erbay, B., Kıvrak, E., Orhan, H., Küçüköner, E. (2009). Effect of different antioxidant solutions on the color, rehydration properties and some sensory properties of freeze dried carrot slices. *SDU J Nat Appl Sci*, 13:3, 229-236.
- Femenia, A., Sastre-Serrano, G., Simal, S., Garau, M.C., Eim, V.S., Rossello, C. (2009). Effects of air-drying temperature on the cell walls of kiwifruit processed at different stages of ripening. *LWT-Food Sci Technol*, 42, 106-112.
- Fernandes, F.A.N., Gallao, M.I., Rodrigues, S. (2008b). Effect of osmotic dehydration and ultrasound pre-treatment on cell structure: Melon dehydration. *LWT-Food Sci Technol*, 41, 604–610.
- Fernandes, F.A.N., Linhares, J.F.E., Rodrigues, S. (2008a). Ultrasound as pre-treatment for drying of pineapple. *Ultrason Sonochem*, 15:6, 1049-1054.
- Fernandes, F.A.N., Oliveira, F.I.P., Rodrigues, S. (2008c). Use of ultrasound for dehydration of papayas. *Food Bioproc Tech*, 1, 339-345.
- Fernandes, F.A.N., Rodrigues, S. (2007). Ultrasound as pre-treatment for drying of fruits: Dehydration of banana. *J Food Eng*, 82, 261-267.

- Fernandes, F.A.N., Rodrigues, S. (2008). Application of ultrasound and ultrasound-assisted osmotic dehydration in drying of fruits. *Drying Technol*, 26:12, 1509-1516.
- Fernandes, F.A.N., Rodrigues, S., Law, C.L., Mujumdar, A.S. (2011). Drying of exotic tropical fruits: A comprehensive review. *Food Bioproc Tech*, 4:2, 163-185.
- Fijalkowska, A., Nowacka, M., Wiktor, A., Sledz, M., Witrowa-Rajchert, D. (2016). Ultrasound as a pretreatment method to improve drying kinetics and sensory properties of dried apple. *J Food Process Eng*, 39, 256-265.
- Franke, S.I.R., Chless, K., Silvera, J.D., Robensam, G. (2004) Study of antioksidant and mutajenic activity of different orange juice. *Food Chem*, 88, 45-55.
- Gamboa-Santos, J., Montilla, A., Cárcel, J.A., Villamiel, M., Garcia-Perez, J.V. (2014) Air-borne ultrasound application in the convective drying of strawberry. *J Food Eng*, 128, 132-139.
- Garcia-Noguera, J., Oliveira, F.I.P., Gallão, M.I., Weller, C.L., Rodrigues, S., Fernandes, F.A.N. (2010). Ultrasound-assisted osmotic dehydration of strawberries: effect of pretreatment time and ultrasonic frequency. *Drying Technol*, 28, 294-303.
- Gogus, F., Maskan, M. (2001). Drying of olive pomace by a combined microwave-fan assisted convection oven. *Nahrung/Food*, 45, 129-132.
- Gorinstein, S., Haruenkit, R., Poovarodom, S., Park, Y.S., Vearasilp, S., Suhaj, M., Hamg, K.S., Heo, B.G., Cho, J.Y., Jang, H.G. (2009). The comparative characteristics of snake and kiwi fruits. *Food Chem Toxicol*, 47, 1884-1891.
- Goula, A.M., Adamopoulos, K.G. (2005). Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. The effect on powder properties. *J Food Eng*, 66, 35-42.
- Hışıl, Y. (2004) Instrumental Food Analysis and Laboratory Experiments. Ege University Engineering Faculty Books, 45, İzmir-Turkey
- İçier, F., Yıldız, H., Eroğlu, S., Sabancı, S., Eroğlu, E. (2013). Effect of electrical and ultrasonic pre-treatments during osmotic dehydration of quince slices. *Academic Food J*, 11:2, 60-69.
- Jambrak, A.R., Mason, T.J., Paniwnyk, L., Lelas, V. (2007). Accelerated drying of button mushrooms, Brussels sprouts and cauliflower by applying power ultrasound and its rehydration properties. *J Food Eng*, 81(1), 88-97.
- Kadi, H., Hamlat, M.S. (2002). Studies on drying kinetics of olive foot cake. *Grases Aceites*, 53, 226-228
- Kaya, A., Aydın, O., Dincer, İ. (2008). Experimental and numerical investigation of heat and mass transfer during drying of Hayward kiwi fruits (*Actinidia Deliciosa* Planch). *J Food Eng*, 88, 323-330.
- Kaya, A., Aydın, O., Kolaylı, S. (2010). Effect of different drying conditions on the vitamin C (ascorbic acid) content of Hayward kiwi fruits (*Actinidia deliciosa* Planch). *Food and Bioprod Process*, 88, 165-173.
- Kek, S.P., Chin, N.L., Yusof, Y.A. (2013). Direct and indirect power ultrasound assisted pre-osmotic treatments in convective drying of guava slices. *Food Bioprod Process*, 9, 495-506.
- Lee, J.W., Feng, H., Kushad, M. (2005). Effect of Manothermosonication (MTS) on quality of orange juice. Presented at AIChE Annual Meeting, (Cincinnati).
- Magalhães, M.L., Cartaxo, S.J.M., Gallão, M.I., García-Pérez, J.V., Cárcel, J.A., Rodrigues, S., Fernandes, F.A.N. (2017). Drying intensification combining ultrasound pre-treatment and ultrasound-assisted air drying. *J Food Eng*, 215, 72-77.
- Maskan, M. (2001). Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. *J Food Eng*, 48(2): 169-175
- Miano, A.C., Ibarz, A., Augusto, P.E.D. (2016) Mechanisms for improving mass transfer in food with ultrasound technology: Describing the phenomena in two model cases. *Ultrason Sonochem*, 29, 413-419
- Mohammadi, A., Rafiee, S., Emam-Djomeh, Z., Keyhani, A. (2008). Kinetic models for colour

- changes in kiwifruit slices during hot air drying. *World J Agric Sci*, 4(3), 376-383.
- Mulet, A., Cárcel, J.A., Sanjuán, N., Bon, J. (2003). New food drying technologies use of ultrasound. *Food Sci Technol Int*, 9, 215-221.
- Nowacka, M., Wiktor, A., Sledz, M., Jurek, N., Witrowa-Rajchert, D. (2012) Drying of ultrasound pretreated apple and its selected physical properties. *J Food Eng*, 113, 427-433.
- Opalic, M., Domitran, Z., Komes, D., Belšcak, A., Horzic', D., Karlovic', D. (2009). The effect of ultrasound pre-treatment and air-drying on the quality of dried apples. *Czech J Food Sci*, 27, 297-300.
- Park, Y.S., Namiesnik, J., Vearasilp, K., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Barasch, D., Nemirovski, A., Trakhtenberg, S., Gorinstein, S. (2014). Bioactive compounds and the antioxidant capacity in new kiwi fruit cultivars. *Food Chem*, 165, 354-361.
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.S., Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, 31, 593-606.
- Ricce, C., Rojas, M.L., Miano, A.C., Siche, R., Augusto, P.E.D. (2016) Ultrasound pretreatment enhances the carrot drying and rehydration. *Food Res Int*, 89(1), 701-708.
- Rojas, M.L., Leite, T.S., Cristianini, M., Alvim, I.D., Augusto, P.E.D. (2016). Peach juice processed by the ultrasound technology: Changes in its microstructure improve its physical properties and stability. *Food Res Int*, 82, 22-33.
- Santacatalina, J.V., Cárcel, J.A., Simal, S., Garcia-Perez, V., Mulet, V. (2012). Atmospheric freeze drying assisted by power ultrasound. *International Symposium on Ultrasound in the Control of Industrial Processes. Mater Sci Eng*, 42:012021.
- Schössler, K., Jäger, H., Knorr, D. (2012). Novel contact ultrasound system for the accelerated freeze-drying of vegetables. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 16, 113-120.
- Simal, S., Femenia, A., Garau, M.C., Rossell, C. (2005). Use of exponential, Page's and diffusional models to simulate the drying kinetics of kiwi fruit. *J Food Eng*, 66, 323-328.
- Stojanovic, J., Silva, J.L. (2007). Influence of osmotic concentration, continuous high frequency ultrasound and dehydration on antioxidants, colour and chemical properties of rabbiteye blueberries. *Food Chem*, 101(3), 898-906.
- Tekgül, Y., Çalışkan Koç, G. (2020). Arapsaçı otunun (foeniculum vulgare) kuruma kinetiğinin incelenmesi ve kuruma davranışının modellenmesi. *Gıda*, 45(4): 676-688.
- Toosi, S.B., Maghsoudlou, Y., Bolouri, B., Eshraghi, E. (2011). Modelling effect of ultrasound pretreatment on drying kinetics of kiwifruit. International Congress on Engineering and Food, Atina, Greece.
- Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Chacana, M., Vergara, J., Martínez-Monzo, J., García-Segovia, P., Lemus-Mondaca, R., Di Scala, K. (2012). Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. Granny Smith) slices. *Food Chem*, 132, 51-59.
- Wang, J., Xi, Y.S. (2005). Drying characteristics and drying quality of carrot using a two-stage microwave process. *J Food Eng*, 68, 505-511.
- Wang, W.C., Sastry, SK. (2002). Effects of moderate electrothermal treatments on juice yield from cellular tissue. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 3, 371-377.



MEYVE VE SEBZELERİN KURUTULMASINDA ÖN İŞLEM OLARAK VURGULU ELEKTRİK ALAN KULLANIMI

Yasemin Çiftci*, Mustafa Fincan

Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri, Türkiye

Geliş / Received: 11.02.2021; Kabul / Accepted: 06.05.2021; Online baskı / Published online: 21.05.2021

Çiftci, Y., Fincan, M. (2021). Meyve ve sebzelerin kurutulmasında ön işlem olarak vurgulu elektrik alan kullanımı. *GIDA* (2021) 46 (4) 830-847 doi: 10.15237/gida. GD21036.

Çiftci, Y., Fincan, M. (2021). *The use of pulsed electric field as a pre-treatment for drying of fruits and vegetables. GIDA* (2021) 46 (4) 830-847 doi: 10.15237/gida. GD21036.

ÖZ

Meyve ve sebzelerin geleneksel yöntemler ile kurutulmasında, uygulanan kurutma sıcaklığının ve süresinin derecesi nihai ürünün kalite ve maliyetine önemli derecede etkide bulunmaktadır. Uygulanan yüksek sıcaklık ve uzun kuruma süreleri genellikle istenmeyen değişimleri tetikleyerek, ürünün kalite öğelerinde azalmalara yol açmakta ve enerji sarfiyatını artırmaktadır. Vurgulu elektrik alan tekniği, kurutmadaki bu olumsuzlukları azaltma potansiyeline sahip son yıllarda ortaya çıkan alternatif tekniklerden birisi olarak bilinmektedir. Şu ana kadar yapılan çalışmaların birçoğunda meyve sebzelerin bu teknik ile kurutulmasında kalite öğelerinin daha fazla korunduğu ve enerji sarfiyatının azaltılabileceği bildirilmiştir. Bu derleme kapsamında, vurgulu elektrik alan uygulamasının meyve sebzelerin kuruma davranışı ve kalite özellikleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Vurgulu elektrik alan, meyveler, sebzeler, kurutma

THE USE OF PULSED ELECTRIC FIELD AS A PRE-TREATMENT FOR DRYING OF FRUITS AND VEGETABLES

ABSTRACT

In drying of fruits and vegetables using traditional methods, the degree of drying temperature and time applied significantly affect the quality and cost of the final product. The high temperature and long drying periods generally trigger unwanted changes, causing a decrease in the quality attributes of product and an increase in energy expenditure. Pulsed electric field technique is known to be one of the alternative techniques that has emerged in recent years, which has the potential to reduce these drawbacks in drying. In most of the studies conducted so far, it has been reported that with this technique the quality attributes are more protected and the energy consumption can be reduced in the drying of fruits and vegetables. Within the scope of this review, the effects of pulsed electric field application on the drying behavior and quality characteristics of fruits and vegetables were evaluated.

Keywords: Pulsed electric field, fruits, vegetables, drying

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: yasemenciftci@gmail.com

☎: (+90) 544 392 03 69

☎: (+90) 352 437 57 84

Yasemin Çiftci; ORCID no: 0000-0001-9934-0723

Mustafa Fincan; ORCID no: 0000-0002-9394-6449

GİRİŞ

Meyve ve sebzelerin günümüzde kullanılan birçok geleneksel kurutma yöntemleri ile kurutulmasında, kurutma yöntemine, uygulanan sıcaklık seviyesi ve süresine bağlı olarak çeşitli kalite kayıpları ortaya çıkmakta, bazen de yüksek enerji sarfiyatı nedeniyle ürünün maliyetini yükseltmektedir. Buna karşın tüketiciler, besin öğeleri yüksek oranda korunmuş, sağlık üzerinde olumlu etkileri olan ve ekonomik kazancı artıran kurutulmuş gıda ürünlerini talep etmektedir. Birçok çalışma (Dziki, 2020; Lammerskitten vd., 2019; Ostermeier vd., 2020; Radojčin vd., 2021; Wu vd., 2020; Yu vd., 2018) meyve ve sebzelerin kurutulmasında vurgulu elektrik alan (PEF) tekniğinin olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. PEF, kurutma işlemlerinde kalite ve enerji kayıplarını azaltmak için umut verici bir teknik olarak karşımıza çıkmaktadır (Kempkes ve Simpson, 2018; Llavata vd., 2019; Mousakhani-ganjeh vd., 2021; Zhang vd., 2020).

Yüksek su aktivitesine sahip olan çiğ meyve ve sebzeler mekanik hasarlara, mikrobiyal bozulmalara ve çevresel koşullara karşı oldukça duyarlı olması nedeniyle bozulmaya elverişli bir yapıdadır. Kurutulmuş ürünlerde dayanım büyük ölçüde suyun uzaklaştırılması ile gerçekleşmektedir. Belirli bir su aktivitesine kadar uzaklaştırılan su sonrası mikrobiyal ve enzimatik aktivite sınırlanmakta, arzu edilmeyen fiziksel ve kimyasal değişiklikler en aza indirgenerek raf ömrü uzun gıda ürünleri elde edilmektedir (Mayor ve Sereno, 2004). Kurutma sıcaklığına bağlı olarak su, bitkisel dokudan uzaklaşırken çeşitli yapısal engeller ile karşılaşmaktadır. Büyük oranda hücre içi bölgede bulunan suyun çıkışına öncelikle hücre zarları, sonrasında hücre duvarı ve katman kalınlığı direnç göstermektedir (Khan vd., 2018). Kurutma boyunca hücre su kaybedip, büzülerek plazmolize uğramakta ve böylece hücre zarlarının direnci önemli oranda azalmaktadır (Ando vd., 2014; Lewicki ve Pawlak, 2003).

Meyve ve sebzelerin kurutulması geleneksel olarak vakumlu kurutma, güneşte kurutma, sıcak hava ile kurutma, dondurarak kurutma, akışkan yataklı kurutma ve tepsili kurutma gibi yöntemler ile gerçekleştirilmektedir. Geleneksel teknikler ile

kurutulan meyve ve sebzelerin çoğunlukla ısı uygulamasına bağlı olması kurutma sırasında oluşan bazı kalite sorunlarını beraberinde getirmektedir. Kurutulmuş meyve ve sebzeler ile ilgili başlıca kalite problemleri olan renk, doku, aroma ve besin maddelerini etkileyen değişiklikler gıda ürününü tüketiciler için kabul edilemez hale getirmektedir (Onwude vd., 2017; Sagar ve Kumar, 2010). Yapılan çeşitli araştırmalarda geleneksel yöntemlerle kurutulan havuç, zencefil, kivi, elma, altın çilek, nar, mango, portakal, hünnap ve domates gibi birçok meyve ve sebzede fenolik madde ve karotenoid içeriklerinin azaldığı rapor edilmiştir (Bozkir, 2020; Demiray ve Tulek, 2017; Ghafoor vd., 2020; Grabowska ve Marcin, 2021; Hamid vd., 2020; Izli vd., 2017a, 2017b; Nawirska-Olszańska vd., 2017; Sehwat vd., 2018; Smith vd., 2018; Wojdyło vd., 2019). Bazı çalışmalarda sıcak havayla kurutulan pancarda, betanin içeriğinin azaldığı belirtilmiştir (Kerr ve Varner, 2020; Liu vd., 2020). Sıcak havayla kurutulan muz, guava, hünnap, yaban mersini, vişne, çilek, kıvılcık meyveleri, yeşil biber, dolmalık biber ve brokolide C vitamini kayıpları rapor edilmiştir (Leiton-Ramírez vd., 2020; Nemzer vd., 2018; Rybak vd., 2020; Szadzińska vd., 2017; Takougnadi vd., 2020; Wang vd., 2020; Xu vd., 2020). Kurutma yöntemleri arasında ısı işlem içeren uygulamalarda kırmızı biber, karadut ve terebinth meyvesinde büyük oranda renk değişimleri tespit edilmiştir (Abbaspour-gilandeh vd., 2020; Chen vd., 2017; Koç, 2020). Mierzwa ve Pawłowski (2017) yaptıkları çalışmada sıcak hava ile kurutulan patatesin görünüşünde fark edilebilir bir deformasyon gözlemlemişlerdir. Sıcak hava, mikrodalga ve kızılötesi kurutma yöntemleriyle kurutulan kırmızı biberler duyuşal olarak değerlendirildiğinde, panelistler tarafından en az tercih edilen örneklerin sıcak hava ile kurutulmuş olduğu belirtilmiştir (Guclu vd., 2021).

Tüm bu olumsuz sonuçlar neticesinde meyve ve sebzelerin kuruma özelliklerini iyileştirmek için geleneksel kurutma teknikleriyle kombine halde kurutma işlemi öncesi ön işlemler uygulanmaktadır. Çoğu ön işlemlerin amacı doku yapısını bozup, böylece suyun çıkışını kolaylaştırmaktır. Su çıkışının kolaylaşması,

kurumunun daha düşük sıcaklık ve kısa süre kullanılmana imkân tanıyarak, beraberinde ortaya çıkan kalite kayıplarını azaltmaktadır. Son zamanlarda bitki hücre zarlarının geçirgenliğini artırarak meyve ve sebzelerin kurutulmasını kolaylaştıran aynı zamanda ürün kalitesinin koruyan ve ısısal olmayan PEF ön işlemleri dikkat çekmektedir (Huang vd., 2019; Sagar ve Kumar, 2010). PEF destekli kurutma, daha kısa kuruma süresi, düşük enerji tüketimi ve yüksek kalitede ürünler elde edilmesi gibi avantajları ile öne çıkan bir teknoloji olarak bilinmektedir.

Vurgulu Elektrik Alan (PEF) Tekniği

Vurgulu elektrik alan (PEF), elektrotlar arasına yerleştirilen hücre sistemlerine kesikli aralıklarda DC (doğru akım) voltaj uygulamasıdır. Uygulamanın bilenen en önemli etkisi, elektriksel alana maruz bırakılan hücrede önemli bir ısı artışına yol açmadan hücre zarlarında kalıcı veya geçici gözenekler (porlar) oluşturmaktır. Bu şekilde gözenek oluşturma işlemi elektroporasyon veya elektropermeabilizasyon olarak adlandırılmaktadır. Por oluşum mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen, buna dair Zimmermann tarafından (Zimmermann, 1986) sunulan dielektrik parçalanma teorisi en çok kabul görenler arasında yer almaktadır. Bu teoriye göre, hücre dışarıdan bir elektrik alana maruz bırakıldığında, dielektrik hücre zarının iç ve dış yüzeylerinde zıt yüklü iyonlar polarize olarak transmembran potansiyel (TMP)'in artışına yol açmaktadır. TMP'indeki artışa paralel iyonlar hücre zarında gittikçe artan bir basınç, sıkıştırma kuvveti meydana getirir ve nihayet TMP'i 1 Volt değerine ulaştığında hücre zarında gözenekler açılmaya başlamaktadır. Bu kritik seviyenin üzerinde elektrik alan uygulamasının sürdürülmesi halinde, hücre zarında kalıcı mekanik hasar oluşması tersinir olmayan elektroporasyon, kritik seviyeye kadar uygulanması halinde gözeneklerin açılıp kapanması ise tersinir elektroporasyon olarak adlandırılmaktadır (Kotnik vd., 2019; Ramaswamy ve Ramachandran, 2017; Zimmermann, 1986).

Gözeneklerin veya elektroporasyonun özellikleri diğer bazı şartlardan da etkilenmektedir. Özellikle, uygulanan elektrik alan kuvveti, vurgu şekli, vurgu

genişliği, vurgu sayısı ve vurgu frekansının büyüklüğü belirleyici olmaktadır. Elektrik alan kuvvetinin büyüklüğü elektroporasyonda en önemli bir parametreye iken diğer elektriksel değişkenlerin etkisi farklılık göstermektedir. Vurgu genişliği ve sayısındaki artışın hücre zarında bozunumu artırdığı gösterilirken, vurgu frekansının por oluşumu hakkındaki rolü üzerine sonuçlar değişmektedir (Kanduđer ve Miklavčić, 2008). En yaygın kullanılan vurgu şekilleri üstel azalan ve kare dalga biçimidir. Kare dalga şeklinin, üstel azalana göre daha az ısı artışına yol açtığı bilinmektedir. Elektriksel parametrelerin yanında, hücrelerin içinde bulunduğu sıcaklık, elektriksel iletkenlik ve hücre büyüklüğü gibi bazı ortam özelliklerinin de elektroporasyon özellikleri üzerine etkileri bulunmaktadır. Aynı şartlarda elektrik alan parametrelerine maruz bırakılan hipotonik ortamdaki hücreler, izotonik bir ortamdan daha düşük voltajda geçirgen hale gelmektedir (Rols ve Teissie, 1990). Önemli oranda lipitlerden oluşan hücre zarı yüksek sıcaklığa maruz bırakıldığında daha akışkan hale geldiğinden, daha düşük elektrik alan şiddetinde geçirgen hale gelmektedir (Kakı vd., 2014; Rols ve Teissie, 1990). Elektriksel iletkenlik değerinin artması, uygulama esnasında ısı artışını da indüklediğinden, hücre zarı deformasyonunda ısının etkisi ayrıca ortaya çıkmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda, ortam elektriksel iletkenlik değeri azaldıkça hücre parçalanma oranının arttığı gözlemlenmiştir (Hülshager vd., 1981; Silve vd., 2016). Hücre büyüklüğü arttıkça indüklenen membran potansiyeli arttığından hücre boyutu büyük olan hücreler küçük olan hücrelere göre elektrik alanın verdiği hasara daha duyarlı hale gelmektedir (Gaylor vd, 1988). Hücre zarı por geçirgenliğini sağlamak için gerekli olan elektrik alan kuvveti mikroorganizmalar (hücre boyutu 1-10 µm) için 12-20 kV/cm aralığında iken bitki hücrelerinde (hücre boyutu 40-200 µm) 1-2 kV/cm'dir (Soliva-fortuny vd., 2009).

Elektroporasyon geçmişten bu zamana biyoteknolojide gen aktarımında bilinen ve uygulanan bir tekniktir. Bununla beraber, tekniğin bitkisel hücrelerin, mikroorganizmaların ve tümörlerin inaktivasyonu gibi diğer alanlardaki potansiyeli üzerine çalışmalar son yıllarda artarak

devam etmektedir (Ariza-gracia vd., 2020; Emanuel vd., 2020; Maor vd., 2021; Rubin vd., 2018; Shabbir vd., 2020; Xu vd., 2018; Zhao vd., 2021). Meyve ve sebzelerin işlenmesi söz konusu olduğunda, tersinir olmayan elektroporasyon tekniğinin özellikle kütle transferini içeren kurutma ve ekstraksiyon proseslerini kolaylaştırıcı potansiyeli üzerinde durulmaktadır (Yarmush vd., 2014). Geleneksel kurutmada hücre zarlarını bozundurup, kütle transferini artırmak için kurutma sıcaklığını en az 55-65 °C civarına çıkarmak şart iken, PEF ön işlemleri sonrası bu şart değildir (Eshtiaghi ve Knorr, 2002). Çünkü, PEF ile hücre zarları bozulan dokudan kütle transferi daha düşük sıcaklıklarda da hızlanmakta veya kurutma daha düşük sıcaklıklarda da gerçekleştirilebilmektedir. Bundan başka, herhangi bir PEF uygulamasının indüklediği doku bozunum oranı, kuruma prosesini direkt olarak etkilemektedir. Diğer bir deyişle, dokuda bozulan hücre sayısı ne kadar artarsa, buharlaşan su miktarı da buna paralel artmakta, kuruma kolaylaşmaktadır. Dolayısıyla, PEF ile ortaya çıkan doku bozunum veya elektroporasyon seviyesinin belirlenmesi kuruma prosesini değerlendirmede kritik bir öneme sahip olmaktadır.

Doku Bozunum Oranın Belirlenmesi

Doku bozunum oranının (Z_p) belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan yöntem, dokuların elektriksel özelliklerine dayanmaktadır. Sağlam bir dokunun elektriksel iletkenliği frekans değerine bağlıdır. α -frekans bölgesinde (1-100 kHz) hücre zarları yalıtkan özelliklerini büyük ölçüde korurken akım (iletkenlik) ağırlıklı olarak hücre dışı bölgedeki iyonların ifadesidir. Buna karşın, β -frekans bölgesinde (0.1-100 MHz), hücre zarları yalıtkan özelliklerini frekans arttıkça kaybetmeye başlamaktadır (Maxwell-Wagner etkisi), bununla birlikte hücre içi iyonlar da iletkenliğe dahil olmakta, dolayısıyla ölçülen iletkenlik hem hücre içi hem de hücre dışı iyonların bir ifadesi haline gelmektedir. Sağlam dokunun iletkenliği bu şekilde frekansa bağlı iken, hücreleri tam olarak bozunmuş dokunun iletkenliği farklı davranış göstermektedir. Bozunmuş hücre zarları bariyer özelliklerini kaybettiğinden ve buna bağlı olarak iyonca zengin hücre içi içeriğinin hücre dışına

yayılmasından, iletkenlik her iki frekans bölgesinde de sabit kalmaya meyil etmektedir (Şekil 1). Buna göre, ölçüm yeterince yüksek frekansta yapıldığında sağlam doku ve tam parçalanmış doku elektriksel iletkenlikleri birbirine yakın olmaktadır. Hücreleri sağlam, kısmen parçalanmış ve tam parçalanmış bitki dokusunun frekans artırımına karşı davranışları aşağıdaki Şekil 1’de (Knorr ve Angersbach, 1998) şematize edilmektedir (Foster, 2008).

Bu olgulardan yararlanılarak, herhangi bir işlem (PEF veya diğer) sonrası ortaya çıkan doku parçalanma oranı (Z_p)’nın tahminine yönelik farklı yöntemler geliştirilmiştir. En basit yaklaşımda, Z_p α -frekans alanındaki elektriksel iletkenliğin β -frekans alanına oranından tahmin edilmektedir. Bundan başka, Angersbach vd. (1999), dokuların frekans tepkisini kullanan bir doku parçalanma indeksi Z_p tanımlamaktadır.

$$Z_p = \frac{\left(\frac{\sigma_h^t}{\sigma_h^i}\right)\sigma_t^t - \sigma_t^i}{\sigma_h^t - \sigma_t^i} \quad (\text{Denklem 1})$$

σ_t^t ve σ_t^i sırasıyla düşük frekansta (1-5 kHz) işlem görmüş ve işlem görmemiş (sağlam) dokunun, σ_h^t ve σ_h^i ise sırasıyla yüksek frekansta (3-50 MHz) işlem görmüş ve işlem görmemiş dokunun iletkenliğidir. Buna göre, sağlam doku için $Z_p \approx 0$, tam parçalanmış doku için $Z_p \approx 1$ olmaktadır.

Bundan başka, α -frekans alanındaki elektriksel iletkenliği göz önüne alarak Z_p tahmini içeren diğer yöntemler de geliştirilmiştir. Bu yöntemlerde herhangi bir işlem (PEF veya diğer) sonrası hasıl olan elektriksel iletkenlik dondurup-çözme veya ısı işlem gibi tam doku parçalamayı sağlayan bir işlemde sonra hasıl olan iletkenliğe bölünerek, Z_p tahmini yapılmaktadır. Örneğin dokunun su içerisinde PEF işlemine maruz bırakıldığında tanımlanan bir endeks de:

$$Z_p = \frac{\sigma - \sigma_s}{\sigma_{maks} - \sigma_s} \quad (\text{Denklem 2})$$

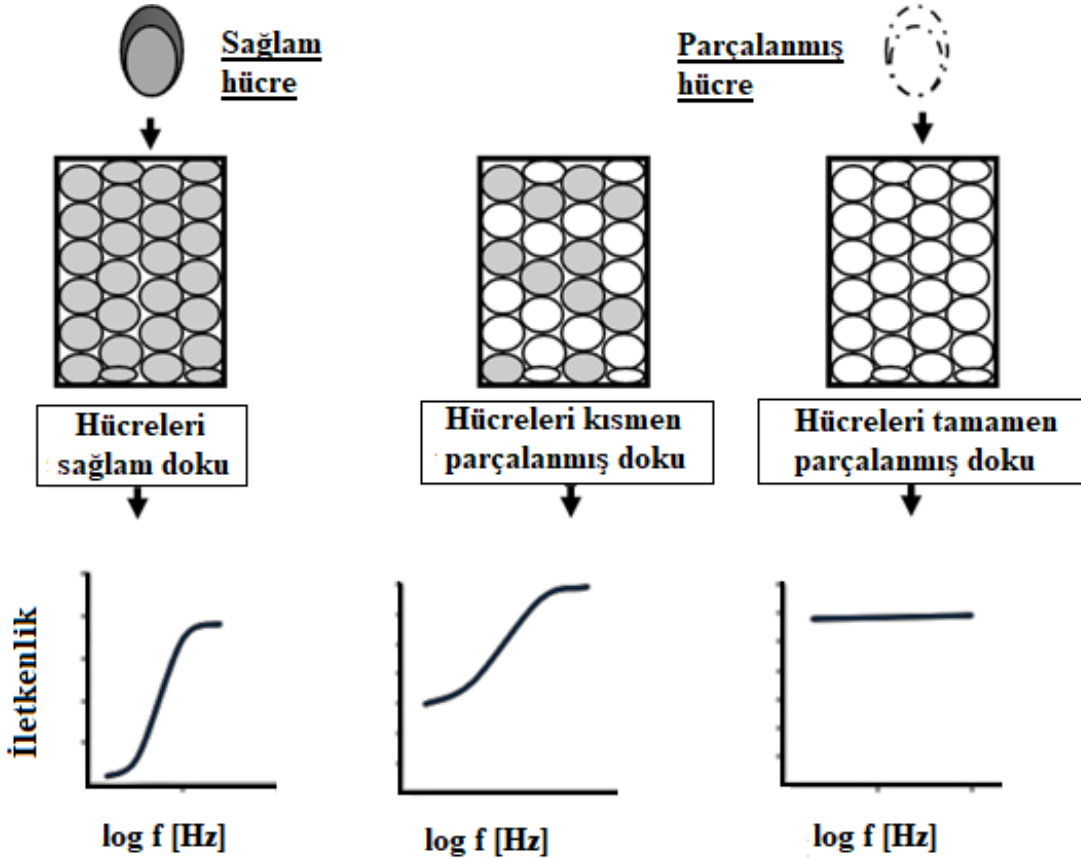
σ , σ_{maks} ve σ_s sırasıyla işlem gören, tam parçalanmış numunenin ve dokuyu çevreleyen suyun elektriksel iletkenliğidir. Fincan (2015) ve

Lebovka vd. (2002) tarafından tanımlanan diğer bir endeks de:

$$Z_p = \frac{\sigma - \sigma_i}{\sigma_d - \sigma_i} \quad (\text{Denklem 3})$$

σ , işlem görmüş dokunun α -frekans alanındaki elektriksel iletkenlik, “i” ve “d” alt indisi ise

sırasıyla sağlam ve tamamen parçalanmış dokunun iletkenliğini ifade etmektedir. Sağlam hücre için $Z_p \approx 0$, tamamen parçalanmış hücre için $Z_p \approx 1$ olmaktadır.



Şekil 1. Hücreleri sağlam, kısmen parçalanmış ve tam parçalanmış bitki dokusunun 1 kHz-50 MHz ölçüm frekansı aralığında tipik frekans-iletkenlik spektrumları (Knorr ve Angersbach, 1998)

PEF Ön İşlemi ile Kurutma

Sağlam bitkisel dokuda %90'a varan oranlarda bulunan su, hücre içi bölgede hücre zarları tarafından hapsedilmekte ve dışarıya çıkışı engellenmektedir. Destek görevi üstlenen hücre duvarı da su çıkışına engel teşkil eden bir bariyer olmasına rağmen, su çıkışına direnç gösteren temel bariyer hücre zarıdır. İşte PEF ile kurutma prosesinin iyileştirilmesi potansiyeli temelde PEF'in hücre zarlarındaki bozunum etkisine dayanmaktadır. Bununla birlikte, PEF'in bu etkisinin kurutma sıcaklığının 55 °C altındaki

sıcaklıklarda gerçekleştirildiğinde daha geçerli olduğu göz ardı edilmemelidir. Bu sıcaklık seviyesi üzerinde hücre zarları ısı etkisiyle bozunmaya (plazmoliz) başladıklarından, PEF ile önceden hücre bozunumu önemini kaybetmeye başlamaktadır (Eshtiaghi ve Knorr, 2002). Diğer taraftan, 55 °C altındaki sıcaklıklarda gerçekleştirilen kurutma prosesinde, bozulan hücre zarları suyun çıkışına izin vererek, kurutmanın hızlanmasına yol açmaktadır. Buna örnek olarak Alam vd. (2018) yaptığı çalışma incelendiğinde, 50 °C'de sıcak hava ile kurutulan

Meyve ve sebzelerin kurutulmasında vurgulu elektrik alan ön işlemleri

havauçlarda PEF ön işlemleri kuruma süresini %13 azaltırken, 70 °C’de kurutulan örneklerde kuruma süresinde bir azalma gözlenmemiştir. PEF’in düşük sıcaklıklarda kısa süren kurutmaya elveren bu potansiyeli yapılan bazı ön çalışmalarda ele alınmış, istenmeyen birçok reaksiyonları azalttığı ve ekonomik açıdan maliyeti düşürdüğü gösterilmiştir. PEF’in tüm bu olumlu yanlarına rağmen, meyve ve sebzelerdeki kurutma rolü

yeterince aydınlatılmamıştır. Şu ana kadar yapılan çalışmalarda, bazı meyve ve sebzelerin elektroporasyonunda farklı PEF parametreleri kullanılmış bunun yanı sıra farklı kurutma sıcaklıkları denenmiştir. Çeşitli meyve ve sebzelerin PEF yardımcı kurutma işleminde kullanılan deneysel şartların ve bulguların bir özeti Çizelge 1’de gösterilmektedir.

Çizelge 1. Farklı çalışmalardan PEF destekli meyve-sebze kurutulmasının bir özeti

Örnek	PEF İşlem Koşulları	Etkileri	Referanslar
Soğan	Üstel azalan monopolar vurgu, 0.36-1.07 kV/cm elektrik alan kuvveti, 40 µs vurgu genişliği, 2 Hz frekans	45 °C kuruma sıcaklığında 1.07 kV/cm elektrik alan kuvveti ve 4 kJ/kg spesifik enerji girişinde kuruma süresinde %30 düşüş gözlenmiştir. Elektrik alan kuvvetinin artmasıyla birlikte hücre parçalanma oranı da artmıştır. 1.07 kV/cm elektrik alan kuvvetinde hücre parçalanma oranı $Z_p = 0.47 \pm 0.07$ olarak bulunmuştur.	(Ostermeier vd., 2018)
Erik	Unipolar kare dalga vurgu, 1, 2 ve 3 kV/cm elektrik alan kuvveti, 30 vurgu	En yüksek hücre parçalanma oranı ($Z_p = 0.572$) ve nem difüzyon katsayısı ($0.27 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ ’den $16.47 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ ’ye) 3 kV/cm elektrik alan kuvvetinde gözlenmiştir. Yüksek hücre parçalanması kuruma oranını artırmış, kuruma süresini kısaltmıştır.	(Rahaman vd., 2019)
Elma	Monopolar yakın-dikdörtgen vurgu, 0.66-2.34 kV/cm, 8-92 vurgu, vurgular arası 25 µs	Proses değişkenleri 1.25 kV/cm elektrik alan kuvveti, 50 vurgu sayısı ve 80 °C işlem sıcaklığında optimize edilmiştir. Hücre parçalanma oranı $Z_p = 0.90$ olarak bulunmuştur.	(Chauhan vd., 2018)
Elma	Monopolar dikdörtgen şeklinde vurgu, 1-2 kV/cm, vurgular arası 900 ms, 10-60 vurgu, vurgu genişliği 90 µs	PEF işlemleri, kuruma süresini 0.86 sa azaltmıştır. Enerji tüketimi 1.5 kV/cm’de 35 vurgu sayısında %24.74 azalmıştır. Etkin difüzyon katsayısı $2.40 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ ’den $3.10 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ ’ye yükselmiştir.	(Wu ve Zhang, 2019)
Kayısı	0.625 ve 1.25 kV/cm, 30 ve 60 s, 100 Hz, vurgu genişliği 20 µs	Elektrik alan kuvveti 0.625’den 1.25 kV/cm’ye ve işlem süresi 30 s’den 60 s’ye çıkması sonucu kuruma oranında artış görülmüştür.	(Huang vd., 2019)
Nane	0.147, 0.294 ve 1.43 kV/cm elektrik alan kuvveti, 2, 10, 100 ve 0.2 ms vurgu genişliği, 1, 5, ve 10 s vurgu aralığı, 10-1485 aralığında vurgu sayısı	1.43kV/cm, 0.2 vurgu genişliğinde ve 0.294kV/cm, 100 ms vurgu genişliği şartlarında vurgu sayısı arttıkça kuruma sürelerinin kıaldığı görülmüştür. Yüksek elektrik alanında (1.43 kV/cm), 160x2ms, 0.1 Hz ve 10 s vurgu aralığı şartlarında uygulandığında hücre parçalanma oranı $Z_p = 81.30 \pm 4.84$ olarak bulunmuştur.	(Aldemir, 2019)

Çizelge 1. devam

Örnek	PEF İşlem Koşulları	Etkileri	Referanslar
Kırmızı dolmalık biber	1.0 kV/cm elektrik alan kuvveti, 20-200 üstel azalan vurgu, 143 µs vurgu genişliği, 1 Hz frekans	PEF ile işlem görmüş örneklerin rehidrasyon kapasitesi %50 artmıştır. Hücre parçalanma oranı 0.6-0.8 arasında rapor edilmiştir.	(Fauster vd., 2020)
Fesleğen	65 monopolar karesel vurgu, 650 V/cm elektrik alan kuvveti, 150 µs vurgu süresi, vurgular arası 760 µs	PEF ön işlemi kuruma süresini, sıcak hava ile kurutulan örnekte %57, vakum ile kurutulan örnekte %33 ve dondurularak kurutulan örnekte %25 oranında azaltmıştır.	(Telfser ve Galindo, 2019)
Patates	600 V/cm elektrik alan kuvveti, 100 monopolar vurgu vurgu süresi 100 µs, vurgular arası süre 10 ms	PEF işlemi, etkin nem difüzyonunu artırarak ön kurutma işlemini ve nem kaybının hızlanmasına yol açması ile kızartma prosesinin kılmasını sağlamıştır.	(Liu vd., 2018a)
Yaban mersini	2 kV/cm, 2 µs vurgu genişliği, 200 vurgu, 96 ms işlem süresi	75, 60 ve 45 °C'lerde vakumla kurutma öncesi PEF ön işlemi, kuruma süresinde sırasıyla 6 sa'ten 4 sa'e, 10 sa'ten 7 sa'e ve 70 sa'ten 40 sa'e düşüş göstermiştir.	(Yu vd., 2017)
Mango	1.07 kV/cm elektrik alan kuvveti, monopolar üstel azalan vurgu, vurgu süresi 40 µs, vurgular arası 0.5 s, 2 Hz, spesifik enerji girişi PEF1 (1kJ/kg); PEF2 (3kJ/kg)	PEF ön işlemi vakumla kurutulmuş örneklerin rehidrasyon yeteneğini PEF1 ve PEF2 için sırasıyla 3.14'den (işlem görmemiş) 3.11'e ve 2.52'e, sıcak hava ile kurutulmuş örneklerin ise sırasıyla %2 ve %15 oranında azaltmıştır.	(Lammerskitten vd., 2020)
Çilek ve kivi	100 ve 200 V/cm, 10 µs vurgu genişliği, 100 Hz frekans, 10 s işlem süresi	Ozmotik dehidrasyon ile kombine halde kullanılan PEF ön işlemi her iki meyvede de su kaybını %21.6 oranında artırmıştır. Her iki meyvede de antioksidan kapasite ve aktiviteyi artırmıştır.	(Tylewicz vd., 2020)
İspanak	3 kV/cm elektrik alan kuvveti, 1 µs vurgu genişliği, vurgu sayısı 1, işlem süresi 15 dak,	Kurutma öncesi PEF ön işlemi kuruma süresini 1.8 kat kısaltmıştır.	(Yamada vd., 2020)
Çilek	1 kV/cm elektrik alan kuvveti, vurgular arası 0.5 s (2 Hz) monopolar üstel azalan vurgu, vurgu süresi 40 µs	PEF ön işlemi görmüş çilekler işlem görmemişlere kıyasla şekli ve hacmi korunmuş, daha yüksek görsel kalite sergilemiştir. Daha homojen bir kuruma sağlanmıştır.	(Lammerskitten, vd., 2020)
Goji meyvesi	0.9-2.8 kV/cm elektrik alan kuvveti, 1 kHz-1MHz frekans aralığı, vurgu sayısı 7500'e kadar	Kurutma öncesi, ozmotik dehidrasyon ve PEF uygulaması (vurgu sayısı 750'den 7500'e yükseldikçe), su kaybını artırmıştır. 2.8 kV/cm, 15 µs vurgu genişliği ve 20 Hz frekans şartlarında hücre parçalanma indeksi (Z_p), 750, 1500 ve 7500 vurgu sayılarında sırasıyla 0.13, 0.20 ve 0.38 olarak bulunmuştur.	(Dermesonlou glou vd., 2018)

Meyve ve sebzelerin kurutulmasında vurgulu elektrik alan ön işlemi

Çizelge 1. devam

Örnek	PEF İşlem Koşulları	Etkileri	Referanslar
Safran	2 kV/cm elektrik alan kuvveti, 50 dikdörtgen şeklinde vurgu, 20 µs vurgu genişliği, 1ms toplam işlem süresi, 50 Hz frekans	Kurutma öncesi PEF ön işlemi, safran aroması ve renk gücünde sırasıyla %177 ve %40 artış göstermiştir.	(Neri vd., 2021)
Havuç	0.6 kV/cm, monopolar 10 vurgu, 100 µs vurgu süresi, vurgular arası 10 ms	PEF ön işlemi, 25-90 °C'de kuruma süresini %33-55 oranında azaltmıştır. β-karoten kaybı ve renk değişimi işlem görmemiş örneklerle kıyasla daha az olduğu görülmüştür.	(C. Liu vd., 2020)
Patates	600 V/cm elektrik alan kuvveti, 100 monopolar vurgu, 100 µs vurgu süresi, vurgular arası 10 ms	PEF ön işlemi, kuruma süresini %22-27 oranında azaltmıştır.	(Liu vd., 2018b)

Ostermeier ve arkadaşları (2018), PEF ön işleminin sıcak hava ile kurutulan taze soğan üzerine etkisini incelemiştir. Soğana farklı PEF parametreleri ($W = 0.2-20.0$ kJ/kg spesifik enerji, $E = 0.36-1.07$ kV/cm) uygulanmış, ardından 45, 60 ve 75 °C sıcaklıklarda sıcak hava ile kurutulmuştur. Farklı elektrik alan kuvvetlerinde (0.36 kV/cm, 0.71 kV/cm ve 1.07 kV/cm) ve değişen spesifik enerjilerde hücre parçalanma oranları incelenmiştir. Hücre parçalanması en fazla, 1.07 kV/cm elektrik alan kuvveti ve 2-16 kJ/kg spesifik enerji girişi aralığında görülmüştür. 1.07 kV/cm elektrik alan kuvvetinde 1, 4 ve 16 kJ/kg spesifik enerji değerlerinde soğanın 60 °C'de kuruma davranışı işlem görmemiş örnekler ile karşılaştırılmıştır. Bunun sonucunda, PEF ön işlemi görmemiş soğan örneklerinde 300 dakikada istenilen nem seviyesine ulaşırken işlem görmüş numunelerin kuruma süresinde azalma tespit edilmiştir. 4 kJ/kg spesifik enerji ile işlenen örneğin kuruma süresi 300 dakikadan 236 dakikaya %21.33'lük bir azalma ile en hızlı kuruma sağlamıştır. İşlem görmemiş örneklerle kıyaslandığında PEF ön işlemi ile kuruma süreleri 45, 60 ve 75 °C kurutma sıcaklıklarında sırasıyla %30, %21.4 ve %6.4 oranında azalmıştır.

Rahaman ve arkadaşları (2019), eriğe uygulanan PEF ön işlemini kuruma kinetiği, hücre parçalanması, renk ve mikro yapısal özellikleri açısından incelemiştir. PEF ön işlemi 1, 2 ve 3 kV/cm elektrik alan şiddeti, 30 vurgu sayısı ve 10-

90 kJ/kg spesifik enerji girişi olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Ardından örnekler 70 °C'de sıcak hava fırınında kurutulmuştur. PEF'in hücre parçalanmasına etkisi, işlem yoğunluğunun ve özgül enerji tüketiminin artmasıyla artış göstermiştir. 1 kV/cm elektrik alan kuvvetinde hücre parçalanması 0.147 iken 2 ve 3 kV/cm'de sırasıyla 0.463 ve 0.572'ye yükselmiştir. Hücre parçalanması, kuruma oranı ve nem kaybının artırmasına yardımcı olmuştur. Kuruma oranı, PEF yoğunluğunun artmasıyla birlikte artış göstermiş, kuruma süresinin kısılmasına yol açmıştır. PEF ön işlemi görmemiş örneğe (0.27×10^{-9} m²/s) kıyasla nem difüzyon katsayısı 1, 2 ve 3 kV/cm'de sırasıyla 11.7×10^{-9} m²/s, 12.15×10^{-9} m²/s ve 16.47×10^{-9} m²/s olarak artmıştır. Elektron mikroskopunda, işlem görmüş örneklerin hücre zarlarında büzülme meydana geldiği görülmüştür. Kurutma işleminden sonra işlem görmemiş örneklerle kıyasla PEF ön işlemi görmüş örneklerin açıklık değeri (L^*) yükselmiştir.

Chauhan vd. (2018), elma dilimlerinin kuruma süresi, enerji girdisi ve hücre parçalanması üzerinde PEF ön işleminin elektrik alan kuvveti (1'den 2 kV/cm'ye), vurgu sayısı (25'ten 75'e) ve PEF destekli haşlama ön işlemi sırasında suyun sıcaklığının (60'dan 80 °C'ye) etkisini değerlendirmiştir. Farklı parametrelerde PEF işlemine maruz bırakılan elma dilimleri 60 °C'de 12 m/s hava hızında kurutulmuştur. Enerji girdisinin artmasıyla birlikte hücre zarı

geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak yüksek oranda hücre parçalanması meydana gelmiştir. Zar geçirgenliğinin artması daha fazla suyun uzaklaşması anlamına geldiği için kuruma süresinde azalma gözlemlenmiştir. Uygulanan elektrik alan kuvveti kuruma hızını önemli ölçüde etkilemezken darbe sayısı ve ortam sıcaklığı etkili olmuştur. Bu çalışma sonucunda, iyi kalitede kurutulmuş elma elde etmek için deneysel şartlar, elektrik alan kuvveti 1.25 kV/cm, vurgu sayısı 50 ve su sıcaklığı 80 °C olarak belirlenmiştir.

Wu ve Zhang (2019), elma dokusunun dondurularak kurutma prosesinde PEF ön işleminin etkisini incelemişlerdir. Elma dokusu 1-2 kV/cm elektrik alan kuvveti, 10-60 vurgu sayısı, 900 ms vurgu aralığı, 90 µs vurgu genişliği monopolar dikkörtgen vurgu olacak şekilde PEF işlemine maruz bırakılmıştır. Ön dondurma işlemi -40 °C'de 10 saatte gerçekleştirildikten sonra örnekler 75 °C'de kurutulmuştur. Elma dokusunun kuruma karakteristiği incelendiğinde, işlem görmemiş örneklerle kıyasla PEF ön işlemi görmüş örneklerin nem değeri önemli oranda azalmıştır. İşlem görmemiş örnek, istenilen nem değerine 230 dakikada ulaşırken PEF ile işlem görmüş örnekler 190 dakikada ulaşmıştır. Ortalama kuruma süresi işlem görmemiş örnekler için 7.50 sa iken PEF ön işlemi görmüş örnekler için 6.64 sa olarak tespit edilmiştir. İşlem görmüş örneklerin enerji tüketimi %24.74 oranında azalmıştır. Enerji verimliliği için en etkili PEF koşulları, 1.5 kV/cm elektrik alan kuvvetinde 35 vurgu sayısı olarak belirlenmiştir. PEF sonrası meydana gelen elektroporasyon, membran geçirgenliğini artırmış, kuruma prosesini iyileştirmiştir. PEF ile işlem görmemiş örneklerin rehidrasyon oranı 4.14 iken PEF ön işlemi görmüş (1 kV/cm, 60 vurgu sayısı) örneklerin rehidrasyon oranının 7.11 olduğu görülmüştür. Etkin difüzyon katsayısı (D_{eff}), 2.40×10^{-8} m²/s'den 3.10×10^{-8} m²/s'e yükselmiştir. D_{eff} , elektrik alan yoğunluğunun ve vurgu sayısının artmasıyla birlikte hızlanma eğilimi göstermiştir.

Huang ve arkadaşları (2019), kayıslara farklı yoğunluklarda PEF ön işlemi uygulamış ardından kuruma oranlarını karşılaştırmıştır. Kontrol olarak: işlem görmemiş, %0.2 Na₂SO₃'e

daldırılmış işlem görmemiş ve 10 dak 80 °C'de ısıtılmış ardından oda sıcaklığında %0.2 Na₂SO₃'de 1 saat daldırılmış örnekler kullanılmıştır. PEF işlem koşulları, düşük yoğunluk (0.65 kV/cm, 100 Hz, 20 µs, 30 s işlem süresi), yüksek yoğunluk-kısa süre (1.25 kV/cm, 100 Hz, 20 µs, 30 s işlem süresi) ve yüksek yoğunluk-uzun süre (1.25 kV/cm, 100 Hz, 20 µs, 60 s işlem süresi) olarak uygulanmıştır. Sonrasında sıcak hava fırınında 45 °C'de 1.0 m/s hava hızında kurutulmuştur. Elektrik alan kuvveti 0.625' den 1.25 kV/cm'ye ve işlem süresi 30 s'den 60 s'ye çıkması sonucu kuruma hızında artış görülmüştür. Isıl işlem uygulanmış örneklerin kuruma hızı, düşük yoğunluk ve yüksek yoğunluk-kısa süreli örneklerden daha yüksek, yüksek yoğunluk-uzun süreli örnekten daha düşük bulunmuştur.

Fincan ve Aldemir (2019), nanenin kurutulmasında yüksek ve düşük elektrik alan kuvvetlerinde frekans ve darbe sayısının etkisini işlem görmemiş ve dondurulup çözündürülmüş örnekler ile kıyaslayarak incelemiştir. Yüksek elektrik alan (1.43 kV/cm, 0.2 vurgu genişliği) ve düşük elektrik alan (0.294 kV/cm, 100 ms vurgu genişliği) kuvvetlerinde vurgu sayısı arttıkça kuruma sürelerinin kısalacağı görülmüştür. Yüksek elektrik alan kuvvetinde (1.43 kV/cm, 2 ms vurgu genişliği) frekansın azalma etkisinin yüksek vurgu sayısında (99) önemli olduğu vurgulanmıştır. Frekans değeri azaldıkça kuruma süresi kısalmıştır. En düşük frekans olan 0.1 Hz'de kuruma süresi yaklaşık 2.7 saat olarak kaydedilmiştir. Düşük elektrik alan kuvvetinde (0.147 kV/cm, 100 ms vurgu genişliği) ise frekansın azalmasının önemli bir etkisi olmamış, ancak işlem görmemiş örneklerle kıyasla kuruma süresi kısalmıştır.

Fauster vd. (2020) yaptığı çalışmada, kırmızı dolmalık biberlerin dondurularak kurutulması sonucu oluşan olumsuz fiziksel özellikleri iyileştirmek amacıyla PEF ön işlemine (1.0 kV/cm elektrik alan kuvveti, vurgu genişliği 143 µs, 20-200 arası vurgu, 1 Hz frekans ve spesifik enerji girişi 0.7-6.0 kJ/kg olacak şekilde) tabi tutulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, spesifik enerji girişinin artmasıyla birlikte hücre parçalanma indeksi %30 artmıştır. PEF ön işlemi,

biberin tekstürel özelliği olan sertlik değerini, işlem görmemiş örneğe kıyasla %61.1-71.1'e kadar düşürmüştür. PEF ön işlemi görmüş örneklerin rehidrasyon kapasitesinin, işlem görmemiş örneklerle kıyasla yüksek olduğu belirtilmiştir.

Telfser ve Galindo (2019), fesleğen yapraklarına (*Ocimum basilicum* L.) uygulanan PEF ön işleminin farklı kurutma yöntemleri (sıcak hava, vakum ve dondurarak kurutma) üzerine etkilerini incelemişlerdir. Fesleğen yapraklarına, (650 V/cm elektrik alan şiddeti, vurgu süresi 150 µs, vurgular arası 760 µs ve 65 monopolar karesel vurgu olacak şekilde) PEF ön işlemi uygulanmıştır. Daha sonra ayrı ayrı 40 °C'de 2 m/s hava hızında, 14 Pa vakumlu ve -45 °C'de dondurularak kurutulmuştur. Dehidrasyon özellikleri PEF ön işlemi görmemiş örneklerle kıyaslanarak incelendiğinde kurutma metodlarının her birinde nem difüzyonu artmış, kuruma süreleri kısalmıştır. Kuruma süreleri işlem görmemiş örnekler ile kıyaslandığında, sıcak havayla kurutulan örnekte 23.5'ten 10.8 saate, vakum ile kurutulan örnekte 15'ten 10 saate ve dondurularak kurutulan örnekte 12'den 9 saate düşmüştür. Yani PEF ön işlemi kurutma süresini, sırasıyla %57, %33 ve %25 oranında azaltmıştır. Taze ve kurutulmuş fesleğen yapraklarının renk özellikleri incelendiğinde, dondurularak kurutulmuş örnekler hariç diğer örneklerin taze yapraklardan daha koyu renkte olduğu görülmüştür. Renkte en fazla koyulaşma, PEF ön işlemi ardından sıcak hava ile kurutulan örneklerde görülmüştür. Fesleğen yapraklarının yeşilliği (a^*), sıcak hava ile kurutulmuş örnekler başta olmak üzere her bir kurutma yönteminde önemli ölçüde azalmıştır.

Liu ve arkadaşları (2018a), PEF ön işlemi ardından sıcak hava ile kurutulan patateslerin kızartılması sırasında nem kaybı ve yağ alımı üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Patates dilimleri 25 mm çap ve 2.5 mm kalınlığında kesilmiş ardından 600 V/cm elektrik alan kuvveti, 100 monopolar vurgu, vurgu süresi 100 µs ve vurgular arası 10 ms olacak şekilde PEF uygulanmıştır. Daha sonra örnekler, 50 °C'de 2 m/s hava hızında 500, 1000 ve 2000 s sıcak hava ile kurutulmuş ardından 130 °C'de 600 s

kızartılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, PEF işlemi etkin nem difüzyon katsayısını artırarak ön kurutmayı hızlandırmış, kızartma süresini kısaltmıştır. Kuruma süresine karşı kızartma süresi incelendiğinde, kuruma süresi 500 s'yi aşması halinde kızartma süresi önemli ölçüde azalmıştır. Kurutma süresi 500 s üzerinde iken kızartmadan sonra yağ alımının, işlenmemiş örnek (≈ 0.47 g/g DM) ile karşılaştırıldığında PEF ile işlenmiş örneklerde (0.30 g/g DM) daha az olduğu görülmüştür.

Yu ve arkadaşları (2017), yaban mersininin sıcak hava ve vakumlu olarak kurutulmasında ön işlem olarak uygulanan PEF'in, yaban mersininin besinsel kalite ve kuruma karakteristiği üzerine etkisini incelemiştir. PEF ön işlemi 2 kV/cm elektrik alan kuvveti, 2 µs vurgu genişliği, saniyede 200 vurgu ve toplam işlem süresi 96 ms olacak şekilde uygulanmış, ardından vakumlu ve sıcak hava kurutucuda 45, 60 ve 75 °C sıcaklıklarda kurutulmuştur. Vakumlu kurutma öncesi PEF ön işlemi, kuruma süresini 45 °C'de 70 saatten 40 saate, 60 °C'de 10 saatten 7 saate ve 75 °C'de 6 saatten 4 saate kadar düşürmüştür. Kuruma süresinin kısılması enerji tasarrufuna önemli fayda sağlamıştır. 45 °C'de sıcak hava ile kurutulmuş örneklerde kuruma oranı hafif hızlanırken, 60 ve 75 °C'lerde önemli ölçüde azalma görülmemiştir. PEF + vakumlu kurutma (75 °C) uygulamasının, besinsel kayıpları en aza indirmek ve kuruma oranını artırmak için uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Lammerskitten ve arkadaşları (2020), mango dokusuna 1 kJ/kg (PEF1) ve 3 kJ/kg (PEF2) spesifik enerjiler, 1.07 kV/cm elektrik alan kuvveti, monopolar üstel azalan vurgu, vurgu süresi 40 µs, vurgular arası 0.5 s ve 2 Hz frekans olacak şekilde PEF işlemi uygulamış, sonrasında vakum ve sıcak hava kurutma yöntemi ile 70 °C'de kurutmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, PEF ön işlemi rehidrasyon kapasitesini vakumlu kurutmada %21'e, sıcak hava kurutmada %16 'a kadar düşürmüştür. PEF işleminin renk değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, PEF1 ön işlemi hem sıcak hava hem de vakumlu kurutma işleminde daha koyu kırmızı ve sarı renk değeri göstermiş bunun yanı sıra yüzey parlaklığı düşmüştür. PEF

ön işlemleri görmüş örneklerin fenolik madde içerikleri taze örneklerle kıyasla %70 oranında korunmuştur.

Tylewicz ve arkadaşları (2020), kivi ve çilek dokusuna ozmotik dehidrasyon (OD) öncesi PEF işlemleri uygulanmış (100 ve 200 V/cm, 10 µs vurgu genişliği, 100 Hz frekans ve 10 s işlem süresi), ardından %40'lık sakkaroz ve trehaloz çözeltisine daldırılarak 25 °C'de 120 dak ozmotik dehidrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem, 200 V/cm elektrik alan kuvvetinde çilek örneklerinin antioksidan kapasitesi ve antioksidan aktivitesini sırasıyla %13.6 ve %11.5 artırmış, 100 V/cm'de kivi örneklerinin ise sırasıyla %7 ve %15.6 artırmıştır. Renk değerleri incelendiğinde, 200 V/cm elektrik alan şiddetindeki PEF ve trehalozlu OD kombinasyonunun çilek örneklerinin renginin korunması için en iyi şartları sağladığını rapor etmişlerdir.

Dermesonlouglou vd. (2018), goji meyvesinin kuruma özelliklerini iyileştirmek için ozmotik dehidrasyon (OD) ve PEF ön işlemleri uygulamışlardır. PEF ile ön işlenmiş örnekler (0.9-2.8 kV/cm elektrik alan kuvveti, 1 kHz-1MHz frekans aralığı, 7500'e kadar vurgu sayısı), 55 °C'de 180 dak OD'yu gerçekleştirilmiştir. Ardından 60 °C'de 400 dak kurutulmuştur. PEF ile işlem görmüş örnekler, taze + OD ve dondurulmuş çözündürülmüş + OD ile karşılaştırılmıştır. En yoğun PEF şartında (2.8 kV/cm ve 7500 vurgu) hücre parçalanma indeksi (Z_p), 0.38 olarak rapor edilmiştir. PEF ön işlemleri, kütle transferini pozitif olarak etkileyerek kurumayı geliştirmiştir.

Yamada ve arkadaşları (2020), ispanağa kurutma öncesi PEF ön işleminin kuruma hızı üzerindeki etkilerini çalışmışlardır. Ispanak dokusuna PEF işlemleri uygulanmış, (3 kV/cm elektrik alan kuvveti, 1 µs vurgu genişliği, 1 vurgu sayısı, işlem süresi 15 dak, toplam enerji girişi 7.1 j/g olacak şekilde) ardından 50 °C'de sıcak havayla kurutulmuştur. PEF işlemleri uygulanmış örnekler işlem görmemiş örneklerle karşılaştırıldığında kurutma süresinin 3.5 saatten 2 saate düştüğü rapor edilmiştir. Bu çalışmada, kurutma öncesi PEF ön işleminin yapraklı sebzelerde kurutma hızını iyileştirdiği sonucuna varılmıştır.

Lammerskitten ve arkadaşları (2020), çilek meyvesine PEF uygulamış (1 kV/cm elektrik alan kuvveti, vurgular arası 0.5 s monopolar üstel azalan vurgu ve vurgu süresi 40 µs olacak şekilde) ardından dondurarak kurutmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğinde, PEF işlemleri sonrasında meydana gelen elektroporasyon olayı ile oluşan gözenekler (porlar), işlem görmemiş örneklerle kıyaslandığında dokuda daha büyük ve homojen bir dağılım sağlamıştır. Böylece kurutulan çilekler daha hacimli bir yapı ve görsel olarak daha iyi bir kalite sergilemiştir. L^* a^* b^* değerleri incelendiğinde, PEF ile muamele edilmiş dokuların daha iyi bir renk kalitesine sahip olduğu görülmüştür.

Neri ve arkadaşları (2021), sıcak havayla kurutma öncesi safranın kalitesi, rengi, tadı, aroması ve fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesi üzerine PEF'in potansiyelini incelemişlerdir. Safran dokusuna, PEF ön işlemleri uygulanmış (2 kV/cm elektrik alan kuvveti, 50 dikdörtgen şeklinde vurgu, 20 µs vurgu genişliği, 1ms toplam işlem süresi, 50 Hz frekans olacak şekilde) sonra 45 °C'de 120 dak sıcak hava kurutma gerçekleştirilmiştir. Kurutma işlemi safran tat, aroma ve renginde artışlara neden olmuş, özellikle PEF ön işlemleri sonrası kurutulan örneklerin aromasında %177, renk gücünde %40 artış görülmüştür.

Liu ve arkadaşlarının (2020) yaptığı çalışmada, vakum kurutma öncesi PEF ön işleminin havucun kalite özellikleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Havuç dilimlerine PEF ön işlemleri uygulanmış (0.6 kV/cm, monopolar 10 vurgu, 100 µs vurgu süresi ve vurgular arası 10 ms olacak şekilde), ardından 25, 50, 75 ve 90 °C sıcaklıklarda vakumlu olarak kurutulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, sıcaklığın yükselmesiyle birlikte toplam kuruma süresi işlem görmemiş ve PEF ön işlemleri görmüş örnekler için sırasıyla 6 saatten 1.5 saate ve 2.7 saatten 1 saate düşmüştür. β-karoten içeriği ise 25 ve 90 °C'de işlem görmemiş örneklerde, sırasıyla 137 mg/100g ve 131 mg/100g iken PEF ön işlemleri görmüş örneklerde 170 mg/100g ve 155 mg/100g olarak rapor edilmiştir.

Patates dokusuna PEF ön işlemleri uygulanmış (600 V/cm elektrik alan kuvveti, 100 monopolar vurgu, 100 µs vurgu süresi ve vurgular arası 10 ms olacak şekilde) ardından farklı sıcaklıklarda (40, 50, 60 ve 70 °C olmak üzere) vakum kurutma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Kurutma sıcaklığının artmasıyla kuruma süresi daha da kısalmış, PEF ön işleminin kuruma süresini %22-27 oranında azalttığı tespit edilmiştir (Liu vd., 2018b).

PEF İşleminin Potansiyel Olumsuz Yönleri

Günümüz itibarıyla PEF işleminin gıda güvenliği açısından riskli olduğuna dair bilgilere literatürde rastlanılmamaktadır veya sınırlı bilgi sunulmuştur. Bu konuda çalışmalar daha çok elektrot yüzeyindeki elektrokimyasal reaksiyonlar, serbest radikal oluşumu ve elektrotun korozyonu üzerinde odaklanmış durumdadır (Pakhomova vd., 2012; Zhang vd., 2011). Ortam özelliklerinin ve PEF parametre büyüklüklerinin bu reaksiyonların oluşumunda rol oynadığı ifade edilmiştir (Morren vd., 2003). Örneğin, yüksek elektriksel iletkenlik ortamının suyun elektrolizini artırdığı, ortamda klorürün bulunması halinde toksik klor bileşiminin oluştuğu rapor edilmiştir (Hülshager vd., 1981).

PEF'in kurutmada meydana getirebileceği olumsuzluklar hakkında, enzimatik aktivitedeki değişimler daha ön planda ortaya çıkmaktadır. Sağlam dokuda hücre ve duvarlarında tutunan enzimler, elektroporasyon sonrası substratlarına oksijen varlığında erişme imkanına kavuşmaktadır. Bu durum özellikle düşük sıcaklıktaki kurutmada, kuruma süresinin uzamasıyla daha da belirginleşmektedir. PEF ile muamele edilmiş bazı dokuların belirgin bir şekilde koyulaşması, polifenol oksidaz (PPO) enzimlerinin vakuolden salınan fenolik maddeler ile reaksiyonuna işaret etmektedir (Grimi vd., 2010; Janositz vd., 2011). Bundan başka, elektroporasyon sonrası diğer biyoaktif bileşikler ve renk maddeleri de enzimatik ve oksidatif bozulmalara açık hale gelmektedir. Yapılan bir çalışmada, havuç dokusuna uygulanan PEF işlemleri, β-karoten zincirinin oksidasyonunu teşvik ederek toplam karotenoid içeriğini azalmasına neden olmuştur (Wiktor vd., 2015).

SONUÇ

Yapılan çalışmalara göre PEF uygulamasının, meyve ve sebze kurutma prosesinde bir ön işlemler aşaması olarak kullanımı önemli avantajlar sağlamaktadır. Geleneksel kurutma yöntemlerinin aksine PEF, bitkisel dokulara elektrik alan uygulaması sonucu hücre zarının hasarı ile kütle transferini artırıp, dokudan su çıkışını kolaylaştırmaktadır. Bu teknik, kurutma proseslerinde işlemler süresini kısaltarak daha düşük enerji tüketimi sağlamaktadır. PEF aynı zamanda ısı olmayan bir teknoloji olduğu için ısıya duyarlı hücre bileşenlerinin termal hasarını minimuma indirerek besinsel ve fiziksel kaliteyi iyileştirmeye yardımcı olmaktadır. Meyve ve sebzelerde PEF ön işlemleri uygulaması, kurutma sonrası değerlendirilen antioksidan aktivite, vitamin, toplam fenolik madde ve toplam karotenoid içerik gibi birçok özelliğinin daha az kaybı ile sonuçlanmıştır. PEF ön işleminin geleneksel yöntemlerin gıdalarda meydana getirdiği söz konusu kayıpları azaltması, yapılan farklı çalışmalarda ortaya konmuştur. Elektroporasyon olayı ile hücre zarında oluşan gözeneklerin, 55 °C'nin üstündeki kurutma sıcaklıklarında hücre zarının erimesi sonucu önemi kalmamakla birlikte ek bir maliyete sebep olması da vurgulanması gereken ayrı bir konudur. Bu derlemede, çeşitli meyve ve sebzelere kurutma öncesi uygulanan PEF ön işleminin etkileri değerlendirildiğinde gıdanın renk özellikleri, tekstür ve besinsel içeriğinin genelde korunduğu sonucuna varılmaktadır. Ürünlerde daha kaliteli kurutma sağlamak amacıyla PEF'in sağladığı optimum şartlar tespit edilmeli ve bu tekniğin kurutma proseslerinde kullanımının yaygınlaştırılması sağlanmalıdır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Makalenin derlenmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında tüm yazarlar katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

Abbaspour-gilandeh, Y., Kaveh, M., Fatemi, H., Hernández-Hernández, J. L., Fuentes-Penna, A., Hernández-Hernández, M. (2020). Evaluation of

- the Changes in Thermal , Qualitative , and Antioxidant Properties of Terebinth (*Pistacia atlantica*) Fruit under Different Drying Methods. *Agronomy*, 10(9), 1378. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091378>
- Alam, R., Lyng, J. G., Frontuto, D., Marra, F., Cinquanta, L. (2018). Effect of Pulsed Electric Field Pretreatment on Drying Kinetics, Color, and Texture of Parsnip and Carrot. *J Food Sci*, 83(8), 2159–2166. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14216>
- Aldemir, S. (2019). Vurgulu elektrik alanı kullanılarak nanenin esmerleştirilmesi ve yöntemin “Siyah nane çayı” ürünü geliştirilmesinde potansiyelinin incelenmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, Türkiye, 92 s.
- Ando, Y., Mizutani, K., Wakatsuki, N. (2014). Electrical impedance analysis of potato tissues during drying. *J Food Eng*, 121(1), 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.08.008>
- Angersbach, A., Heinz, V., Knorr, D. (1999). Electrophysiological Model of Intact and Processed Plant Tissues: Cell Disintegration Criteria. *Biotechnol Prog*, 15(4), 753–762. <https://doi.org/10.1021/bp990079f>
- Ariza-gracia, M. Á., Cabello, M. P., Cebrián, G., Calvo, B., Álvarez, I. (2020). Experimental and computational analysis of microbial inactivation in a solid by ohmic heating using pulsed electric fields. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 65(2), 102440. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102440>
- Bozkir, H. (2020). Effects of hot air , vacuum infrared , and vacuum microwave dryers on the drying kinetics and quality characteristics of orange slices. *J Food Process Eng*, 43(10), 1–12. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13485>
- Chauhan, O. P., Sayanfar, S., Toepfl, S. (2018). Effect of pulsed electric field on texture and drying time of apple slices. *J Food Sci Technol*, 55(6), 2251–2258. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3142-x>
- Chen, Q., Li, Z., Bi, J., Zhou, L., Yi, J., Wu, X. (2017). Effect of hybrid drying methods on physicochemical , nutritional and antioxidant properties of dried black mulberry. *LWT - Food Sci Technol*, 80(2), 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.017>
- Demiray, E., Tulek, Y. (2017). Degradation kinetics of β -carotene in carrot slices during convective drying. *Int J Food Prop*, 20(1), 151–156. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1147460> Degradation
- Dermesonlouoglou, E., Chalkia, A., Dimopoulos, G., Taoukis, P. S. (2018). Combined effect of pulsed electric field and osmotic dehydration pretreatments on mass transfer and quality of air dried goji berry. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 49(39), 106–115. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.08.003>
- Dziki, D. (2020). Recent Trends in Pretreatment of Food before Freeze-Drying. *Processes*, 8(12), 1661. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pr8121661>
- Emanuel, E., Dubrovin, I., Hanya, E., Pinhasi, G. A., Pogreb, R., Cahan, R. (2020). Eradication of *Saccharomyces cerevisiae* by Pulsed Electric Field Treatments. *Microorganisms*, 8(11), 1684. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/microorganisms8111684>
- Eshtiaghi, M. N., Knorr, D. (2002). High electric field pulse pretreatment: Potential for sugar beet processing. *J Food Eng*, 52(3), 265–272. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00114-5](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00114-5)
- Fauster, T., Giancaterino, M., Pittia, P., Jaeger, H. (2020). Effect of pulsed electric field pretreatment on shrinkage , rehydration capacity and texture of freeze-dried plant materials. *LWT - Food Sci Technol*, 121, 108937. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108937>
- Fincan, M. (2015). Extractability of phenolics from spearmint treated with pulsed electric field. *J Food Eng*, 162, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.04.004>
- Foster, K. R. (2008). Dielectric Properties of Tissues. In: *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering* (2nd ed.), W. Gary B. Gary

- (Eds.), CRC Press, Pennsylvania, USA, pp. 832-842.
- Gaylor, D. C., Prakah-Asante, K., Lee, R. C. (1988). Significance of Cell Size and Tissue Structure in Electrical Trauma. *J Theor Biol*, 133(2), 223–237. [https://doi.org/10.1016/S0022-5193\(88\)80007-9](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(88)80007-9)
- Ghafoor, K., Juhaimi, F. A., Özcan, M. M., Uslu, N., Babiker, E. E., Ahmed, I. A. M. (2020). Total phenolics , total carotenoids , individual phenolics and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome as affected by drying methods. *LWT - Food Sci Technol*, 126, 109354. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109354>
- Grabowska, J., Marcin, K. (2021). Bioactive compounds, antioxidant activity, and sensory qualities of red-fleshed apples dried by different methods. *LWT - Food Sci Technol*, 136, 110302. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110302>
- Grimi, N., Mamouni, F., Lebovka, N., Vorobiev, E., Vaxelaire, J. (2010). Acoustic impulse response in apple tissues treated by pulsed electric field. *Biosyst Eng*, 105(2), 266–272. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2009.11.005>
- Guclu, G., Keser, D., Kelebek, H., Keskin, M., Sekerli, Y. E., Soysal, Y., Selli, S. (2021). Impact of production and drying methods on the volatile and phenolic characteristics of fresh and powdered sweet red peppers. *Food Chem*, 338, 128129. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128129>
- Hamid, H., Thakur, N. S., Thakur, A., Kumar, P. (2020). Effect of different drying modes on phenolics and antioxidant potential of different parts of wild pomegranate fruits. *Sci Horti*, 274, 109656. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109656>
- Huang, W., Feng, Z., Aila, R., Hou, Y., Carne, A., Bekhit, A. E.-D. A. (2019). Effect of pulsed electric fields (PEF) on physico-chemical properties, β -carotene and antioxidant activity of air-dried apricots. *Food Chem*, 291, 253–262. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.021>
- Hülshleger, H., Potel, J., Niemann, E. G. (1981). Killing of Bacteria with Electric Pulses of High Field Strength. *Radiat Environ Biophys*, 20(1), 53–65. <https://doi.org/10.1007/BF01323926>
- Izli, N., Izli, G., Taskın, O. (2017a). Drying kinetics , colour , total phenolic content and antioxidant capacity properties of kiwi dried by different methods. *J Food Meas Charact*, 11(1), 64–74. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9372-6>
- Izli, N., Izli, G., Taskın, O. (2017b). Influence of different drying techniques on drying parameters of mango. *Food Sci Technol*, 37(4), 604–612. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.28316>
- Janositz, A., Noack, A.-K., Knorr, D. (2011). Pulsed electric fields and their impact on the diffusion characteristics of potato slices. *LWT - Food Sci Technol*, 44(9), 1939–1945. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.04.006>
- Kakı, H. İ., Balkan, B., Akar, M., Font, A., Güler, F. K., Kalenderli, Ö. (2014). Darbeli Elektrik Alan Uygulamasının Sıvı Gıdaların Pastörizasyonunda Kullanımı. Eleco 2014 Elektrik-Elektronik-Bilgisayar ve Biyomedikal Mühendisliği Sempozyumu, 27 – 29 Kasım 2014, Bursa, Türkiye, s. 230-234.
- Kandušer, M., Miklavčič, D. (2008). Electroporation in Biological Cell and Tissue: An Overview. In: *Electrotechnologies for Extraction from Food Plants and Biomaterials*, E. Vorobiev N. I. Lebovka (Eds.), Springer, New York, NY, pp.1-37.
- Kempkes, M., Simpson, R. (2018). Pulsed Electric Field (PEF) Processing of Fruit and Vegetables. IEEE International Power Modulator and High Voltage Conference (IPMHVC), 3-7 June 2018, Jackson, WY, USA, pp. 499-503.
- Kerr, W. L., Varner, A. (2020). Chemical and physical properties of vacuum-dried red beetroot (*Beta vulgaris*) powders compared to other drying methods. *Dry Technol*, 38(9), 1165–1174. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1619573>
- Khan, M. I. H., Nagy, S. A., Karim, M. A. (2018). Transport of cellular water during drying: An understanding of cell rupturing mechanism in

- apple tissue. *Food Res Int*, 105, 772–781. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.010>
- Knorr, D., Angersbach, A. (1998). Impact of high-intensity electric field pulses on plant membrane permeabilization. *Trends Food Sci Technol*, 9(5), 185–191. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(98\)00040-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(98)00040-5)
- Koç, G. Ç. (2020). The effect of different drying techniques and microwave finish drying on the powder properties of the red pepper powder (*Capsicum annuum* L.). *J Food Sci Technol*, 57(12), 4576–4587. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04496-1>
- Kotnik, T., Rems, L., Tarek, M., Miklavčič, D. (2019). Membrane Electroporation and Electroporeabilization: Mechanisms and Models. *Annu Rev Biophys*, 48, 63–91. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-052118-115451>
- Lammerskitten, A., Shorstkii, I., Parniakov, O., Mykhailyk, V., Toepfl, S., Rybak, K., Dadan, M., Nowacka, M., Wiktor, A. (2020). The effect of different methods of mango drying assisted by a pulsed electric field on chemical and physical properties. *J Food Process Preserv*, 44(12), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14973>
- Lammerskitten, A., Wiktor, A., Mykhailyk, V., Samborska, K., Gondek, E., Witrowa-rajchert, D., Toepfl, S., Parniakov, O. (2020). Pulsed electric field pre-treatment improves microstructure and crunchiness of freeze-dried plant materials: Case of strawberry. *LWT - Food Sci Technol*, 134, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110266>
- Lammerskitten, A., Wiktor, A., Siemer, C., Toepfl, S., Mykhailyk, V., Gondek, E., Rybak, K., Witrowa-rajchert, D., Parniakov, O. (2019). The effects of pulsed electric fields on the quality parameters of freeze-dried apples. *J Food Eng*, 252, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.02.006>
- Lebovka, N. I., Bazhal, M. I., Vorobiev, E. (2002). Estimation of characteristic damage time of food materials in pulsed-electric fields. *J Food Eng*, 54(4), 337–346. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00220-5](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00220-5)
- Leiton-Ramírez, Y. M., Ayala-Aponte, A., Ochoa-Martínez, C. I. (2020). Physicochemical Properties of Guava Snacks as Affected by Drying Technology. *Processes*, 8(1), 106. <https://doi.org/10.3390/pr8010106>
- Lewicki, P. P., Pawlak, G. (2003). Effect of Drying on Microstructure of Plant Tissue. *Dry Technol*, 21(4), 657–683. <https://doi.org/10.1081/DRT-120019057>
- Liu, C., Grimi, N., Lebovka, N., Vorobiev, E. (2018a). Effects of preliminary treatment by pulsed electric fields and convective air-drying on characteristics of fried potato. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 47(2), 454–460. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.04.011>
- Liu, C., Grimi, N., Lebovka, N., Vorobiev, E. (2018b). Effects of pulsed electric fields treatment on vacuum drying of potato tissue. *LWT - Food Sci Technol*, 95, 289–294. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.090>
- Liu, C., Vorobiev, E., Grimi, N., Pirozzi, A., Ferrari, G. (2020). Effects of Pulsed Electric Fields on Vacuum Drying and Quality Characteristics of Dried Carrot. *Food Bioproc Technol*, 13(1), 45–52. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02364-1>
- Liu, Y., Duan, Z., Sabadash, S. (2020). Effect of hot air drying temperatures on drying characteristics and physicochemical properties of beetroot (*Beta vulgaris*) slices. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci*, 615, 012099. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/615/1/012099>
- Llavata, B., García-Pérez, J. V., Simal, S., Cárcel, J. A. (2019). Innovative pre-treatments to enhance food drying: a current review. *J Food Sci*, 35, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.001>
- Maor, E., Sugrue, A., Witt, C., Vaidya, V. R., Desimone, C. V., Asirvatham, S. J., Kapa, S. (2021). Pulsed electric fields for cardiac ablation and beyond: A state-of-the-art review. *Heart Rhythm*, 16(7), 1112–1120. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2019.01.012>

- Mierzwa, D., Pawlowski, A. (2017). Convective drying of potatoes assisted by microwave and infrared radiation-process kinetics and quality aspects. *J Food Nutr Res*, 56(4), 351–361.
- Morren, J., Roodenburg, B., de Haan, S. W. H. (2003). Electrochemical reactions and electrode corrosion in pulsed electric field (PEF) treatment chambers. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 4(3), 285–295. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(03\)00041-9](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(03)00041-9)
- Mousakhani-ganjeh, A., Amiri, A., Nasrollahzadeh, F., Wiktor, A., Nilghaz, A., Pratap-Singh, A., Khaneghah, M. A. (2021). Electro-based technologies in food drying - A comprehensive review. *LWT - Food Sci Technol*, 145, 111315. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111315>
- Nawirska-Olszańska, A., Stępień, B., Biesiada, A., Kolniak-Ostek, J., Oziembłowski, M. (2017). Rheological, Chemical and Physical Characteristics of Golden Berry (*Physalis peruviana* L.) after Convective and Microwave Drying. *Foods*, 6(8), 60. <https://doi.org/10.3390/foods6080060>
- Nemzer, B., Vargas, L., Xia, X., Sintara, M., Feng, H. (2018). Phytochemical and physical properties of blueberries , tart cherries , strawberries , and cranberries as affected by different drying methods. *Food Chem*, 262(4), 242–250. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.047>
- Neri, L., Giancaterino, M., Rocchi, R., Tylewicz, U., Valbonetti, L., Faieta, M., Pittia, P. (2021). Pulsed electric fields (PEF) as hot air drying pre-treatment: Effect on quality and functional properties of saffron (*Crocus sativus* L.). *Innov Food Sci Emerg Technol*, 67, 102592. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102592>
- Onwude, D. I., Hashim, N., Janius, R., Abdan, K., Chen, G., Oladejo, A. O. (2017). Non-thermal hybrid drying of fruits and vegetables : A review of current technologies. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 43, 223–238. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.08.010>
- Ostermeier, R., Giersemehl, P., Siemer, C., Töpfl, S., Jäger, H. (2018). Influence of pulsed electric field (PEF) pre-treatment on the convective drying kinetics of onions. *J Food Eng*, 237, 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.010>
- Ostermeier, R., Parniakov, O., Töpfl, S., Jäger, H. (2020). Applicability of Pulsed Electric Field (PEF) Pre-Treatment for a Convective Two-Step Drying Process. *Foods*, 9(4), 512. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods9040512>
- Pakhomova, O. N., Khorokhorina, V. A., Bowman, A. M., Rodaitė-Riševičienė, R., Saulis, G., Xiao, S., Pakhomov, Andrei, G. (2012). Oxidative effects of nanosecond pulsed electric field exposure in cells and cell-free media. *Arch Biochem Biophys*, 527(1), 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.08.004>
- Radojčin, M., Pavkov, I., Kovačević, D. B., Putnik, P., Wiktor, A., Stamenković, Z., Kešelj, K., Gere, A. (2021). Effect of Selected Drying Methods and Emerging Drying Intensification Technologies on the Quality of Dried Fruit: A Review. *Processes*, 9(1), 132. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pr9010132>
- Rahaman, A., Siddeeg, A., Manzoor, M. F., Zeng, X.-A., Ali, S., Baloch, Z., Li, J., Wen, Q.-H. (2019). Impact of pulsed electric field treatment on drying kinetics , mass transfer , colour parameters and microstructure of plum. *J Food Sci Technol*, 56(5), 2670–2678. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03755-0>
- Ramaswamy, R., Ramachandran, R. P. (2017). Electric Field Analysis of Different Compact Electrodes for Pulsed Electric Field Applications in Liquid Food. IEEE International Power Modulator and High Voltage Conference (IPMHVC), 6-9 July 2016, San Francisco, CA, USA, pp. 160-165.
- Rols, M., Teissie, J. (1990). Modulation of Electrically Induced Permeabilization and Fusion of Chinese Hamster Ovary Cells by Osmotic Pressure. *Biochemistry*, 29(19), 4561–4567. <https://doi.org/10.1021/bi00471a009>
- Rubin, A. E., Usta, O. B., Schloss, R., Yarmush, M., Golberg, A. (2018). Selective Inactivation of

- Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis* with Pulsed Electric Fields and Antibiotics. *Adv Wound Care*, 8(4), 136–148. <https://doi.org/10.1089/wound.2018.0819>
- Rybak, K., Samborska, K., Jedlinska, A., Parniakov, O., Nowacka, M., Witrowa-rajchert, D., Wiktor, A. (2020). The impact of pulsed electric field pretreatment of bell pepper on the selected properties of spray dried juice. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 65, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102446>
- Sagar, V. R., Kumar, P. S. (2010). Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: a review. *J Food Sci Technol*, 47(1), 15–26. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0010-8>
- Sehrawat, R., Nema, P. K., Kaur, B. P. (2018). Quality evaluation and drying characteristics of mango cubes dried using low-pressure superheated steam, vacuum and hot air drying methods. *LWT - Food Sci Technol*, 92, 548–555. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.012>
- Shabbir, M. A., Ahmed, H., Maan, A. A., Rehman, A., Afraz, M. T., Iqbal, M. W., Khan, I. M., Amir, R. M., Ashraf, W., Khan, M. R., Aadil, R. M. (2020). Effect of non-thermal processing techniques on pathogenic and spoilage microorganisms of milk and milk products. *Food Sci Technol*, 41(2), 279–294. <https://doi.org/10.1590/fst.05820>
- Silve, A., Leray, I., Poignard, C., Mir, L. M. (2016). Impact of external medium conductivity on cell membrane electroporation by microsecond and nanosecond electric pulses. *Sci Rep*, 6(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/srep19957>
- Smith, J. C., Biasi, W. V., Holstege, D., Mitcham, E. J. (2018). Effect of Passive Drying on Ascorbic Acid, α -Tocopherol, and β -Carotene in Tomato and Mango. *J Food Sci*, 83(5), 1412–1421. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14118>
- Soliva-fortuny, R., Balasa, A., Knorr, D., Martin-Belloso, O. (2009). Effects of pulsed electric fields on bioactive compounds in foods: a review. *Trends Food Sci Technol*, 20(11-12), 544–556. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.07.003>
- Szadzińska, J., Lechtańska, 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. *Ultrason Sonochem*, 34, 531–539. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.030>
- Takougnadi, E., Boroze, T.-E. T., Azouma, O. Y. (2020). Effects of drying conditions on energy consumption and the nutritional and organoleptic quality of dried bananas. *J Food Eng*, 268(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109747>
- Telfser, A., Galindo, F. G. (2019). Effect of reversible permeabilization in combination with different drying methods on the structure and sensorial quality of dried basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *LWT - Food Sci Technol*, 99(11), 148–155. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.062>
- Tylewicz, U., Oliveira, G., Alminger, M., Nohynek, L., Rosa, M. D., Romani, S. (2020). Antioxidant and antimicrobial properties of organic fruits subjected to PEF- assisted osmotic dehydration. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 62, 102341. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102341>
- Wang, X., Gao, Y., Zhao, Y., Li, X., Fan, J., Wang, L. (2020). Effect of different drying methods on the quality and microstructure of fresh jujube crisp slices. *J Food Process Preserv*, 45(2), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15162>
- Wiktor, A., Sledz, M., Nowacka, M., Rybak, K., Chudoba, T., Lojkowski, W., Witrowa-rajchert, D. (2015). The impact of pulsed electric field treatment on selected bioactive compound content and color of plant tissue. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 30, 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.004>
- Wojdyło, A., Lech, K., Nowicka, P., Hernandez, F., Figiel, A., Carbonell-Barrachina, A. A. (2019). Influence of Different Drying Techniques on Phenolic Compounds, Antioxidant Capacity and Colour of *Ziziphus jujube* Mill. Fruits. *Molecules*, 24(13), 2361. <https://doi.org/10.3390/molecules24132361>
- Wu, X., Wang, C., Guo, Y. (2020). Effects of the high-pulsed electric field pretreatment on the mechanical properties of fruits and vegetables. *J*

- Food Eng*, 274, 109837. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109837>
- Wu, Y., Zhang, D. (2019). Pulsed electric field enhanced freeze-drying of apple tissue. *Czech J Food Sci*, 37(6), 432–438. <https://doi.org/10.17221/230/2018-CJFS>
- Xu, X., Chen, Y., Zhang, R., Miao, X., Chen, X. (2018). Activation of Anti-tumor Immune Response by Ablation of HCC with Nanosecond Pulsed Electric Field. *J Clin Transl Hepatol*, 6(1), 85–88. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2017.00042>
- Xu, Y., Xiao, Y., Lagnika, C., Song, J., Li, D., Liu, C., Jiang, N., Zhang, M., Duan, X. (2020). A comparative study of drying methods on physical characteristics, nutritional properties and antioxidant capacity of broccoli. *Dry Technol*, 38(10), 1378–1388. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1656642>
- Yamada, T., Yamakage, K., Takahashi, K., Takaki, K., Orikasa, T., Aoki, H., Kamagata, J. (2020). Influence of Drying Rate on Hot Air Drying Processing of Fresh Foods Using Pulsed Electric Field. *IEEEJ Trans Elec Electron Eng*, 15(7), 1123–1125. <https://doi.org/10.1002/tee.23158>
- Yarmush, M. L., Golberg, A., Kotnik, T., Serša, G., Miklavčič, D. (2014). Electroporation-Based Technologies for Medicine: Principles, Applications, and Challenges. *Annu Rev Biomed Eng*, 16, 295–320. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071813-104622>
- Yu, Y., Jin, T. Z., Fan, X., Wu, J. (2018). Biochemical degradation and physical migration of polyphenolic compounds in osmotic dehydrated blueberries with pulsed electric field and thermal pretreatments. *Food Chem*, 15(239), 1219–1225. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.071>
- Yu, Y., Jin, T. Z., Xiao, G. (2017). Effects of pulsed electric fields pretreatment and drying method on drying characteristics and nutritive quality of blueberries. *J Food Process Preserv*, 41(6), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13303>
- Zhang, S., Yang, R., Zhao, W., Liang, Q., Zhang, Z. (2011). The first ESR observation of radical species generated under pulsed electric fields processing. *LWT - Food Sci Technol*, 44(4), 1233–1235. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.016>
- Zhang, Z., Zhang, B., Yang, R., Zhao, W. (2020). Recent Developments in the Preservation of Raw Fresh Food by Pulsed Electric Field. *Food Rev Int*, 00(00), 1–19. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1860083>
- Zhao, J., Chen, S., Zhu, L., Zhang, L., Liu, J., Xu, D., Tian, G., Jiang, T. (2021). Antitumor Effect and Immune Response of Nanosecond Pulsed Electric Fields in Pancreatic Cancer. *Front Oncol*, 10, 621092. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.621092>
- Zimmermann, U. (1986). Electrical Breakdown, Electroporation and Electrofusion. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 105, 176–250. <https://doi.org/10.1007/BFb0034499>

A COMPARISON OF SOLID-PHASE EXTRACTION METHODS FOR BISPHENOL A IN CHEESE SAMPLES

Cemil Kürekci^{1*}, Sait Tan², Ali Arslan³, Sara Betül Özgen⁴, Fatih Sakin⁵

¹ Department of Food Science and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

² Graduate School of Health Sciences, Fırat University, Elazığ, Turkey

³ Department of Food Science and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Fırat University, Elazığ, Turkey

⁴ Research and Application Center for Technology, Research and Development, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

⁵ Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

Received /Geliş: 22.02.2021; Accepted / Kabul: 06.05.2021; Published online / Online baskı: 24.05.2021

Kürekci, C., Tan, S., Arslan, A., Özgen, S.B., Sakin, F. (2021). A comparison of solid-phase extraction methods for bisphenol a in cheese samples. *GIDA* (2021) 46 (4) 848-858 doi: 10.15237/gida.GD21039

Kürekci, C., Tan, S., Arslan, A., Özgen, S.B., Sakin, F. (2021). Peynir numunelerinde bisfenol a için katı faz ekstraksiyon metotlarının karşılaştırılması. *GIDA* (2021) 46 (4) 848-858 doi: 10.15237/gida.GD21039

ABSTRACT

In this study, four different solid phase extraction (SPE) methods were compared for the determination of bisphenol A (BPA) in cheese samples using HPLC-FD. All methods were validated according to the parameters; linearity, recovery, precision, detection and quantification limits (LOD-LOQ). Subsequently, BPA levels were determined in twenty cheese samples commercially available in Elazığ province. All the extraction methods showed good performances for quantitative analysis of PBA, achieving very low LOD (0.16-0.39 µg/kg) and LOQ (0.53-1.30 µg/ kg) values. The average fortification recoveries for spiked BPA (3-30 µg/kg) ranged between 93.1 and 100.8%. 55% of cheese samples had BPA concentration ranging from 0.75 µg/kg to 8.46 µg/kg and estimated daily intake (EDI) was measured as 0,001 µg/kg BW per day. On the basis of EDI, the consumption of cheese itself cannot be considered as significant health problem, but results impose a systematic monitoring of dairy products.

Keywords: Solid-phase extraction, Bisphenol A, cheese, HPLC

PEYNİR NUMUNELERİNDE BİSFENOL A İÇİN KATI FAZ EKSTRAKSİYON METOTLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

ÖZ

Bu çalışmada, dört farklı katı-faz ekstraksiyon metotunun peynir numunelerinden bisfenol A (BPA) ekstraksiyon performansı HPLC-FD kullanılarak kıyaslanmıştır. Metot validasyonları doğruluk, geri kazanım, kesinlik, metodun belirlenme ve tayin alt sınırları (LOD/LOQ), bağıl standart belirsizlik

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ ckurekci@mku.edu.tr,

☎ (+90) 326 245 5313

☎ (+90) 326 245 5704

Cemil Kürekci; ORCID no: 0000-0002-6442-2865

Fatih Sakin; ORCID no: 0000-0001-5377-0322

Ali Arslan; ORCID no: 0000-0002-3011-5592

Sait Tan; ORCID no: 0000-0002-8596-9261

Sara Betül Özgen; ORCID no: 0000-0003-0218-7625

parametreleri ile yapılmıştır. Buna ilaveten Elazığ ilinde satışı sunulan yirmi adet peynir numunesinde BPA miktarı belirlenmiştir. Bütün metotlar BPA'nın kantitatif analizi için düşük LOD (0.16-0.39 µg/kg) ve LOQ (0.53-1.30 µg/kg) seviyelerinde iyi performans göstermişlerdir. Geri kazanım seviyeleri iki farklı ekleme miktarı (3-30 µg/kg) için ortalama %93.1 ve %100.8 aralığında hesaplanmıştır. Peynir numunelerinin %55'inde 0.75 µg/kg ve 8.46 µg/kg miktarları arasında BPA varlığı bulunmuştur ve günlük alım tahmini (EDI) 0,001 µg/kg vücut ağırlığı/gün olarak hesaplanmıştır. EDI sonuçlarına göre, peynir tüketimi tek başına BPA için önemli halk sağlığı riski ortaya çıkartmadığı, fakat sonuçlar süt ve süt ürünlerinde BPA'nın düzenli takibinin yapılması gerektiğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Katı-faz ekstraksiyonu, Bisfenol A, peynir, HPLC

INTRODUCTION

Bisphenol A (BPA), 2,2-Bis (4-hydroxyphenyl) propane, is a phenolic compound which is composed of two phenol molecules attached to an acetone molecule (Staples vd., 1998). BPA has been widely utilized in the synthesis of industrial chemical compounds including polycarbonates and epoxy resins to produce a variety of products such as water-pipes, toys, food packages, dental filler and etc. (Welshons vd., 2006). Hence, the requirement of BPA has recently exceeded seven million tons per year, and it is expected that the consumption rate will increase year by year (Jiang vd., 2018).

Once the BPA molecules are polymerized, hydrolysis of ester bonds takes place. In the presence of high temperature, the hydrolysis accelerates either in acidic or basic medium. In other words, when polycarbonate materials or metal cans are heated, BPA occurs owing to hydrolysis of the ester bonds (Welshons vd., 2006). Therefore, numerous studies reported the occurrence of BPA in many products of food contact materials including infant feeding bottles by migrating from polycarbonate (Geens vd., 2012). Inner parts of thin cans are generally covered by epoxy resins to protect the food from any possible corrosion. However, during the synthesis of these epoxy resins, BPA is intensified with epichlorohydrin to form BPA diglycidyl, and at the end of the polymerization, a trace amount of BPA migrates from the resin to the food matrix (Vandenberg vd., 2009). The fact that many factors such as type of foods and its lipid ingredients, pH, temperature and contact time have been shown to affect the release of BPA into the food matrices. Also, ethanol concentration increases the BPA migration into the food media

because of the easy polycarbonate depolymerization (Mercogliano and Santonicola, 2018).

Based on the mounting evidence obtained from the recent studies, BPA is reported as endocrine-disrupting chemical (EDC) and such chemicals affect the performance or role of the endocrine system by imitating or obstructing endogenous hormones even at very low doses and this causes excess or low production of hormones (Giulivo vd., 2016). Additionally, it has been proven that BPA could be the cause of many health defects including cancers (especially breast, testicular and ovary), fecundity problems, obesity, and diabetes (Seachrist vd., 2016). For exposure dose of BPA, the safety standard regulated in 1988 for the first time by US Environment Protection Agency established the safety exposure level as 50 µg of BPA per kg body weight (BW) per day (USEPA, 1993). In 1996, European Commission classified BPA as an exterior by-product owing to their adverse effects on human health (European Commission, 1996). Later on, the tolerable daily intake (TDI) of BPA was reduced to 4 ng/g BW/day by the European Food Safety Authority in 2015 (EFSA, 2015).

The serious health effects necessitated the rapid, simple and reliable detection of BPA in various food stuffs, which has been carried out by using instruments like high-performance liquid chromatography (HPLC), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) and capillary electrophoresis (Ballesteros-Gómez vd., 2009). Before the instrumental analysis, the common sample preparation procedures for extracting BPA out of biological samples consist

of many steps including but not limited to solvent extraction, purification, intensification and/or separation. The efficiency of extraction is highly variable depending on type of solvents, reagents used, extraction time, and size of samples. For these purposes, there are many extraction procedures described in the literature such as solid-phase extraction (SPE), liquid-liquid extraction (LLE), microwave-assisted extraction (MAE), stir-bar sorptive extraction (SBSE), surfactant-based extraction and ultrasonic-assisted extraction (Ballesteros-Gómez *vd.*, 2009). Among these, SPE, based on an analyte separation system subjecting the sample through a solid trap with mobile phase, has been the most widely applied method owing to its high sensitivity, a wide range of applicability, and less solvent consumption (Andrade-Eiroa *vd.*, 2016). It is crucial to select an appropriate absorbent phase for SPE cartridges, which are comprised of different bonding materials. The most known SPE absorbent phases are octadecylsilane (C-18), silica gel, florisil and aminopropyl for the effective extraction (Turner *vd.*, 2009). Although there are several different types of SPE cartridges, C-18 cartridges are principally used for BPA analysis (Grumetto *vd.*, 2008; Kang and Kondo, 2003; Sadeghi *vd.*, 2016).

Recently, there have been numerous SPE studies established and validated for assessing BPA presence and levels in various food matrices (Azzouz *vd.*, 2018). Prior to the SPE device application, sample pretreatment steps such as pre-extraction into solvents, precipitations/filtration of impurities and the pH adjustments, however, vary widely based on the physicochemical characteristic matrices (Rezaee *vd.*, 2009). Even though there are few reports clearly documenting the presence of BPA in raw milk and dairy products (Grumetto *vd.*, 2013; Mercogliano *vd.*, 2021; Sadeghi *vd.*, 2016; Santonicola *vd.*, 2019), there has been no study attempting to evaluate the effect of different sample pretreatment steps, solvents used in SPE, SPE phase types and as well as different SPE schemes on the extraction efficacy of BPA from cheese products. Hence, this study aimed to compare the extraction efficiency of four

different methods (Grumetto *vd.*, 2008; Kang and Kondo, 2003; Sadeghi *vd.*, 2016) on the recovery ratios of BPA in cheese samples by means of validation criteria and practicability (solvent and its quantity, sample volume, total extraction time and SPE cartridge cost). These extraction methods were selected based on different work-up procedures, extraction solvents and SPE cartridges [silica-based; Sep-pak (SPK) (Waters, Milford, MA USA), Strata (STR) (Phenomenex, California, USA), Finisterre (FIN) (Spain), Affinimip® Spe BPA Affinisep/Polyintell (AFF) (Paris, France)]. Afterward, twenty cheese samples including Tulum (TC) and white brined pickled (WPC) were analyzed for determination of BPA occurrence.

MATERIALS AND METHODS

Material

In order to obtain BPA free cheese for validation, the curd prepared with cow's milk was obtained from a local dairy plant. Physico-chemical characteristics of the curd (pH, dry matter, titratable acidity, fat, and protein) were determined by using methods recommended by AOAC (1995). All measurements and analysis were carried out three times and the mean data was calculated from these replicates. The pH, titratable acidity (%), dry matter (%), fat (%) and protein (%) of the curd were found to be 5.05, 0.64, 45, 28.5 and 37, respectively.

Chemicals and reagents

BPA standard was purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) and methanol, ethanol, acetonitrile, acetone, chloroform, n-hexane were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). The chemicals used for the mobile phase were liquid chromatography grade, and others were analytical grade. Additionally, ultra-pure water (UP-H₂O) was obtained from ELGA HPLC ultrapure water system (Ubstadt-Weiher, Germany).

HPLC instrumentation

Shimadzu-LC-20AD (Shimadzu, Kyoto, Japan) model HPLC system equipped with a multi-wavelength fluorescence detector (RF-20AXL, Shimadzu, Kyoto, Japan) was used for BPA analysis.

GL Sciences Inertsil ODS-3 column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm particle size) (Tokyo, Japan) was used for the separation of BPA and 20 μL sample loop was equipped on the manual injection part. A mixture of UP-H₂O: acetonitrile (55:45, v/v) was utilized as mobile phase with a flow rate of 1.0 mL min⁻¹. Moreover, the RF detector was set with excitation: 224 nm, emission: 308 nm and the column temperature was 40 °C. Prior to the analysis, the HPLC column was conditioned with the mobile phase for at least 30 min to reach stable baseline, and after each analysis, the column was washed from all contaminants with UP-H₂O: acetonitrile (30:70) for 20 min. Quantification was based on peak area measurement.

Extraction procedures

Method I using Affinisep SPE cartridge

Extraction procedure using Affinisep SPE cartridges was followed as outlined in the supplier's application guidelines. Cheese sample (3.0 g) was mixed with 30 mL water (~50°C). Then, 20 mL of this mixture was combined with 20 mL acetonitrile and centrifuged at 4000 rpm for 10 min. The supernatant was collected and filtered through filter paper (No.4 Whatman). This extract was diluted 1:1 (v:v) with UP-H₂O to form the adding solution. The cartridge was conditioned with 3 mL methanol: acetic acid (98:2, v:v), 3 mL acetonitrile and 3 mL UP-H₂O, respectively. Then, 40 mL of extract (pH adjusted to 5-6) was added into the column that was washed with 9 mL UP-H₂O and 6 mL UP-H₂O: acetonitrile (6:4, v:v). After drying the column about 30 s, elution was done with 3 mL methanol. The elution fraction was then evaporated with gas nitrogen and then dissolved in the 2 mL mobile phase [UP-H₂O: acetonitrile (55:45, v:v)] for HPLC analysis.

Method II using C18 Strata E SPE cartridge

The extraction procedure was carried out according to Grumetto vd. (2008) 150 mL acetonitrile and 20.0 g of cheese sample were mixed and homogenized in Waring blender (New Hartford, CT, USA) for 30 s at high speed. Then, the mixture was filtered through a filter paper (Whatman size 4). For separation of fat in the matrix, the acetonitrile layer was mixed with

n-hexane and shaken strongly for 1 min. After separation, the acetonitrile layer was taken into a rounded-bottom flask and evaporated by a rotary evaporator (IKA, Brandenburg, Germany). The residue remaining in the flask was solved in 6 mL of UP-H₂O: acetonitrile (9:1, v:v).

For cleanup of the extract, the cartridge was conditioned with 5 mL acetonitrile, followed by 5 mL UP-H₂O: acetonitrile (9:1, v:v). Then, 6 mL of the extract was passed through the cartridge which was subsequently cleaned with 20 mL mixture of UP-H₂O: acetonitrile (16:4, v:v). Finally, the cartridges were eluted with 5 mL acetonitrile two times. After the acetonitrile phases evaporation, the extract was dissolved with 10 mL UP-H₂O: acetonitrile (9:1, v:v) to inject to HPLC.

Method III using Finisterre cartridge

This extraction method was carried out according to Sadeghi vd. (2016) with minor modifications (Rezaee vd., 2009). 5 mL of ethanol:UP-H₂O (1:1, v:v) was added to 1.0 g cheese sample and the solution was mixed for 2 min in the ultrasonic chamber. Then, the mixture was centrifuged at 5000 rpm for 40 min and filtered through the filter paper (No.4 Whatman). Then, the final volume was completed to 100 mL with UP-H₂O and pH of the mixture was adjusted to 6-7 by NaOH (10%). The final mixture was applied to the SPE cartridge which was previously conditioned with 4 mL acetone and 4 mL UP-H₂O. For the elution step, 2 mL acetone including chloroform (142 μL) as a dispersive solvent was passed slowly and collected in a clean tube. Then, the cloudy mixture was centrifuged at 6000 rpm for 5 min. After centrifugation, the sedimented phase was transferred into another tube and evaporated in a water bath at 50°C. The residue was dissolved in 1 mL mobile phase, and subsequently analyzed with HPLC.

Method IV using Sep-Pak cartridge

The procedure described by Kang and Kondo (2003) was applied with Sep-Pak cartridge extraction. Homogenized cheese sample (5.0 g) was mixed with 30 mL acetonitrile and 30 mL hexane in a blender (New Hartford, CT, USA).

The mixture was taken into the separatory funnel for about 10 min. The acetonitrile layer was filtered (No.4 Whatman) and evaporated with the rotary evaporator (IKA, Brandenburg, Germany). Then, the residue was dissolved with 6.0 mL UP-H₂O and passed through the cartridges, which were conditioned before with 10 mL methanol and 10 mL UP-H₂O, respectively. The cartridges were cleaned with 20 mL UP-H₂O: methanol (19:1, v:v) and the analyte was eluted with 5 mL methanol into the vials. Finally, the methanol was blown dry using a stream of nitrogen gas and the residue was reconstituted with 5 ml mobile phase, then analyzed by HPLC.

Method validation

Validation of the HPLC method included linearity, sensitivity and precision. BPA stock standard solution was prepared in methanol at a concentration of 100 ng/g. Then, the working solutions were diluted freshly from the stock solution with ultra-pure water. The calibration curve was generated by using 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 and 10.0 µg/kg. Each concentration was injected to HPLC three times and the obtained peak areas were used for the calibration curve.

While limit of detection (LOD) was determined by the lowest concentration of standard equivalent to signal-to-noise ratio of three, the limit of quantitation (LOQ) was calculated from the lowest concentration of the standard that

provided signals equal to 10 times the noise signal of analysis.

The precision was the scaling of results to compare the results with each other. In order to calculate precision, repeatability and within-lab reproducibility was carried out. Repeatability was determined by analyzing the six replicates of spiked blank samples with selected low (3 µg/kg) and high (30 µg/kg) levels in the same day. Within-lab reproducibility was done by two different analysts in three different days with low and high-level spikes. Recovery was calculated according to repeatability results.

Analysis of market cheese samples

Twenty cheese samples (TC; n=10; and WPC; n=10) were randomly purchased from local markets in Elazığ province, Turkey. The samples were taken into the glass jars and stored at – 20°C until the extraction process. Samples were treated using Method IV with Sep-Pak cartridge. The experiments were performed in triplicate and data processing was performed using SPSS software (SPSS, Chicago, USA).

Exposure and hazard assessment

In order to determine the consumer's BPA exposure, the estimated daily intake (EDI) value was calculated using the following formula adapted from Bemrah vd., (2014):

$$EDI (\mu\text{g}/\text{kg BW}) = \frac{\text{the mean concentration of BPA } (\mu\text{g}/\text{kg}) \times \text{the daily mean consumption of cheese per person } (23,3 \text{ g})}{\text{body weight } (65 \text{ kg})}$$

BPA levels lower than LOQ (0.75 µg/kg) were censored and the mean concentration of BPA was calculated on the basis of values over the LOQ level, which was obtained in 55% of cheese analyzed. The estimated annual consumption of cheese is 8.5 kg per person (Hayaloğlu and Özer, 2011), from which the daily cheese consumption per person was calculated.

RESULTS AND DISCUSSION

In the present experiment, we compared the performance of four different methods to obtain BPA from cheese samples. The validation criteria, which have to be met before applying any procedure to quantify a compound from food

matrices, were first examined and the validation results of the extraction methods are provided in Table 1. As can be seen, the average recoveries ranged from 97.6% to 102.3% and from 88.7% to 99.7% at 3 µg/kg and 30 µg/kg, respectively. The highest rate was obtained in method I using affinisep cartridge and the lowest rate was obtained in method IV using sep pak cartridge. These results are much higher than the requirements established by the European Commission (EC, 2002), indicating the high extraction capacity of all methods with high sensitivity. Other studies also noted high recovery rates for skimmed milk (97.6%) using the method

IV with Sep-Pak cartridge (Kang and Kondo, 2003) and for canned peeled tomatoes at the

recovery rate of 94.55% using method II+Strata cartridge (Grumetto *vd.*, 2008).

Table 1. Validation results of different SPE methods

Methods	LOD- LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Calibration curve	Precision						RSD% ^a		Measurement uncertainty (expanded measurement uncertainty) ^b	Extraction time (min)	Cost ^c
			Recovery %					Low level	High level				
			Intra- day RSD%	Inter- day RSD%	3 $\mu\text{g}/\text{kg}$	30 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Mean recovery						
Method I	0.39 - 1.30	Linearity range ($\mu\text{g}/\text{kg}$) = 0.5 - 10	8.8	4.2	102	99.7	100.8	7.8	10.7	0.70	30	21	
Method II	0.24 - 0.79	$R^2 = 0.998$ BPA retention time = 6.2 min	4.7	7.1	102.3	92.7	97.5	4.5	5.9	0.55	60	10	
Method III	0.16 - 0.53		10.6	7.2	97.6	88.7	93.1	6.9	11.7	1.24	60	4	
Method IV	0.23 - 0.75		7.6	7.1	100.2	94.2	94.2	6.5	7.3	1.01	40	7	

^a RSD = standard deviation / mean *100%

^b Expanded Measurement Uncertainty= Combined Standard Uncertainty x 2

^c Cost per unite cartridge (\$USA) in 2018.

The precision of the methods, expressed by relative standard deviation as a percentage (RSD%), was estimated by results of spiked samples in intra and inter days. The precision responses were calculated between 4.7-10.6% and 4.2-7.2% for the inter-day and intra-day precision tests, respectively. The linear response of BPA in the concentration range of 0.5 to 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ without matrix was obtained and the correlation coefficient was found to be 0.998. Figure 1 shows the typical HPLC chromatograms of the BPA from cheese samples before and after being spiked (3 and 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

LODs in the range of 0.16-0.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and LOQs between 0.53 and 1.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ were obtained in this study (Table 1). The lowest LOD and LOQ were recorded for the method III (0.16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.53 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively), and the trend was as follows: method III < method IV < method II < method I. The values were found to be comparable to those reported by Alnaimat *vd.*, (2019) for 0,72 and 0,24 $\mu\text{g}/\text{L}$, LOD and LOQ, respectively, using LC-ESI-MS method. Yang *vd.*, (2014) also noted 0,12 ng/g LOQ for canned fish using Affinisep cartridge. Yet, the limits of quantification and detection are slightly lower than the values reported by Sun *vd.*, (2006) and much better than those obtained by Li *vd.*, (2014) (LOD; 3 $\mu\text{g}/\text{L}$) for BPA determination in drinks using DSMIP. Sadeghi *vd.*, (2016) combined SPE with dispersive liquid-liquid microextraction (SPE-

DLLME-SFO) sample preparation techniques and applied it to the determination of BPA in different food matrices followed by subsequent analysis by HPLC. Authors achieved very low LOD value (0,002 ng/g) with satisfactory recoveries. Loh *vd.*, (2017) also used this technique with slight modification to extract BPA from water and beverage samples and obtained LOD value of 0.02-0.03 $\mu\text{g}/\text{L}$, which is even 10 times lower than that obtained in our experiment. However, SPE-DLLME-SFO method reported by Sadeghi *vd.*, (2016) requires the use of 1-undecanol as extractor solvent, which was found to be making assignment of BPA harder because of the interfering peak on the blank sample chromatogram in preliminary experiment (data not given). A similar observation has also been noted by Nascimento and Rocha (2018), who reported 1-undecanol as unsuitable extractor solvent which presented blank values as high as the analytical response of BPA (100 $\mu\text{g}/\text{L}$) when ethanol was used as eluent solvent on the extraction and analysis of PBA using LLME-HPLC with fluorimetric detection. The other disadvantage of using 1-undecanol is its relatively expensive cost, which also limits its use as extraction solvent. So that, some modifications described by Rezaee *vd.*, (2009) were introduced into the method described by Sadeghi *vd.*, (2016) in order to adapt it to the determination of BPA in HPLC system.

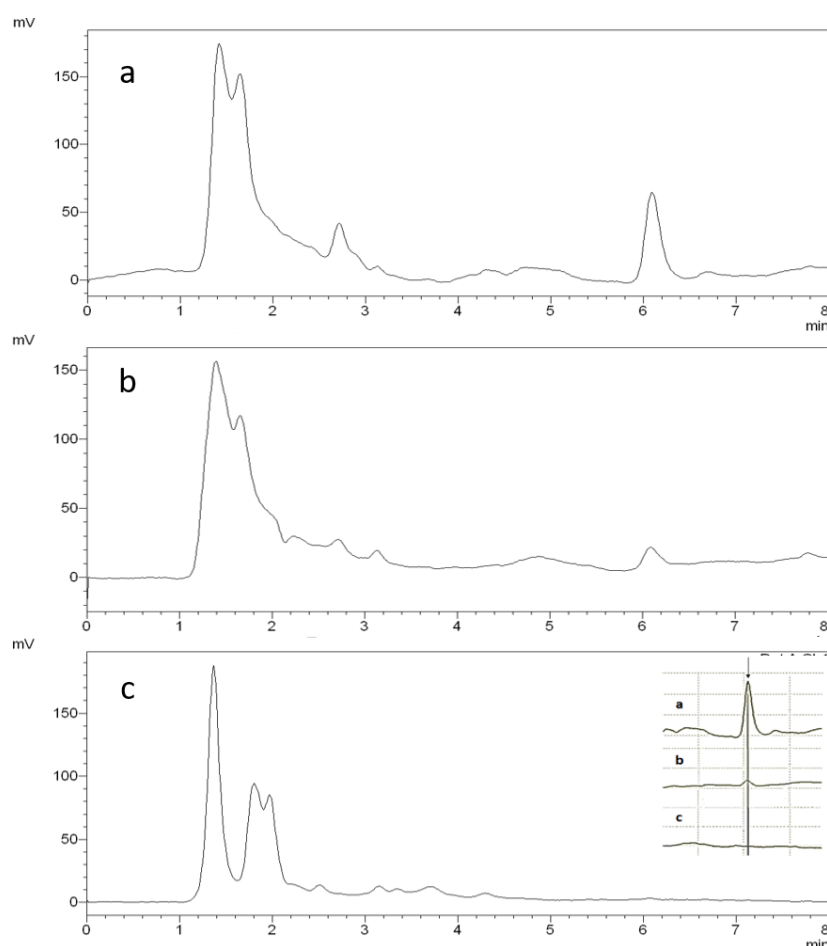


Figure 1. The chromatograms of cheese samples spiked with (a) 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and (b) 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of BPA per kg and (c) non-spiked. Peak identification: (1) PBA.

Table 2. BPA occurrence in cheeses

Contaminant	Residue content n (%)			
	<LOD	LOD – LOQ	LOQ – 4 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	4 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) <
BPA	5 (25%)	4 (20%)	8 (40%)	3 (15%)

As previously indicated, effective extraction of BPA from food matrices varies depending on a variety of factors including the right concentration of the disperser solvent (Rezaee vd., 2006). As the sample size increases, the amount of solvent required for extraction can be enormous and this can increase the treatment costs, occupational risks as well as environmentally dangerous waste. To overcome these drawbacks, various microextraction modified techniques such as SPME (solventless format) and DLLME (dispersive concept) are

developed. However, these techniques have some disadvantages such as expensive SPME fibers, fragile adsorbent layers, low enrichment factor, etc. (Cunha vd., 2012; Vera-Avila vd., 2013). In the current experiment, the methods used three different disperser solvents; namely, acetonitrile, ethanol, and acetonitrile+hexane, all of which resulted in efficient recovery from cheese, fatty food matrix. Method III required a small sample size (as little as one gr) with minimal use of organic solvent (5 mL ethanol). However, method II involved adding a large amount of solvent (150

mL of acetonitrile) to a considerably higher amount of sample (20 gr), which can bring environmental burden.

SPE-based pretreatment methods, as being multistep process, require long treatment time and some sophisticated equipment including cartridges, which has been shown to increase process cost as well as impacting the extraction efficiency (Azzouz *vd.*, 2018). Regarding the extraction time, method I is the fastest of the four methods, requiring about 30 min (Table 1). However, its cartridge is the most expensive in cost, even though this method can be efficient and practical one for larger number of laboratory analyses. In fact, method III was found to require the cheapest cartridge. However, the disadvantage of using method II and III is the significant working up time requirement (almost one h). On the other hand, method IV was found to be rapid enough to be used for the large-scale monitoring with considerably less equipment cost. In view of the satisfactory results, this method appeared to be practical for the analysis of BPA in real cheese samples sold in the market.

BPA was detected in 55% of the analyzed cheese samples using the selected extraction method (method IV), the levels ranging from LOQ (0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$) to 8.46 $\mu\text{g}/\text{kg}$, with the mean concentration of 3.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The result of this study is comparable to the levels reported previously in other countries. For example, Cao *vd.*, (2011) reported BPA concentration of 0.68–2.24 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in cheese samples. In addition, a French study by Bemrah *vd.*, (2014) reported similar BPA concentration in the range of 0.105–6.103 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (mean value of 1.017 $\mu\text{g}/\text{kg}$) in cheese. The presence of BPA in dairy products is not surprising since previous studies indicated the presence of BPA in raw milk samples at 1.3–2.4 ng/g in Iran (Sadeghi *vd.*, 2016) and 0.035–2.776 $\mu\text{g}/\text{L}$ in Italy (Santonicola *vd.*, 2019) and even at levels up to 521.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ in commercial milk samples (Grumetto *vd.*, 2013). For comparison purposes, higher concentration of BPA has been found in other foods of animal origin including in egg (133 ng/g) (Liao and Kannan, 2013) and not canned meat (13 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (Bemrah *vd.*, 2014), yet

somewhat lower in quantified in meat (0.48 $\mu\text{g}/\text{kg}$), poultry liver pate (0.48 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and butter (0.56 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (Włodarczyk, 2015). Noticeable differences in the concentration of BPA were observed among cheese types and samples in the current study. It is a well-known fact that the presence and level of BPA in food matrices are influenced by a variety of factors such as heat treatment and pH levels, and are also highly associated with the migration from their packing during the ripening process or/and storage period.

Dairy products, especially cheese, take an important place in the human diet due to the precious nutrient contents. However, the presence of BPA in these products may lead to significant negative impact on human health. In order to estimate risks from the dietary intake of BPA through cheese consumption, Santonicola *vd.*, (2019) determined BPA level in raw milk samples and subsequently estimated likely quantitative occurrence in cheese. These authors have shown high dietary intake of BPA (the range of 0.0025–0.2235 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of BW per day) for all age groups in Italian population. According to Santonicola *vd.*, (2019), BPA in raw milk with daily intakes of 0.001–0.022 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of BW per day poses risk to humans. In contrast to this study, much lower daily exposure (0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of BW per day) is predicted for adult population in Turkey. Based on the average daily intake, which is much lower than the maximum allowed guideline value of 4 ng/g BW/day established by EFSA (2015), cheese consumption itself is of much lesser significance for the general population in Turkey. This discrepancy could be partially explained by the cheese consumption habits between Turkey (23.3 g/day per person) and Italy (61.8 g/day for adult population) (Santonicola *vd.*, 2019). It is still worth highlighting that dairy commodities, especially cheese preserved in plastic containers, could be an important contributor to the total dietary intake of BPA. For example, a risk estimation by Bemrah *vd.*, (2014), based on their BPA contamination levels in a variety of foods in France, reported the mean daily intake of 0.038–0.040 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of BW for adults (>18 years old). EFSA (2015) has estimated

higher amount of BPA exposure through contaminated food consumption for different age groups of the human population ranging from 0.388 to 0.857 µg/kg of BW per day.

CONCLUSION

Based on the results, all methods used in this work were found to be reliable from the viewpoint of validation performance (good recoveries, precision and etc.) for the extraction of BPA from cheese samples. Therefore, these four methods tested can be recommended for the routine analysis of BPA in dairy products, even though they suffer from some limitations. These methods are limited to specific cartridge, which basically increases the cost. To sum up, method IV was preferable, because it not only provided cost-effective and convenient procedure, but also comparably short processing time. Using the selected method, eleven cheese samples (55%) had BPA, but the resultant daily exposure level through cheese consumption was found to be much less than the maximum permissible intake. Overall, the current study documented the presence of PBA in cheese samples and consequently emphasized the need for further health implications with different exposure scenarios in Turkey.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Hatay Mustafa Kemal University for English editing service.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTION

C.K. and F.S. designed and supervised the study. S.T. and S.B.Ö. performed the validation and experiments. C.K. and A.A. analyzed the data. C.K. prepared the manuscript. A.A. and F.S. edited the manuscript. All of the authors have read the final version of the manuscript and approved its submission for publication.

FUNDING

This work did not get any financial support.

REFERENCES

- Alnaimat AS, Barciela-Alonso MC, Bermejo-Barrera P. (2019). Determination of bisphenol A in tea samples by solid phase extraction and liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Microchem J*, 147, 598-604.
- Andrade-Eiroa A, Canle M, Leroy-Cancellieri V, Cerdà V. (2016). Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). *Trends Analyt Chem*, 80: 641-654.
- Azzouz A, Kailasa SK, Lee SS, Rascón AJ, Ballesteros E, Zhang M, Kim K-H. (2018). Review of nanomaterials as sorbents in solid-phase extraction for environmental samples. *Trends Analyt Chem*, 108: 347-369.
- Ballesteros-Gómez A, Soledad R, Dolores PB. (2009). Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. *J Chromatogr A* 1216: 449-469.
- Bemrah N, Jean J, Rivière G, Sanaa M, Leconte S, Bachelot M., Deceuninck Y, Le Bizec B, Dauchy X, Roudot A-C, Camel V, Grob K, Feidt C, Picard-Hagen N, Badot P-M, Foures F, Leblanc J-C. (2014). Assessment of dietary exposure to bisphenol A in the French population with a special focus on risk characterization for pregnant French women. *Food Chem Toxicol*, 72: 90-97.
- Cao XL, Perez-Locas C, Dufresne G, Clement G, Popovic S, Beraldin F, Dabeka RW, Feeley M. (2011). Concentrations of bisphenol A in the composite food samples from the 2008 Canadian total diet study in Quebec City and dietary intake estimates. *Food Addit Contam*, 28: 791-798.
- Cunha S, Cunha C, Ferreira A, Fernandes J. (2012). Determination of bisphenol A and bisphenol B in canned seafood combining QuEChERS extraction with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 404: 2453-2463.
- EFSA (2015). Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs: executive summary. *EFSA J*, 13: 3978.

- European Commission 2002/657/EC. (2002). Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results, *Off J Eur Commun*, L221: 8 – 36.
- European Commission. (1996). European workshop on the impact of endocrine disruptors on human health and wildlife. Report of Proceedings from a Workshop held in Weybridge, UK, December 2-4, 1996. Report reference EUR 17549, European Commission, DG XII, Brussels, Belgium.
- Geens T, Aerts D, Berthot C, Bourguignon JP, Goeyens L, Lecomte P, Maghuin-Rogister G, Pironnet A-M, Pussemier L, Scippo M-L, Van Loco J, Covaci A. (2012). A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food Chem Toxicol*, 50: 3725-3740.
- Giulivo M, de Alda ML, Capri E, Barceló D. (2016). Human exposure to endocrine disrupting compounds: Their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review. *Environ Res* 151, 251-264.
- Grumetto L, Gennari O, Montesano D, Ferracane R, Ritieni A, Albrizio S, Barbato F. (2013). Determination of five bisphenols in commercial milk samples by liquid chromatography coupled to fluorescence detection. *J Food Protect*, 76: 1590–1596.
- Grumetto L, Montesano D, Seccia S, Albrizio S, Barbato F. (2008). Determination of bisphenol A and bisphenol B residues in canned peeled tomatoes by reversed-phase liquid chromatography. *J Agric Food Chem*, 56, 10633-10637.
- Hayaloğlu AA, Özer B. (2011). Giriş. In A. A. Hayaloğlu and B. Özer (Eds) *Peynir Biliminin Temelleri* (pp. 1-8). İzmir, Sidas.
- Jiang D, Chen WQ, Zeng X, Tang L. (2018). Dynamic Stocks and Flows Analysis of Bisphenol A (BPA) in China: 2000–2014. *Environ Sci Technol*, 52: 3706-3715.
- Kang JH, Kondo F. (2003). Determination of bisphenol A in milk and dairy products by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Food Protect*, 66, 1439–1443.
- Li J, Zhou H, Liu YX, Yan XY, Xu YP, Liu SM. (2014). Solid-phase extraction for selective determination of bisphenol A in drinks and fruits by dummy surface molecularly imprinted polymer with direct synthetic method. *Food Addit Contam*, 31: 1139-1146.
- Liao C, Kannan K. (2013). Concentrations and profiles of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from the United States and their implications for human exposure. *J Agr Food Chem*, 61: 4655–4662.
- Loh SH, Ong ST, Ngu ML, Ariffin MM. (2017). Rapid extraction of bisphenol A by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic. *Sains Malays*, 46: 615-621.
- Mercogliano R, Santonicola S. (2018). Investigation on bisphenol A levels in human milk and dairy supply chain: A review. *Food Chem Toxicol*, 114: 98-117.
- Mercogliano R, Santonicola S, Albrizio S, Ferrante MC. (2021). Occurrence of bisphenol A in the milk chain: A monitoring model for risk assessment at a dairy company. *J Dairy Sci*, 104, 5125-5132.
- Nascimento CF, Rocha FRP. (2018). Spectrofluorimetric determination of bisphenol A in tap waters by exploiting liquid-liquid microextraction in a sequential injection system. *Microchem J*, 137: 429-434.
- Rezaee M, Yamini Y, Shariati S, Esrafil A, Shamsipur M. (2009). Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography-UV detection as a very simple, rapid and sensitive method for the determination of bisphenol A in water samples. *J Chromatogr A*, 1216: 1511-1514.
- Sadeghi M, Nematifar Z, Fattahi N, Pirsahab M, Shamsipur M. (2016). Determination of bisphenol A in food and environmental samples using combined solid-phase extraction–dispersive liquid-liquid microextraction with solidification

- of floating organic drop followed by HPLC. *Food Anal Methods*, 9: 1814-1824.
- Santonicola S, Ferrante MC, Murru N, Gallo P, Mercogliano R. (2019). Bisphenol A in cow milk and dietary exposure at the farm level. *J Dairy Sci*, 102: 1007-1013.
- Seachrist DD, Bonk KW, Ho SM, Prins GS, Soto AM, Keri RA. (2016). A review of the carcinogenic potential of bisphenol A. *Reprod Toxicol*, 59: 167-182.
- Staples CA, Dome PB, Klecka GM, Oblock ST, Harris LR. (1998). A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, 36: 2149-2173
- Sun C, Leong LP, Barlow PJ, Chan SH, Bloodworth BC. (2006). Single laboratory validation of a method for the determination of bisphenol A, bisphenol A diglycidyl ether and its derivatives in canned foods by reversed-phase liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 1129: 145-148.
- Turner NW, Subrahmanyam S, Piletsky SA. (2009). Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chim Acta*, 632: 168-180.
- US Environmental Protection Agency (USEPA). (1993). Bisphenol A. (CASRN 80-05-7), integrated risk information system (IRIS). USEPA, Washington, DC. Available from: <http://www.epa.gov/iriswebp/iris/subst/0356.htm>.
- Vandenberg LN, Maffini MV, Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM. (2009). Bisphenol-A and the great divide: A review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocr Rev*, 30: 75-95.
- Vera-Avila LE, Rojo-Portillo T, Covarrubias-Herrera R, Pena-Alvarez A. (2013). Capabilities and limitations of dispersive liquid-liquid microextraction with solidification of floating organic drop for the extraction of organic pollutants from water samples. *Anal Chim Acta*, 805: 60-69.
- Welshons WV, Susan CN, vom Saal FS. (2006). Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology*, 147: 56-69.
- Włodarczyk E. (2015). Occurrence of bisphenol A and its effects on the human body. *Arch Physiother Glob Res*, 19: 13-26.
- Yang Y, Yu J, Yin J, Shao B, Zhang J. (2014). Molecularly imprinted solid-phase extraction for selective extraction of bisphenol analogues in beverages and canned food. *J Agric Food Chem*, 62: 11130-11137.



EFFECT OF GOOD AND POOR POSTHARVEST HANDLING PRACTICES ON THE LOSSES IN LETTUCE AND TOMATO SUPPLY CHAINS

İbrahim Sani Özdemir*, Hatice Semizer Aksoy
TÜBİTAK Marmara Research Centre, Food Institute, Gebze, Kocaeli, Turkey

Geliş / Received: 12.03.2021; Kabul / Accepted: 18.05.2021; Online baskı / Published online: 24.05.2021

Özdemir, I.S., Semizer Aksoy, H. (2021). Effect of good and poor postharvest handling practices on the losses in lettuce and tomato supply chains. GIDA (2021) 46 (4) 859-871 doi: 10.15237/gida.GD21049

Özdemir, İ.S., Semizer Aksoy, H. (2021). İyi ve yanlış hasat sonrası uygulamaların marul ve domates tedarik zincirlerinde yaşanan kayıplar üzerine etkisi. GIDA (2021) 46 (4) 859-871 doi: 10.15237/gida.GD21049

ABSTRACT

The amount of losses caused by good (GHP) and poor (PHP) practices in the post-harvest processes of lettuce and tomato was determined under real supply chain conditions. Along with the commercial losses, changes in the nutritional and microbiological quality of crops were also quantified. The results showed that the weight loss of lettuce and tomato was reduced three and nine-fold, respectively by GHP during supply chains. The retail-display and transportation of the product in the postharvest process were determined to be the most critical supply chain stages affecting quality. The nutritional quality of crops exposed to PHP has shown differences by both crop and compound. The microbial quality of the produces, however, was adversely affected by the poor postharvest handling practices. In conclusion, still huge amounts of postharvest losses can be avoided if already known good postharvest handling practices are employed with a holistic perspective in produce supply chains.

Keywords: Food waste, postharvest, cold chain, lettuce, tomato

İYİ VE YANLIŞ HASAT SONRASI UYGULAMALARIN MARUL VE DOMATES TEDARİK ZİNCİRLERİNDE YAŞANAN KAYIPLAR ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZ

Marul ve domateste hasat sonrası süreçlerdeki iyi ve yanlış uygulamalar, sonucu oluşan kayıpların miktarı reel tedarik zinciri koşullarında belirlenmiştir. Çalışmada ticari kayıpların yanı sıra, ürünlerin besin içerikleri ve mikrobiyolojik kalitesindeki değişimler de ölçülmüştür. Sonuçlar, marul ve domateste hasat sonrası süreçlerdeki iyi uygulamaların ağırlık kaybında, sırasıyla, üç ve dokuz kat azalmayla sonuçlandığını göstermiştir. Hasat sonrası süreçte, ürünün perakende-teşhiri ve nakliyesinin, kaliteyi etkileyen en kritik tedarik zinciri aşamaları olduğu belirlenmiştir. Hasat sonrası süreçte yapılan yanlış uygulamaların ürünlerin besin kalitesi üzerine etkisi ise ürüne ve bileşiğe bağlı olarak farklılıklar göstermiştir. Buna karşın, hasat sonrasındaki yanlış uygulamaların ürünlerin mikrobiyal kalitesini olumsuz etkilediği de belirlenmiştir. Sonuç olarak, hâlihazırda bilinen hasat sonrası süreçlerdeki iyi uygulamaların, ürün tedarik zincirlerinde bütünsel bir bakış açısıyla kullanılması durumunda hasat sonrası kayıpların büyük ölçüde engellenebileceği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Gıda kayıpları, hasat sonrası, soğuk zincir, marul, domates

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: ibrahim.ozdemir@tubitak.gov.tr

☎: (+90) 262 677 32 75

☎: (+90) 262 641 23 09

İbrahim Sani Özdemir ORCID ID: 0000-0002-6159-0847

Hatice Semizer Aksoy ORCID ID: 0000-0003-4191-6042

INTRODUCTION

With the ever-growing world population and the consequent risk of food shortage in coming years, reducing postharvest food losses became a serious concern more than ever.

Fresh fruits and vegetables are perishable products that can rapidly lose their quality after harvest. The rate and extent of the quality loss are directly related to extrinsic factors such as temperature, relative humidity, and surrounding atmospheric composition (Kader, 2005). Among these factors, the temperature has the most noticeable impact in keeping the quality of fresh produces since a 10°C of increase in temperature can double the rate of majority of the deteriorative reactions, growth of spoilage bacteria, and nutrient loss (Saltveit, 2003). Therefore, keeping the temperature as low as possible throughout the supply chain is the basic strategy applied for reducing postharvest produce losses. Besides, many fruits and vegetables are highly susceptible to transpiration which can result in shriveling or wilting which negatively affects the consumer appeal. Thus, during postharvest handling of fresh produces the relative humidity of the surrounding atmosphere should be kept high either by using appropriate packaging materials or humidification systems during storage, transport, and retail display (Paull, 1999). However, temperature and relative humidity control systems bring extra costs which limit their adoption by fresh produce supply chain actors (Hodges et al., 2011).

There exist several reports aimed at quantifying postharvest losses in fruit and vegetable supply chains. In the majority of these studies, the amount of losses were quantified by estimation using consumption and production data (Lebersorger and Schneider, 2014; Marsh et al., 2001; Mena et al., 2014). Although they provide valuable information about the overall amount of food losses, such studies suffer from the fact that the timing of production and consumption of a unit of food product does not always occur within the same period for which data is reported (Marsh et al., 2001). In some other studies, the amount of fresh produce losses were quantified in simulated

supply chain conditions in terms of temperature and relative humidity (Kelly et al., 2019; Nunes et al., 2011, 2009). However, in real supply chain conditions, factors other than temperature and relative humidity, such as mechanical injuries, microbial contamination, can also negatively affect the quality of the fresh produces which can cause an increase in product losses. Only in a few studies, the postharvest losses were quantified in real supply chain conditions in which the main objective was to quantify the postharvest losses for a specific commodity and country (Gogo et al., 2017; Managa et al., 2018; Rediers et al., 2009). However, to the best of our knowledge, no study has been carried out yet which aimed at comparing the postharvest losses in supply chains with good and poor handling practices. Such studies would be of interest, because, since the results will be obtained from real life conditions, it would be more convincing for different actors of the fresh produce supply chain who are reluctant to invest in necessary infrastructure for better preserving the quality of fresh produces.

The aim of this study, therefore, was to quantify the benefit of applying good handling practices in reducing post-harvest losses, both commercial and nutritional, in real supply chain conditions in comparison with the poor handling practices. The study was carried out on lettuce (*Lactuca sativa* cv. *Lollo rosso*) and tomato (*Solanum lycopersicum* cv. *Kinali*) supply chains which are among the leading fresh produces in terms of production volume.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Both lettuces (*Lactuca sativa* cv. *lollo rosso*) and tomatoes (*Solanum lycopersicum* cv. *Kinali*) were procured from producers located at Antalya province which is one of the major agricultural regions of Turkey. Lettuces was supplied from the glass house of Erüst Tarımcılık A.Ş. and tomatoes from Enerji Tarım A.Ş. The final destination of the produces was Istanbul which is the most agglomerated city of Turkey with 15 million habitants (Turkstat, 2018) and 698 km far from Antalya.

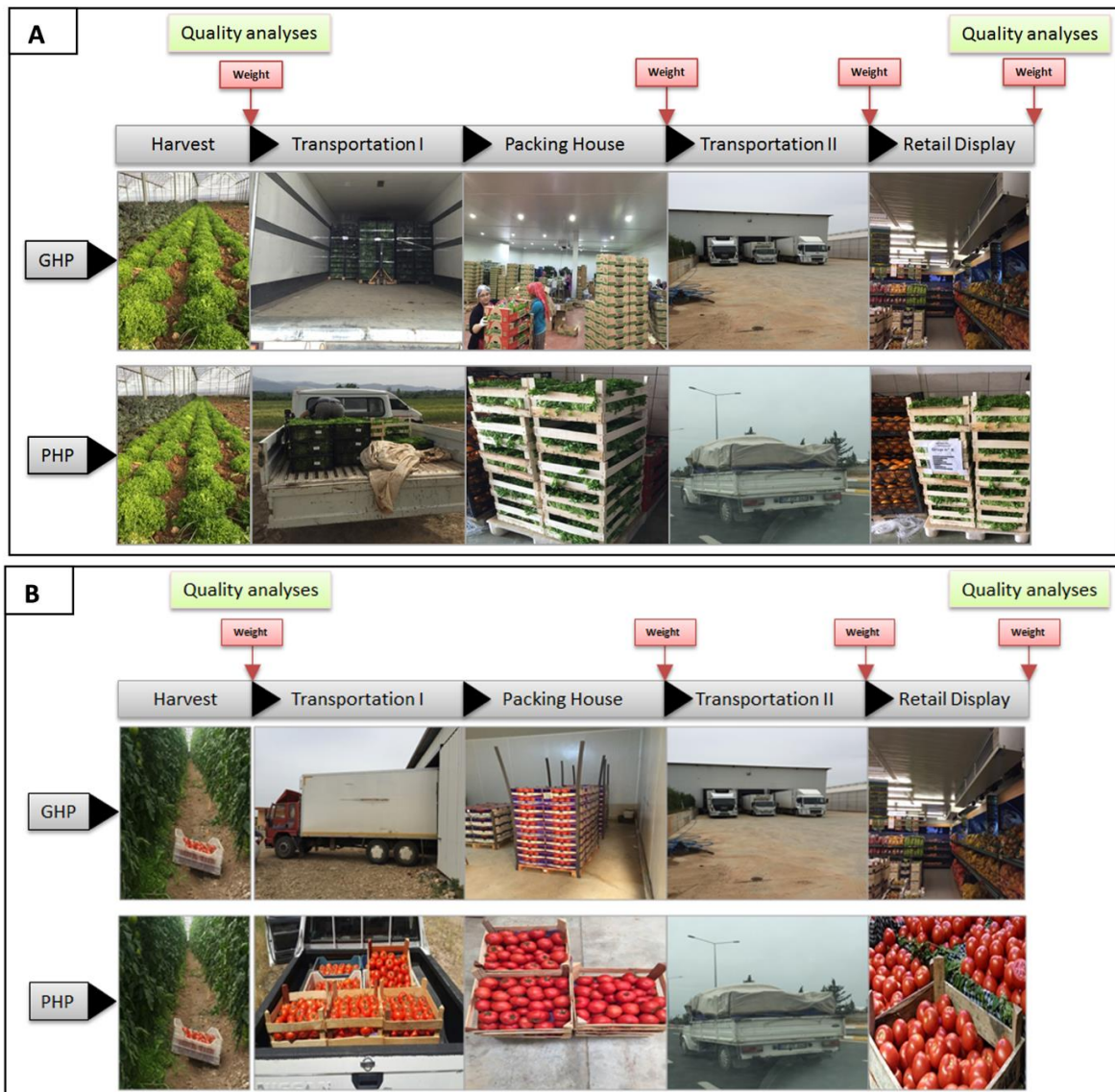


Figure 1 The schematic representation of the structure of A) lettuce and B) tomato supply chains and sampling stages (GHP: good handling practices and PHP: poor handling practices).

Experimental approach

In order to compare the amount of produce losses between GHP and PHP supply chains, firstly, the good and poor postharvest practices were determined for each supply chain stages of lettuce and tomatoes, namely, harvest, transportation, packaging and retail-display. These practices are determined on the basis of the observations of our suppliers and general literature in the field. Regarding the harvest stage, the utilization of over-mature produces and wooden boxes was

considered as the poor practice. For lettuces, when the over-mature heads are forced to fit in the standard wooden boxes to meet the standard number of items expected in a box, they get squeezed and leads to the fracture of the midribs of the leaves. In case of tomatoes, over mature fruits, which are softer, get easily injured during supply chain and accelerates the ripening of the whole batch due to stress-induced ethylene emission. In addition, scratchy surface of the wooden boxes also results in additional injuries.

Therefore, with respect to good handling practices produces should only be harvested at optimum maturity and over mature produces should be avoided. Regarding the packaging stage, lack of packaging for limiting transpiration is considered as poor handling practice for lettuce and tomatoes whereas good handling practice dictates the utilisation of such packaging. For the transportation and retail-display stages, maintaining cool-chain is considered as good handling practice and its absence as poor handling practice. It should be noted that different handling practices also exist for each supply chain stage such as the utilisation of nebulized water spray during retail-display especially when the refrigeration cannot be afforded. However, since in this study it was aimed at comparing the best and worst supply chain scenarios, substitutive applications which are used in the absence of the best practice were omitted.

As can be seen from (Figure 1A-B), two batches of lettuces (or tomatoes), each consisting of 10 boxes, harvested from the same glasshouse were prepared and supplied to the market by applying good and poor handling practices at different stages of the supply chain.

The first batch, comprising lettuces at optimum maturity for marketing, was used for the GHP supply chain study. The second batch comprising overmature lettuces was used for the PHP supply chain study. Plastic and wooden boxes were used for GHP and PHP batches, respectively, and temperature loggers (Trix-8, LogTag, New Zealand), which recorded the temperature at 5 min intervals were placed in one of the boxes of each batch. Before transportation, each batch was weighed (10 boxes together) and samples were taken for the biochemical and microbiological analysis. GHP batch was then transported to the distribution house with a refrigerated truck whereas the PHP batch was transported without refrigeration. It took approximately 30 min to arrive the distribution house. Upon arrival at the distribution house, each lettuce head in the GHP batch was packed with a macro perforated packing film to reduce transpiration. The temperature of the packaging and storage rooms was at 15°C. For the PHP batch, secondary

packing was not done and they were stored at ambient temperature until loading for transportation. The weight of lettuce batches were recorded (weight of secondary packages were subtracted) before transportation to their final destination. GHP batch was transported with a refrigerated trailer in which the temperature was set at 14°C. PHP batch was transported without refrigeration. When upon arrival to the point of sell in Istanbul after a drive of approximately 10 h, lettuce batches were weighed. Then GHP batch was placed at a refrigerated display area of 4°C whereas the PHP batch was displayed at ambient conditions for 2 days. At the end of two days of display period batches were weighed and each lettuce was evaluated for its saleability. Samples from each batch were also taken for the biochemical and microbiological analysis.

For the tomato supply chain study same experimental procedure was followed with the difference that the inside temperature of the trailer for long-distance transportation and display area of the tomatoes were set at 12°C.

Biochemical analysis

Sample preparation

For the biochemical and microbiological analyses of lettuce, 3 heads of lettuces were selected randomly from the 10 boxes constituting the batch. The leaves of each lettuce head were detached from the main rib and, starting from the youngest leaf, every 3 successive leaves were grouped to represent leaves of different maturity. Then, from each group of 3 leaves 1 leaf was randomly selected. These selected leaves were pooled to represent the lettuce head. By this was three samples from the same lettuce head comprising similar amount of leaves of different maturity could be established. One of these samples was used for lutein, β -carotene and riboflavin analysis and other two samples were used for sugar/organic acid and microbiological analysis. In this way, it was aimed at minimizing the effect of leaf maturity on the biochemical and microbial analysis.

For the tomatoes, 27 tomatoes were randomly selected in total from each batch of 10 boxes. Then selected tomatoes were divided into 3 groups comprising 9 fruits. One of these groups were used for lycopene and β -carotene analysis, another for sugar/organic acid analysis and the remaining one for the microbiological analysis. Prior to each analysis homogenates were prepared by using 3 fruits each time which enabled triplicate measurements. All the edible parts of the tomato including the peel and seeds were used for the analysis.

β -carotene, lutein and lycopene analysis

A five g of sample homogenate was mixed with the extraction solution of 50 mL Methanol/THF (1:1, v/v) containing 0.1% (m/v) pyrogallol and filtered under suction. Then extracts were saponified with 12.5 mL of 50 % KOH solution at room temperature for 2 h. The extract was further mixed with 50 mL petroleum ether and the filtrate was washed 2 times with 50 mL 10% NaCl. After solvent evaporation, the remaining residue was dissolved in methanol/THF (1:1, v/v) solution and the total volume was brought to 25 mL. Prior to HPLC analysis, the extract was filtered through a 0.45 μ m polytetrafluoroethylene filter (Lubitech, Songjiang, China).

A twenty μ L of sample was injected into the HPLC system (Shimadzu 20 Series, LC Solutions, Japan). The separation of β -carotene, lutein, and lycopene was performed on a reverse-phase Zorbax® ODS column (ID: 4.6 mm; particle size: 5 μ m). The flow rate of the mobile phase (95% methanol: 5% THF) was 0.8 mL/min. Carotenoids were detected with an UV-detector at 470 nm. The results were the mean of three replicates which were expressed as μ g/100g FW.

Sugars and organic acids

A five g of sample homogenate was mixed with 20 mL of ultra-pure water at 4°C and centrifuged at 25155 g for 20 min at 4°C. The supernatant was filtered through a 0.45 μ m filter (Lubitech, Songjiang, China) and injected into the HPLC system (LC-20AD Prominence, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) equipped with a Rezex RCM

column (300 \times 7.8 mm; Phenomenex, Torrance, CA) at 80°C. The mobile phase was ultra-pure water which was eluted isocratically at a flow rate of 0.6 mL/min. Sugars were detected with a refractive index detector (RID-10A) and the results were expressed as g/100g FW.

The same filtrate was used for the HPLC analysis of organic acids. Separations were carried out on a Rezex ROA column (300 \times 7.8 mm; Phenomenex, Torrance, CA) thermostated at 55°C. The mobile phase was 0.005 N H₂SO₄ with a flow rate of 0.5 mL/min. Organic acids were detected with a diode array detector at 210 nm and 245 nm, respectively. Organic acids were expressed as g/100g FW except for ascorbic acid which was expressed as mg/100g FW.

Riboflavin analysis

A five g of the lettuce homogenate was mixed with 60 mL of 0.1 M HCl. The mixture was then heated in a retort at 120°C for 30 min. After cooling down to room temperature, the pH of the mixture was adjusted to 4.5 with 2 M sodium acetate. Then 250 mg clara-diestase, 50 mg papain, 20 mg alfa-amylase, 0.5 mL acid phosphatase, and 1 mL B-glucosidase enzymes were added. The mixture was let for 3 h in a water bath at 45°C with continuous shaking. After cooling to room temperature, the volume of the mixture was brought to 100 mL with 0.1 N HCl and centrifuged at 4500 rpm for 5 min at 20°C. The supernatant was filtered through a 0.45 μ m filter (Lubitech, Songjiang, China) and 20 μ L of extract was injected into the HPLC (Shimadzu 20 Series, Shimadzu corp., Japan). The riboflavin was separated using an Eclipse XCD-C18 column (pore size 5 μ m, 4.6 \times 150 mm; Agilent), isocratically at ambient temperature with water:methanol (4:1, v/v) at 1 mL/min., also detected with a fluorescence detector. Excitation and emission wavelengths for riboflavin were 445 and 545 nm, respectively. The results were the mean of three replicates which were expressed as μ g/100g FW.

Microbial analysis

Samples of 25 g were homogenized in 225 mL of sterile peptone water solution (0.1%) in a sterile

stomacher bag with a Stomacher (Tekmar, Cincinnati, OH) for approximately 1 min. Ten-fold dilution series were made in peptone water solution. A 0.1 mL sample of each filtrate or its appropriate dilution was spread on agar plates. The culture media and conditions used for the enumeration of the selected microorganisms were as follows: (1) Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar (Merck) containing 100 µg/mL chloramphenicol incubated at 25 °C for 5 days for yeast and moulds; (2) Pseudomonas Agar Base (Oxoid) incubated at 30 °C for 36 h for *Pseudomonas* spp.; (3) Violet Red Bile Lactose (VBRL) Agar (Oxoid) for coliform bacteria at 37 °C for 24 h. Microbial colonies were reported as log cfu/g of tissue.

Saleability ratio

In order to determine the saleability ratio of lettuces, all the lettuce heads in a batch of ten boxes were visually inspected for fresh appearance and absence of defects by 3 assessors, which have prior experience in retailing and fresh produce quality. Then the assessors were asked to trim the outer leaves until reaching the leaves with acceptable visual appearance. The ratio of the difference between the weight measurements taken before and after trimming to the initial weight of the lettuce head was used as a percent

saleability ratio. The saleability ratio of tomatoes was determined by the same assessors who evaluated each tomato for the absence of defects (mold growth, bruises, wilting etc.) which makes tomatoes inapt for marketing. The number of the tomatoes without defects in a batch was expressed in percentage was used as the saleability ratio for the tomatoes.

Statistical analysis

Unless otherwise indicated all the analyses were studied at least in triplicate. The analysis of variance (ANOVA) was used to test the significance ($P < 0.05$) of the mean differences. In order to figure out the significantly different means Tukey's HSD (Honest Significant Difference) test was used. XLStat software, version 2010.2.02 (Addinsoft, Paris, France) was used for the statistical analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

Lettuce supply chain

Weight loss and saleability

The time-temperature histories of the GHP and PHP supply chains were given in Figure 2. The averages of the temperatures recorded all through the supply chains were 7.5°C and 20.0°C, respectively.

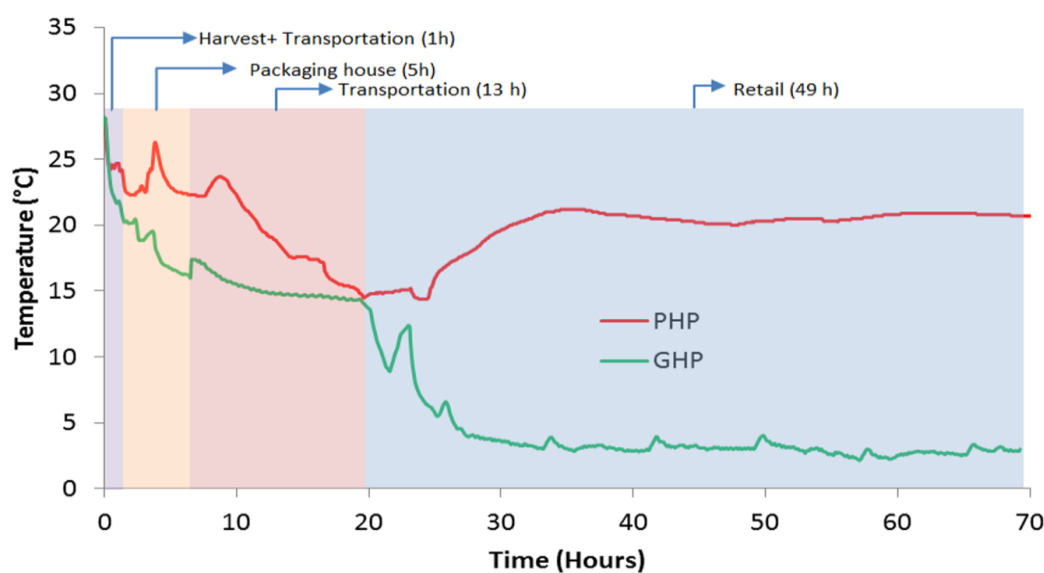


Figure 2 The time-temperature histories of the lettuce supply chain with good (GHP) and poor postharvest handling practices (PHP).

The fresh and turgid appearance of lettuce is the most important criteria which affect the purchasing decision of the consumers and it is strongly linked to the water content of the lettuce (Agüero et al., 2011). The fresh weight loss of leafy vegetables mainly results from respiration and transpiration. During respiration water and carbon dioxide are released as a result of oxidation of carbohydrates, resulting in dry matter loss. However, in leafy vegetables, the weight loss due to respiration is negligible compared to the amount lost due to transpiration if they are stored for periods shorter than 7 days (Wiley, 1994).

Therefore, in the present study, the weight loss of lettuce heads was assumed to occur mainly due to transpiration. The lettuces from the PHP supply chain lost 20 % of their initial weight at the end of the trial whereas lettuces from the GHP supply chain lost only 6.6 % (Table 1). The highest amount of weight loss occurred at retail display and long distance transportation stages which are in line with the findings of Managa et al. (2018) who also reported that the amount of weight loss in crisphead lettuces was the highest at the retail display stage of the supply chain.

Table 1 The duration and weight loss data for each step of lettuce and tomato supply chains (PHP: poor handling practices, GHP: good handling practices). Saleability percentage of lettuces and tomatoes were determined at the end of the retail display period.

Supply chain step	Lettuce			Tomato		
	Duration (h)	Weight loss (%)		Duration (h)	Weight loss (%)	
		PHP	GHP		PHP	GHP
<i>Harvest</i>						
+ <i>Transportation</i>	6	5.4	1.9	4.3	0.5	0.5
+ <i>Packaging House</i>						
<i>Transportation</i>	13	4.8	1.4	16.5	3.2	0.5<
<i>Retail display</i>	49	9.8	3.3	46	0.8	0.5<
<i>TOTAL</i>	68	20.0	6.6	66.8	4.5	0.5
Saleability (%)		0	72		0	100

In general, the price of fruit and vegetables is determined on a weight basis. In this respect, the amount of weight loss corresponds directly to commercial loss. However, the repercussion of the weight loss on the visual appearance, thus, consumer perception is also vital for the determination of the commercial loss. It was reported that consumers do not purchase lettuces which lost more than 3% of water due to their unacceptable wilted appearance (Paull, 1999). As seen from Table 1, in this study the lettuce heads from the PHP supply chain which lost 20% weight were totally unacceptable whereas 72% of the lettuce heads from the GHP supply chain were still saleable which lost only 6.6%. When compared to the threshold value (3% weight loss) reported by Paull (1999) our results for the GHP supply chain can be considered as contradictory. However, in the study of Paull (1999) authors did not quantify the remaining acceptable portion of the lettuces after trimming the wilted leaves as it

was done in this study. Therefore, our results indicate that setting a weight loss threshold value for the visual acceptance of outer leaves of lettuces does not reflect the real amount of lettuce lost due to consumer rejection.

Changes in microbial quality

The changes in the microbiological quality of the lettuces were evaluated on the basis of coliform and *Pseudomonas* counts. Coliforms are generally accepted as indicator bacteria for the hygiene level of the fresh produces (Falomir et al., 2010). The *Pseudomonas spp.* are the most prevalent bacteria which are associated with the spoilage of the lettuces (Geysen et al., 2006). After two days of retail display, the coliform counts were significantly ($P < 0.05$) higher in lettuces subjected to PHP than GHP whereas no significant difference was observed for *Pseudomonas* counts (Table 2). The possibility of contamination due to lack of proper packaging and the high

temperatures from the PHP supply chain might have led to higher coliform counts in PHP supply

chain samples than those from the GHP supply chain in lettuces.

Table 2 Microbial load of lettuces at harvest and at the end of retail display which were supplied through poor (PHP) and good handling practices (GHP).

	At harvest	After 2 days at retail display	
		PHP	GHP
Coliform (logCFU/g)	4.43 ± 0.62a	5.88 ± 0.60b	4.92 ± 0.73a
<i>Pseudomonas</i> (logCFU/g)	3.80 ± 1.04a	5.79 ± 0.40b	5.18 ± 0.75b

Changes in nutritional quality

In lettuce, ascorbic acid, β-carotene, lutein, and riboflavin are known as the major phytochemicals of nutritional value (Kim et al., 2016). As a potent anti-oxidant ascorbic acid content of fruits and vegetables is known to decrease when produces are exposed to stress conditions such as high temperatures during storage and processing. Therefore, ascorbic acid is generally accepted as an indicator compound for the nutritive value of fruits and vegetables (Agüero et al., 2011). The ascorbic acid content of lettuces decreased during the course of the supply chain and the extent of decrease was slightly higher, but not significant ($P>0.05$), in lettuces subjected to PHP than GHP (Table 3). Lutein and β-carotene content of the lettuces from the GHP supply chain decreased significantly ($P<0.05$) at the end of the trial (Table 3). However, compared to values at harvest their content did not show any significant change in lettuces from PHP supply chain. This indicates that the conditions prevailing in PHP supply chain did not show any adverse effect in lutein and β-carotene retention. These results are in confirmation with the findings of Bergquist et al. (2005) who reported that carotenoids retained

better in baby spinach when stored at 10°C than 2°C. Similarly, the lutein and β-carotene contents of mangos (Vazquez-Salinas and Lakshminarayana, 2018), baby-leaf lettuce and salad rocket (Saini et al., 2016) were also found to be better retained when stored at higher temperatures. A significant increase was observed in the riboflavin content of lettuces from both GHP and PHP supply chains. The increase in riboflavin content of lettuces from the PHP supply chain was more marked and 2 folds higher than the values at harvest (Table 3). The literature concerning the effect of postharvest storage on the riboflavin content of fruit and vegetables is rather scarce. Watada (1987) reported that the riboflavin content of potatoes increased during postharvest storage while that of green beans decreased. Riboflavin is known to play an important role in the plant defense system against various biotic and abiotic stress factors (Dong and Beer, 2000). Therefore, the marked increase in the riboflavin content might be due to induction of the riboflavin synthesis as a response to stress factors prevailing in the PHP supply chains such as high temperature, microbial growth, and excessive transpiration.

Table 3 Carotenoids, vitamin, soluble sugar and organic acid content and microbial load of lettuces at harvest and at the end of retail display which were supplied through poor (PHP) and good handling practices (GHP).

	At harvest	After 2 days at retail display	
		PHP	GHP
Lutein (ug/100g)	1166.2 ± 133.8a	1161.7 ± 16.8a	896.0 ± 27.2b
β-carotene (µg/100g)	1728.5 ± 158.5a	1726.5 ± 26.3a	1567.0 ± 66.2b
Riboflavin (µg/100g)	71.8 ± 13.7a	158.0 ± 3.8b	115.3 ± 4.3c
Ascorbic acid(mg/100g)	8.2 ± 1.3a	7.6 ± 0.2a	7.8 ± 0.1a
Fructose (g/100g)	0.65 ± 0.17a	0.58 ± 0.03a	0.66 ± 0.09a
Glucose (g/100g)	0.49 ± 0.18a	0.46 ± 0.05a	0.54 ± 0.11a
Malic acid (g/100g)	0.42 ± 0.02a	0.60 ± 0.22b	0.32 ± 0.10a
Citric acid (g/100g)	0.06 ± 0.01a	0.21 ± 0.09b	0.06 ± 0.02a

The fructose, glucose, malic and citric acid contents of lettuces from the GHP supply chain did not exhibit any significant ($P>0.05$) change at the end of 2 days of retail display in comparison with the values measured at harvest (Table 3). However, the malic and citric acid content of lettuces from the PHP supply chain increased significantly ($P<0.05$) during the same period. Since malic and citric acid are the intermediates of the Krebs Cycle, the increased levels of these organic acids might indicate an increase in the

respiration rate of lettuces due to high temperatures observed in the PHP supply chain study.

Tomato supply chain

Weight loss and saleability

The time-temperature record of the tomato supply chains was given in Figure 3. The averages of the temperatures recorded all through the supply chain were 14.3°C and 28.6°C for GHP and PHP supply chain studies, respectively.

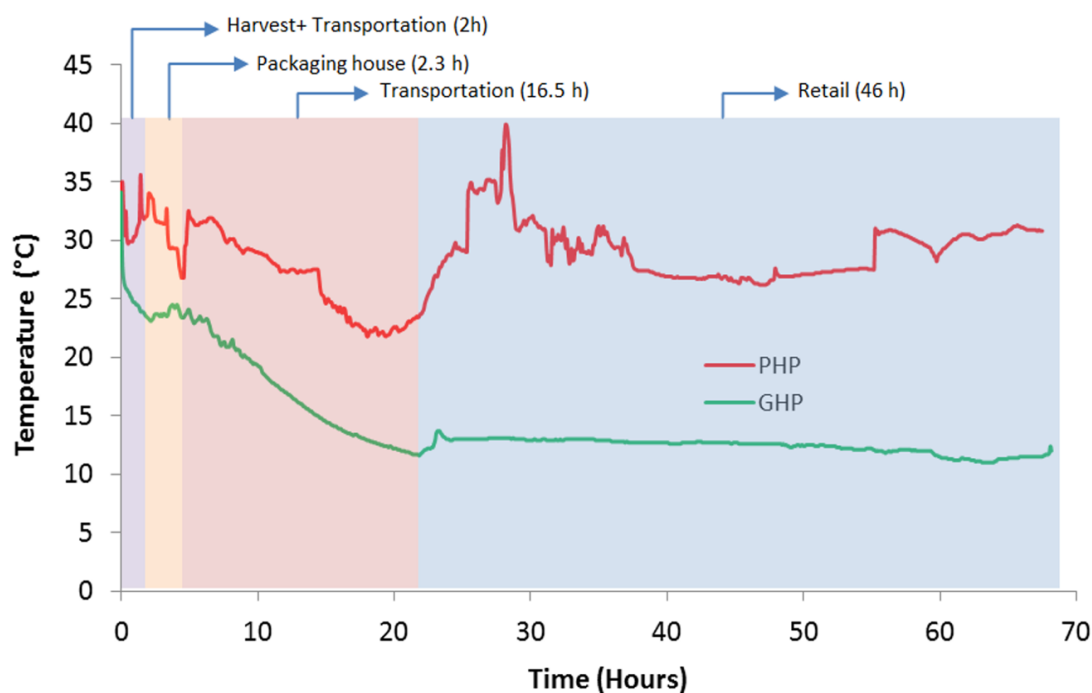


Figure 3 The time-temperature histories of the tomato supply chain with good (GHP) and poor postharvest handling practices (PHP).

Compared to lettuce, tomato is more resistant to water loss due its surface area is narrow and cuticle layer which limits transpiration. As can be seen from Table 1, at the end of two days of retail display tomatoes from PHP supply chain lost 4.5% of their initial weight compared to 0.5% of weight loss observed in tomatoes from GHP supply chain. The extent of weight loss in tomatoes was lower than in lettuce, however, the difference between the PHP and GHP supply chains was higher (9-fold) than the lettuce trial. When the whole supply chain was evaluated, the major stages at which the weight loss was higher

were transportation (3.2%) and retail display (0.8%). As it was also observed in the lettuce study, the weight loss occurred during the supply chain does not reflect truly the real commercial loss, because, when tomatoes were assessed visually for their saleability, the tomatoes from the PHP supply chain were totally unsaleable due to spoilage (Table 1). However, tomatoes of the GHP supply chain were still saleable as no visual defects were observed which could hamper the purchasing decision of the consumers.

Table 4 Microbial load of tomatoes at harvest and at the end of retail display which were supplied through poor (PHP) and good handling practices (GHP).

	At harvest	After 2 days at retail display	
		PHP	GHP
Coliform (logCFU/g)	<1	2.97 ± 0.15	<1
Mold (logCFU/g)	2.53 ± 0.15a	2.58 ± 0.11a	<1

Changes in microbial quality

The microbiological quality of the tomatoes was assessed on the basis of mold and coliform count. As can be seen from Table 4, 2.53 ± 0.15 logCFU/g of mold was detected in tomatoes sampled immediately after harvest. In tomatoes that were subjected to PHP thorough out the supply chain, mold content increased up to 2.58 ± 0.11 logCFU/g which was not significantly different from the initial value. However, in

tomatoes from GHP, no mold was detected at the end of the supply chain. Initially, no coliform bacteria were detected in tomatoes. However, at the end of the supply chain tomatoes subjected to PHP were found to contain 2.97 ± 0.15 logCFU/g of coliform bacteria whereas no coliform bacteria was detected in tomatoes from the GHP supply chain indicating the beneficial effect of GHP on the tomatoes' microbial quality.

Table 5 Carotenoids, vitamin, soluble sugar and organic acid content of tomatoes at harvest and at the end of retail display which were supplied through poor (PHP) and good handling practices (GHP).

	At harvest	After 2 days at retail display	
		PHP	GHP
Lycopene (µg /100g)	6119.8 ± 146.5a	6150.3 ± 38.3a	6016.8 ± 49.3b
β-carotene (µg/100g)	528.4 ± 14.0a	487.6 ± 4.3b	495.8 ± 3.8b
Ascorbic acid(mg/100g)	19.7 ± 0.8a	15.5 ± 0.1b	16.8 ± 0.2c
Fructose (g/100g)	1.45 ± 0.11a	1.38 ± 0.03a	1.35 ± 0.06a
Glucose (g/100g)	1.19 ± 0.04a	1.32 ± 0.01b	1.30 ± 0.03b
Malic acid (g/kg)	0.49 ± 0.05a	0.44 ± 0.06a	0.54 ± 0.01b
Citric acid (g/kg)	5.79 ± 0.36a	6.22 ± 0.27b	5.36 ± 0.33a

Changes in nutritional quality

The change in the nutritional quality of tomatoes was assessed on the basis of major carotenoids, lycopene and β-carotene, and ascorbic acid content (Table 5). Among different nutritive compounds, lycopene was the most abundant and tomatoes were found to contain 6119.8 ± 146.5 µg/100g of lycopene at harvest. The lycopene content of tomatoes at the end of the supply chain from PHP and GHP supply chain trials was not significantly (p>0.05) different. However, β-carotene content of the tomatoes from both supply chains studies was significantly (p<0.05) lower than the values measured at harvest, but these values were not significantly (p>0.05) different from each other. In tomatoes, carotenoids are synthesized through the carotenoid biosynthesis pathway where lycopene serves as a precursor for the synthesis of β-

carotene (Marty et al., 2005). In general, tomato carotenoid content was reported to increase with ripening (Davies et al., 1981). Due to high temperatures attained during PHP supply chain (Figure 3) tomatoes seems to ripen/senescence faster than those from GHP. As a result, slightly higher lycopene and β-carotene contents were observed in tomatoes from PHP than GHP supply chain. The ascorbic acid content of tomatoes was reported to decrease with ripening (Oms-Oliu et al., 2011) and during high temperature storage (Lee and Kader, 2000) confirming our observation that the tomatoes from PHP lost significantly (p<0.05) more ascorbic acid than those from GHP.

The glucose and fructose were the major sugars found in tomatoes (Davies et al., 1981). Sucrose was not detected in any of the samples studied.

Regardless of the supply chain conditions, compared to their initial values at harvest, glucose content of tomatoes significantly ($P < 0.05$) increased whereas fructose content did not show any significant ($P > 0.05$) change at the end of the supply chain trial (Table 5). Regarding organic acids, the citric acid content of the tomatoes from PHP increased significantly ($P < 0.05$) whereas malic acid content did not exhibit any significant ($P > 0.05$) change compared to values measured at harvest (Table 5). An opposite pattern of change was observed for the tomatoes from GHP supply chain. These results were in accordance with the findings of Oms-Oliu et al. (2011) who reported that as fruit begin to ripen, the increased catabolic activity of the malic enzyme and the continued activity of malate dehydrogenase and citrate synthase leads to a decline in malic levels and the preferential accumulation of citric acid in tomatoes.

CONCLUSION

It can be concluded that, still huge amounts of postharvest losses can be avoided if good postharvest handling practices are employed with a holistic perspective in fresh produce supply chains. The supply chain steps at which prolonged exposure to high temperatures occurred, namely, retail display and transportation, were the most critical stages where improvement efforts should be focused. The results of this study also showed that the quantification of commercial loss solely on the basis of weight loss can be misleading as it does not necessarily reflect the saleability of the produces. In prospect, it would be of interest to enlarge the methodology used in this study to other fruits and vegetables in order to have a much wider and complete understanding of the reasons and amounts of the losses occurring in the fresh produce supply chains.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

İbrahim Sani Özdemir designed and directed the project, performed experiments, wrote the article Hatice Semizer Aksoy performed experiments, contributed to the article writing.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was financially supported by Metro Gross Market Bakırköy Alışveriş Hizmetleri Tic. Ltd. Şti. under TUBİTAK MRC project (Project No: 5164107). Authors also would like to thank Tülay ÖZEL and Özgür AYDINLI for their support in field studies.

REFERENCES

- Agüero, M.V., Ponce, A.G., Moreira, M.R., Roura, S.I. (2011). Lettuce quality loss under conditions that favor the wilting phenomenon. *Postharvest Biol Technol*, 59: 124–131, <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.08.018>
- Bergquist, S.Å.M., Gertsson, U.E., Olsson, M.E. (2005). Influence of growth stage and postharvest storage on ascorbic acid and carotenoid content and visual quality of baby spinach (*Spinacia oleracea* L.). *J Sci Food Agric*, 86:346–355, <https://doi.org/10.1002/jsfa.2373>
- Davies, J.N., Hobson, G.E., McGlasson, W.B. (1981). The constituents of tomato fruit — the influence of environment, nutrition, and genotype. *C R C Crit Rev Food Sci Nutr*, 15: 205–280, <https://doi.org/10.1080/10408398109527317>
- Dong, H., Beer, S.V. (2000). Riboflavin induces disease resistance in plants by activating a novel signal transduction pathway. *Phytopathology*, 90: 801–811.
- Falomir, M.P., Gozalbo, D., Rico, H. (2010). Coliform bacteria in fresh vegetables: from cultivated lands to consumers. *Curr Res Technol Educ Top Appl Microbiol Microb Biotechnol*, 2:1175–1181.
- Geysen, S., Escalona, V.H., Verlinden, B.E., Aertsen, A., Geeraerd, A.H., Michiels, C.W., Van Impe, J.F., Nicolai, B.M. (2006). Validation of predictive growth models describing superatmospheric oxygen effects on *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria innocua* on fresh-cut lettuce. *Int J Food Microbiol*, 111: 48–58, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.044>

- Gogo, E.O., Opiyo, A.M., Ulrichs, C., Huyskens-Keil, S. (2017). Nutritional and economic postharvest loss analysis of African indigenous leafy vegetables along the supply chain in Kenya. *Postharvest Biol Technol*, 130:39–47, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.04.007>
- Hodges, R.J., Buzby, J.C., Bennett, B. (2011). Postharvest losses and waste in developed and less developed countries: opportunities to improve resource use. *J Agric Sci*, 149:37–45, <https://doi.org/DOI:10.1017/S0021859610000936>
- Kader, A.A.(2005). Increasing food availability by reducing postharvest losses of fresh produce. *Acta Hort*, 2169–2176, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.682.296>
- Kelly, K., Madden, R., Emond, J.P., do Nascimento Nunes, M.C.(2019). A novel approach to determine the impact level of each step along the supply chain on strawberry quality. *Postharvest Biol Technol*, 147:78–88, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.012>
- Kim, M.J., Moon, Y., Tou, J.C., Mou, B., Waterland, N.L.(2016). Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *J Food Compos Anal*, 49:19–34, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004>
- Lebersorger, S., Schneider, F.(2014). Food loss rates at the food retail, influencing factors and reasons as a basis for waste prevention measures. *Waste Manag*, 34:1911–1919, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.06.013>
- Lee, S.K, Kader, A.A.(2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol Technol*, 20:207–220, [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00133-2](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00133-2)
- Managa, M.G., Tinyani, P.P., Senyolo, G.M., Soundy, P., Sultanbawa, Y., Sivakumar, D.(2018). Impact of transportation, storage, and retail shelf conditions on lettuce quality and phytonutrients losses in the supply chain. *Food Sci Nutr*, 6:1527–1536, <https://doi.org/10.1002/fsn3.685>
- Marsh, K.S., Hammig, M.D., Singer, N.S.(2001). Estimates of international transport losses of world food supply. *J Int Food Agribus Mark*, 12:69–84, https://doi.org/10.1300/J047v12n03_04
- Marty, I., Bureau, S., Sarkissian, G., Gouble, B., Audergon, J.M., Albagnac, G.(2005). Ethylene regulation of carotenoid accumulation and carotenogenic gene expression in colour-contrasted apricot varieties (*Prunus armeniaca*). *J Exp Bot*, 56:1877–1886, <https://doi.org/10.1093/jxb/eri177>
- Mena, C., Terry, L.A., Williams, A., Ellram, L.(2014). Causes of waste across multi-tier supply networks: Cases in the UK food sector. *Int J Prod Econ*, 152:144–158, <https://doi.org/10.1016/j.ijpe.2014.03.012>
- Nunes, M.C.N., Emond, J.P., Dea, S., Yagiz, Y.(2011). Distribution center and retail conditions affect the sensory and compositional quality of bulk and packaged slicing cucumbers. *Postharvest Biol Technol*, 59:280–288, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.10.004>
- Nunes, M.C.N., Emond, J.P., Rauth, M., Dea, S., Chau, K.V. (2009). Environmental conditions encountered during typical consumer retail display affect fruit and vegetable quality and waste. *Postharvest Biol Technol*, 51:232–24, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.07.016>
- Oms-Oliu, G., Hertog, M.L.A.T.M., Van de Poel, B., Ampofo-Asiama, J., Geeraerd, A.H., Nicolai, B.M.(2011). Metabolic characterization of tomato fruit during preharvest development, ripening, and postharvest shelf-life. *Postharvest Biol Technol*, 62:7–16, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.04.010>
- Paull, R.(1999). Effect of temperature and relative humidity on fresh commodity quality. *Postharvest Biol Technol*, 15:263–277, [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00090-8](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00090-8)
- Rediers, H., Claes, M., Peeters, L., Willems, K.A.(2009). Evaluation of the cold chain of fresh-cut endive from farmer to plate. *Postharvest Biol*

- Technol*, 51:257–262, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.07.017>
- Saini, R.K., Shang, X.M., Ko, E.Y., Choi, J.H., Keum, Y.S.(2016). Stability of carotenoids and tocopherols in ready-to-eat baby-leaf lettuce and salad rocket during low-temperature storage. *Int J Food Sci Nutr*, 67:489–495, <https://doi.org/10.3109/09637486.2016.1172059>
- Saltveit, M.E.(2003). Temperature extremes. In: *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*, Bartz, J.A., Brecht, J.K. (Eds.), Marcel Dekker, New York, pp. 457–483.
- Turkstat (2018). Population statistics by provinces [<https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=nufus-ve-demografi-109&dil=1>].
- Vazquez-Salinas, C., Lakshminarayana, S.(2018). Compositional Changes in Mango Fruit During Ripening at Different Storage Temperatures. *J Food Sci*, 50:1646–1648, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb10555.x>
- Watada, A.E.(1987). Vitamins C, B1, and B2 contents of stored fruits and vegetables as determined by high performance liquid chromatography. *J Am Soc Hortic Sci*, 112:794–797.
- Wiley, R.C.(1994). Preservation methods for minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: *Minimally Processed Refrigerated Fruits & Vegetables*, Wiley, R.C. (Ed.), Springer, Boston, MA, pp. 66–134.



FONKSİYONEL GIDA KAVRAMINA YENİ BİR BAKIŞ: POSTBİYOTİKLER

Çağlar Gökırmaklı, Bilgenur Üçgöl, Zeynep B. Güzel-Seydim *

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

Geliş / Received: 05.02.2021; Kabul / Accepted: 05.05.2021; Online baskı / Published online: 24.05.2021

Gökırmaklı, Ç., Üçgöl, B., Güzel-Seydim, Z.B. (2021). Fonksiyonel gıda kavramına yeni bir bakış: Postbiyotikler. *GIDA* (2021) 46 (4) 872-882 doi: 10.15237/gida. GD21035.

Gökırmaklı, Ç., Üçgöl, B., Güzel-Seydim, Z.B. (2021). A new insight of the functional food concept: Postbiotics. GIDA (2021) 46 (4) 872-882 doi: 10.15237/gida. GD21035.

ÖZ

Tüketicilerin fonksiyonel gıda ürünlerine olan talepleri son 20 yılda artmıştır. Bu eğilimin bir sonucu olarak, probiyotik gıda ürünleri pazarında hızlı bir büyüme gözlemlenmiştir. Ancak, probiyotik gıda ürünlerinin raf ömrü, bu pazarı ve tüketici taleplerini karşılamada sınırlayıcı bir faktördür. Bu noktada postbiyotikler, sağlık potansiyellerinin yanı sıra bu tür sınırları aşmak için yeni bir kavram olarak ortaya çıkmıştır. Kısaca postbiyotikler, mikroorganizmalar tarafından üretilen biyoaktif maddeler yani fermantasyon metabolitleridir. Mikrobiyal metabolitler, mikrobiyal hücreler ve bunların bileşenlerini içerebilirler. Çeşitli probiyotiklerden veya aktif olmayan formlarından elde edilebilirler. Son yıllarda, doğasını ve potansiyel sağlık yararlarını anlamak için giderek daha fazla sayıda araştırma yapılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, içerikleri ve potansiyel sağlık yararları ile ilgili postbiyotikler üzerine yapılan güncel çalışmalar hakkında bilgi vermektir.

Anahtar kelimeler: Postbiyotikler, fonksiyonel gıda, prebiyotikler, probiyotikler, sağlık

A NEW INSIGHT OF THE FUNCTIONAL FOOD CONCEPT: POSTBIOTICS

ABSTRACT

Consumer demands on functional food products have been increased for the last 20 years. As a result of this trend, rapid growth in the probiotic food products market was observed. However, the limited shelf-life of probiotic food products is a limiting factor in improving this market and meeting consumer demands. At this point, postbiotics have emerged as a novel concept to exceed these kinds of limits as well as their health potentials. Briefly, postbiotics are bioactive products produced by microorganisms, i.e. fermentation metabolites. They may contain microbial metabolites, microbial cells, and their components. They may obtain from various probiotics or their inactive forms. In recent years increasingly, various investigations have been carried out to understand their nature and potential health benefits. This study aims to review recent studies on postbiotics related to their nature and potential health benefits.

Keywords: Postbiotics, functional food, prebiotics, probiotics, health

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: zeynepseydim@sdu.edu.tr

☎: (+90) 246 211 1681

☎: (+90) 246 237 0437

Çağlar Gökırmaklı; ORCID no: 0000-0002-2572-8589

Bilgenur Üçgöl; ORCID no: 0000-0002-6834-5086

Zeynep B. Güzel-Seydim; ORCID no: 0000-0002-1536-6545

GİRİŞ

Gündelik hayatın hızlı yaşam temposu ve buna bağlı olarak yaygınlaşan hızlı yeme alışkanlıklarının tüketici sağlığı üzerindeki etkileri, bilim insanının çalışmalarına konu olmaya başlamıştır. Fazla yağlı, fazla tuzlu ve fazla şekerli ürünlerin tüketimine bağlı olarak meydana gelen dengesiz şekilde beslenmenin, vücuda zararları sadece mide ve bağırsak sorunları ile kalmayıp, ayrıca, gıda alerjisine, kalp ve damar hastalıkları ile bağışıklık sisteminin zarar görmesine sebep olabilmektedir. Dahası, yeni yapılan çalışmalara göre Parkinson ve Alzheimer gibi nörolojik hastalıklara da sebep olabildiği belirtilmiştir (Homayouni-Rad vd., 2020; Maguire ve Maguire, 2018; Myles, 2014).

Beslenme ve insan sağlığı ilişkisi, yaklaşık 2500 yıl önce, ilk defa Hipokrat tarafından “ilacınız gıdanız, gıdanız ilacınız olsun” ifadesi ile ortaya konulmuştur. Günümüzde ise, kalp, dolaşım sistemi ve obeziteye bağlı rahatsızlıklarda yaşanan artış nedeniyle, tüketicilerin fonksiyonel besinlere ve gıda takviyelerine yönelimi artmıştır. Fonksiyonel gıdalar, besin öğeleri sağlamalarının ötesinde, tüketicisine, ek sağlık faydaları da sağlamaktadır. Bu gıda grubu içerisinde, minerallerden liflere kadar pek çok farklı gıda ve gıda bileşeni dâhildir. Bunlar içerisinde ise, probiyotik gıdalar, sağlık etkileri nedeniyle artan tüketici talebine bağlı olarak, ayrı bir öneme sahiptir (Güneş vd., 2018).

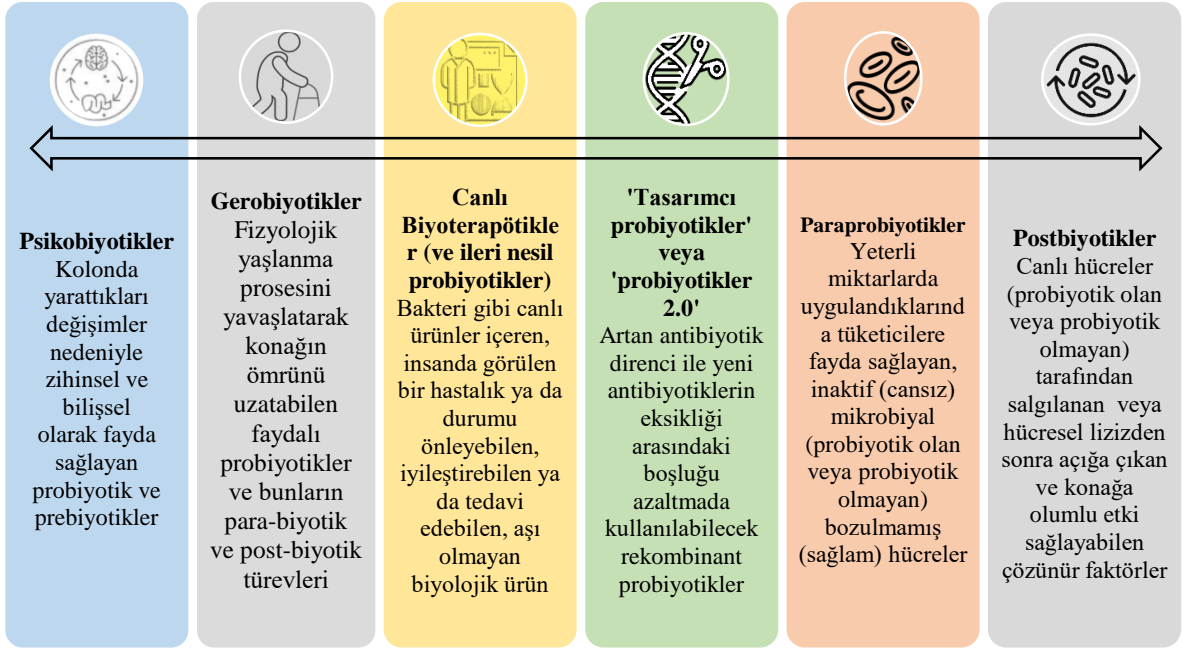
Son zamanlarda yapılan çalışmalar, probiyotiklerle ilişkilendirilen ve postbiyotik, psikobiyotik ve paraprobiyotik gibi farklı yeni kavramların ortaya atılmasını sağlamıştır (Gökırmaklı ve Güzel-Seydim, 2020). Bu çalışmanın amacı postbiyotikler ve sağlık etkileri üzerine güncel bilgileri derlemektir.

PROBİYOTİKLER VE SAĞLIK FAYDALARI

Probiyotikler “vücut için faydalı mikroorganizmalar” temelinde detaylandırılarak yaygın olarak tanımlanmıştır (Arpa-Zemzemoğlu vd., 2019; Erem, 2019; Öztürk-Oruç ve Çakır, 2019; Şengün vd., 2020). Hem probiyotiklerin, hem de tüketilen gıdaların, sağlık üzerinde olumlu etkilerinin olması, bu gıdaların kolon

mikrobiyotasını, kısa süre içerisinde bile olumlu etkileyebilme potansiyelleri ile yakın ilişki içerisinde (Delzenne ve Bindels, 2019; Wargo, 2020). Probiyotiklerin sağlık etkileri olarak; antimikrobiyal (Öztürk ve Gündüz, 2018), antidiyabetik (Kocsis vd., 2020; Zhang vd., 2020), zihin sağlığını iyileştirici (Xiao vd., 2020), nekrotizan enterokolit önleyici (Craighead vd., 2020), anti-enflamatuar ve anti-oksidan (Yang vd., 2020), *Helicobacter pylori* tedavisi için faydalı (Akdeniz vd., 2018), laktoz intoleransı üzerinde faydalı (Akal ve Yetişemiyen, 2020), anti-depresan, hipokolesterolemik (Roobab vd., 2020) etkiler şeklinde faydaları tespit edilmiş olmakla birlikte, her probiyotüğün her hastalık üzerinde aynı etkiyi yaratmadığı belirtilmektedir. Bu durum, probiyotik etkinliğinin kullanılan probiyotik türüne ve hastalığa göre değişebildiği şeklinde özetlenmiştir (D’Angelo vd., 2017; Sniffen vd., 2018). Örneğin, yapılan çalışmalar, bazı spesifik probiyotiklerin antibiyotik ilişkili ishal, *Clostridium difficile* enfeksiyonu, huzursuz bağırsak sendromu, enflamatuar bağırsak hastalığı, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, hastane enfeksiyonları, turist ishali ve akut pediatrik ishal üzerinde olumlu etkilere sahip olduğuna dair güçlü kanıtlar sunmaktadır (McFarland, 2018).

Probiyotikler, sadece kefir (Hikmetoğlu vd., 2020), yoğurt (Azizkhani vd., 2020) gibi yaygın olarak piyasada olan doğal gıda ürünlerinde değil, çeşitli fırıncılık ürünleri (Erem, 2019), farklı meyve suları (karpuz, çilek, frenk üzümü suyu vb.) (Perricone vd., 2015; Öztürk vd., 2019) ve bitkisel temelli sütlerde (hindistan cevizi sütü, soya sütü, badem sütü vb.) (Erk vd., 2019) uygulama alanı bulmuştur. Probiyotiklere ek olarak, günümüzde, postbiyotikler (Nataraj vd., 2020), psikobiyotikler (Marx vd., 2020), para-probiyotikler, gerobiyotikler (Tsai vd., 2021), biyoterapötikler, yeni nesil probiyotikler (O’Toole vd., 2017) ve tasarımcı probiyotikler (Paton vd., 2006) şeklinde yeni ve inovatif kavramlar literatürde yerini almıştır. Yeni olan bu kavramların postbiyotikler ile aralarında olan farklılıklar Şekil 1’de özetlenmiştir. 2013 yılında, küresel probiyotik pazarı yaklaşık 36 milyar USD iken, bu değer 2020’de yaklaşık 52 milyar USD olacağı belirtilmiştir (Sarkar, 2016; de Simone, 2019).



Şekil 1. Probiyotiklerle ilişkili yeni kavramlar. Bu şekil için Sarkar vd., (2016); O'Toole vd., (2017); Singh vd., (2017); Cuevas-González vd., (2020); Tsai vd., (2021) tarafından yapılan çalışmalardan faydalanılmıştır.

PREBİYOTİKLER VE SAĞLIK FAYDALARI

Kolon mikrobiyotasına pek çok faktör etki etmektedir. Beslenme, kolon mikrobiyotasının içeriğindeki tüm canlılar için temel enerji kaynağıdır. Özellikle sindirilemeyen karbonhidratlar, kolon mikrobiyotasının kompozisyonunu önemli düzeyde etkileyebilmektedir. Sindirim sistemindeki faydalı mikroorganizmalar, bu sindirilemeyen besin bileşenlerini fermente ederek kendilerine enerji sağlayabilmektedir. Bu sindirilemeyen, canlı olmayan besin bileşenleri prebiyotikler olarak adlandırılmaktadır. Prebiyotikler, faydalı bakterilerde bulunan enzimlerden dolayı, seçici olarak kullanılabilme yetenekleri nedeniyle kolon mikrobiyotasını olumlu etkileyebilmektedirler (Davani-Davari vd., 2019). Polisakkaritler (direnci nişasta, pektin ve dekstrin) gibi sindirilemeyen karbonhidratlar ve oligosakkaritler, örneğin fruktooligosakkaritler, galaktooligosakkaritler, ksilo oligosakkaritler, izomaltooligosakkaritler, arabinoksilan oligosakkaritler ve laktuloz ile inülin prebiyotik özelliklere sahip gıda bileşenleri olarak

kabul edilir (Farias vd., 2020). Gıdalarda da en fazla belirtilen prebiyotik türü oligosakkaritlerdir (Akdeniz-Oktay ve Özbaş, 2020). Prebiyotiklere yönelik artan talebin ana kaynağı, sağlık üzerine olumlu pek çok farklı etkilerinin bilimsel kanıtlarıdır. Bunlar arasında, konakçıda; konstipasyonu azaltma, mineral emilimini artırma, bağırsak pH'sını azaltma, bağırsak bakteri dengesini restore etme ve antikanserojenik etki gibi önemli sağlık etkileri mevcuttur (Ashwini vd., 2019). Prebiyotiklerin ekonomik büyüklüğü incelendiğinde, yalnızca 2015 yılında, küresel prebiyotik pazarı 2,90 milyar USD değerindeydi ve bu değer, 2025 yılı itibarıyla, iki farklı çalışmaya göre, 8,5 milyar USD ya da 10,55 milyar USD olması öngörülmektedir (Farias vd., 2019; Quigley, 2019).

POSTBİYOTİKLER

Son yıllarda, postbiyotikler ve para-probiyotikler gibi probiyotiklerle ilgili yeni kavramlar, probiyotiklere ilave biyoaktiveler sunarak konakçıya fayda sağlayabilecek canlı olmayan mikroorganizmaları veya hücresiz özütleri tanımlamak için kullanılmıştır. Postbiyotikler,

canlı hücreler (probiyotik olan veya probiyotik olmayan) tarafından salgılanan veya hücre salızen liziden sonra açığa çıkan ve konağı olumlu etki sağlayabilen çözünür faktörlerdir (mikrobiyal ürünler veya metabolik yan ürünler). Postbiyotikler, metabiyotikler, biyojenikler veya metabolitler ve/veya hücre salızen süpernetantlar/özler olarak adlandırılabilir. Tersine, para-probiyotikler, yeterli miktarlarda uygulandıklarında tüketicilere fayda sağlayan, inaktive (cansız) mikrobiyal (probiyotik veya probiyotik olmayan) bozulmamış/sağlam hücrelerdir. Benzer şekilde, para-probiyotikler cansız probiyotikler, inaktive edilmiş probiyotikler veya hayalet probiyotikler olarak adlandırılır (Cuevas-González vd., 2020). Moradi vd., (2019), postbiyotikleri, mikrobiyal gelişimin sağlandığı ortamda oluşan laktik asit bakterileri (LAB)'ne ait metabolik yan ürünler olarak belirtmişlerdir. Postbiyotiklerin, uygun absorpsiyon, metabolizma ve boşaltım potansiyellerine sahip olduğu ve böylece, konakçıdaki çeşitli organ ve dokulara yüksek kapasiteli sinyal gönderimi yaparak çeşitli biyolojik tepkileri tetiklediği belirtilmiştir. Postbiyotiklerin benzersiz kimyasal yapılaraya sahip olması, güvenilir profillere sahip olmaları, tespit edilmiş bir toksisitesinin olmaması, probiyotiklerden daha uzun raf ömrüne sahip olmaları, memeli bağırsak enzimlerine dirençli olmaları, anti-enflamatuvar, immünomodülatör (bağırsıklık sistemi reaksiyonlarını düzenleyici), anti-obezojenik, antihipertansif, hipokolesterolemik, anti-proliferatif (hücrelerin çoğalmasını engelleyen) ve antioksidan aktivitelere sahip olabilen çeşitli sinyal moleküllerini içermeleri ve gastrointestinal sistemde stabil olarak kalabilmeleri onları güvenilir bir alternatif yapmaktadır. Özet olarak, postbiyotikler, fermantasyon sırasında mikroorganizmalar tarafından üretilen biyoaktif bileşiklerdir. Postbiyotikler arasında mikrobiyal hücreler, hücre bileşenleri ve metabolitler bulunur. Çok çeşitli probiyotiklerden veya onların inaktivasyonu yoluyla elde edilebilir ve raf ömrü açısından farklılık gösterebilirler. Postbiyotikler fonksiyonel gıdalarda ve farmasötik endüstride hastalıkları önlemek ve terapötik amaçlar için kullanılabilirler. Bu amaçla, bağırsak mikrobiyal ekosistemine tanıdık olmayan probiyotik suşları

kullanmak yerine, konakçının endojen probiyotiklerini güçlendiren, sağlığı olumlu etkileyen postbiyotikler, canlı probiyotiklere göre daha güvenli bir alternatif olarak kabul edilebilirler (Aguilar-Toalá vd., 2018; Homayouni-Rad vd., 2020; Moradi vd., 2019; Rad vd., 2020a; Wegh vd., 2019).

Biyoteknolojik olarak, fermantasyon, postbiyotiklerin temel kaynağıdır. Tahıl tanelerindeki B vitamini içeriğindeki artış, postbiyotik fermantasyonuna güzel bir örnektir. Tahıllar, önemli düzeyde B grubu vitaminleri içerir. Sıklıkla, bu vitaminler, öğütölme prosesi sonrasında kayba uğrar veya ısıl işlem neticesinde yok olurlar. Tahılların fermantasyonu ve ayrıca LAB ile ön işlemleri, B₁, B₂, B₃, B₉, B₁₁ ve B₁₂ vitaminlerinin içeriğini yükselterek bakteri sentezini destekler. Potansiyel olarak tahıl bazlı ürünlerde B vitamini içeriğini artırmak için postbiyotikler iyi bir alternatif olabilir (Tomasik ve Tomasik, 2020).

Yapılan farklı çalışmalar, sağlıklı bir bağırsağın iç dengesinin ve işlevselliğinin, canlı bakterilerin mekanizmalarına bağlı olduğunu göstermiştir. Bağırsak mikrobiyotasının modifikasyonu, mukoza ve epitelyumdaki rekabetçi bakterilerin tutunabilme kabiliyetleri, bağırsıklık sisteminin modülasyonu gibi mekanizmalar bakterilerle ilişkilendirilir. Probiyotiklerin bu yararlı etkileri, esas olarak doğuştan gelen bağırsıklık sistemi ile ilişkilidir, fakat probiyotiklerin etkinliği büyük ölçüde mikrobiyal türlere veya suşlara ve bunlardan türetilen postbiyotiklere, probiyotik hücre miktarına ve etkinliğine bağlıdır. Bu bağlamda, faydalı bağırsak mikrobiyotasının sağlığı geliştiren faydaları hem canlı (probiyotik) hem de cansız metabolitleri ve/veya yan ürünleri (postbiyotikler) ile ilişkilili olabilmektedir. Yapılan son çalışmalar, canlı bakterilere atfedilen bu mekanizmaların bakterilerle doğrudan bir ilğilerinin olmadığını öne sürmektedir. Yapılan çalışmalarda, dört farklı *Bifidobacterium bifidum* BGN4 fraksiyonunun (tam hücre, hücre salızen özler, saflaştırılmış hücre duvarı ve kültür süpernetantı) birbirlerinden farklı bağırsıklık reaksiyonları gösterdiği, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşlarından elde edilen yüksek düzeyde mikrobiyal

karbonhidrat içeren fraksiyonların da tümör baskılayıcı aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir (Aguilar-Toalá vd., 2018). Bununla birlikte, canlı mikrobiyal hücrelerin yaygın kullanımından kaynaklanan güvenlik sorunları ile ilgili ortaya çıkan endişe ve raf ömrü sorunlarını ortadan kaldıracabilecekleri ve mikrobiyal translokasyon (canlı mikroorganizmaların bağırsak epiteliyal bariyeri geçmesi) ile enfeksiyon risklerini azaltabilecekleri için canlı olmayan mikroorganizmalara veya mikrobiyal hücre özütlerine olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır (Aguilar-Toalá vd., 2018; Homayouni-Rad vd., 2020; Taverniti ve Guglielmetti, 2011).

Postbiyotiklerin Kullanım Alanları

Postbiyotiklerin farmasötik ürünlerde, gıdalarda, tarımda ve kültür balıkçılığında da kullanılabilirliği belirtilmiştir. Örneğin, bulaşıcı hastalıklar, su ürünleri yetiştiriciliğinin gelişiminde ciddi bir sorundur. Ancak, kısa zincirli yağ asitleri, peptitler, ekzopolisakaritler, vitaminler, peptidoglikan, lipopolisakaritler, hücre yüzey proteinleri ve teikoik asit gibi postbiyotikler, su ürünleri yetiştiriciliğinde alternatif hastalık kontrol ajanları olarak kullanımda yüksek potansiyele sahiptir (Ang vd., 2020). Yapılan pek çok çalışma postbiyotiklerin gıda katkı maddesi olarak da kullanılabilirliğini göstermiştir. Üç farklı *Lactobacillus spp.* arasında bir karşılaştırma yapılmış ve *L. salivarius* hücresiz süpernetantının et ve sütteki bakteriyel patojenlerin (*Listeria monocytogenes*) kontrolü için etkili doğal bir koruyucu olabileceği belirtilmiştir (Moradi vd., 2019). Başka bir çalışmada, postbiyotiklerin yemlere dahil edilmesiyle ineklerdeki rumen fermentasyon parametrelerinin olumlu etkilendiği gözlemlenmiştir. *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* ve *Ruminococcus flavefaciens* ve protozoa gibi selülitik bakteri popülasyonları postbiyotik ilavesi ile artmakta, bu da, rumen fermentasyonunun artmasına katkıda bulunabilecek daha yüksek lif sindirimini göstermektedir (Izuddin vd., 2018). Ek olarak, broiler tavukların bağışıklık sistemlerini güçlendirmek ve büyüme performanslarını iyileştirmek için inülin destekli postbiyotik uygulaması gerçekleştirilmiştir. Uygulanan karışımın, tavukların bağışıklık sistemlerini,

gelişim performanslarını ve sindirim sistemlerini olumlu yönde etkilediği rapor edilmiştir (Kareem vd., 2016). Yapılan başka bir çalışmada, *Lactobacillus plantarum* tarafından üretilen çeşitli metabolitlerin farklı oranlarda kombinasyonlarıyla muamale edilen, süttten kesilmiş domuz yavrularının büyüme performansı, ishal insidansı, bağırsak ortamı ve besin sindirilebilirliği incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, %0.5 metabolit kombinasyonu ile muamele edilen süttten kesilmiş domuz yavrularının büyüme performansında, bağırsak ortamında ve protein sindirilebilirliğinde iyileşme tespit edilmiştir (Loh vd., 2013).

Postbiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri

Yoğurt, kefir, lahana turşusu, salamura sebzeler gibi fermente gıda ürünleri postbiyotik bakımından zengin içerikli gıdalardır. Postbiyotiklere kısa zincirli yağ asitleri, bakteriyosinler, kefiran, biyoaktif peptitler örnek olarak verilebilir (Çizelge 1). Postbiyotiklerden gelen fenolik bileşiklerin çoğu bağırsakta emilmeden kalır. Bu polifenoller ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki karmaşık etkileşim sonucunda mikrobiyal dönüşüm ürünleri oluşur. Bu ürünlerin *Clostridium spp.*'nin patojenik suşlarının büyümesini baskıladığı, kommensal bakterileri ise ya daha az ya da pozitif olarak etkilediği belirtilmiştir. Ayrıca, fareler üzerinde yapılan denemelerde, postbiyotiklerin farelerde *Salmonella spp.* enfeksiyonuna karşı immünomodülatör ve koruyucu etki gösterdiğini belirtmektedir. Genel olarak, test edilen postbiyotiklerin hem uyarılmış hem de uyarılmamış hücrelerde dikkate değer anti-enflamatuar etkisi nedeniyle immünomodülatör etki gösterdiği sonucuna varılmıştır (Chaluvadi vd., 2015; Dunand vd., 2019; Mayorgas, 2020).

Equol, şu ana kadar insanlarda en çok incelenen fenolik türevi postbiyotiktir. Equol'un insan diyetinde ana kaynağı soya ve ürünleri olarak belirtilse de, bazı *Lactobacillus sp.* bakterilerinde equol üretebildikleri rapor edilmiştir. Bugüne kadar, başlıca kanıtlar, menopoz semptomlarına karşı korumada equol desteğinin yararlı etkileri olabileceğini göstermektedir. Bu etkilerle ilgili moleküler mekanizmalar tam olarak

aydınlatılmamış olsa da, hayvan çalışmaları, equolün östrojenik aktivitesinin belirlenen etkilerin arkasında olduğunu göstermektedir (Cortés-Martín vd., 2020; Di Cagno vd., 2010; Nuraida, 2015).

Păcularu-Burada vd., (2020), glutensiz bitki kökenli hazırlanacak hamurlar için çeşitli LAB'leri izole ederek, bu bakterilerin ve ürettikleri postbiyotiklerin etkilerini incelemiştir. Çalışma sonucunda, özellikle suşlardan bir tanesinin yüksek miktarlarda ekzopolisakkarit ve antimikrobiyal madde içerdiği belirtilmiştir. Bir başka çalışmada ise, obezite ve metabolik bozuklukların tedavisinde veya önlenmesinde adaptif termogenezi (açlık durumunda vücudun enerji harcamasını azaltması durumu) indüklemek için hem prebiyotiklerin hem de postbiyotiklerin kullanılabilirliği bahsedilmektedir, fakat, bu çalışmalar çoğunlukla hayvanlar üzerinde yapıldığı için, insanlar üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir (Reynés vd., 2019). Yapılan insan denemelerinden çocuklar üzerinde yapılan çalışmalarda, postbiyotikler, ishali iyileştirme konusunda tutarsız veriler sunmasına rağmen, yetişkinlerde görülen ishalin tedavisinde, postbiyotiklerin olumlu rolü olduğu belirtilmiştir. Pedyatrik ishali tedavi etmek ve çocuklar arasında yaygın bulaşıcı hastalık vakalarını önlemek amacıyla spesifik postbiyotiklerin kullanımını önerebilmek için yeterli araştırma verisi henüz mevcut değildir. Konu üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise, probiyotik *Lactobacillus rhamnosus* GG tarafından salgılanan ve bağırsak bariyer bütünlüğünü iyileştirerek lipopolisakkaritlere bağlı karaciğer hasarını azaltan bir proteinin tespit edildiği belirtilmekte olup, bu durumda tek bir postbiyotik bileşiğin, canlı bir probiyotik bakteriyle belki de aynı faydaları gösterebileceği anlaşılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin etkilerini kontrol etmek için ısıyla inaktif edilmiş probiyotikleri kullanmışlardır, fakat postbiyotiklerin doğrudan klinik ve immünomodülatör etkileri olduğundan kontrol olarak kullanılmamaları vurgulanmaktadır (Anderson, 2019; Păcularu-Burada vd., 2020; Malagón-Rojas vd., 2020; Reynés vd., 2019; Wegh vd., 2019).

Gıdalardan sağlanan postbiyotikler arasında, bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilen postbiyotikler olan fenolik türevli metabolitler, kısmen yüksek biyoyararlanımları nedeniyle gıda polifenollerinin sağlık yararlarına aracılık edebilir ve ayrıca bağırsak mikrobiyota ekolojisini modüle ederek hem bağırsak hem de sistemik kronik bozukluklar üzerinde etkili olabilirler. Bilimsel çalışmalar, postbiyotiklerin klinik (güvenli orijin), teknolojik (stabilite) ve ekonomik (düşük üretim maliyetleri) yönleri açısından benzersiz özellikleri ile kolorektal kanser gibi kanser hastalarında da hem önleyici hem de destekleyici tedaviler için, yan etkiler olmadan kullanılabilirliği konusunda umut vaatmektedir. Yapılan çoğu çalışma, laboratuvar koşullarında ve hayvan modelleri üzerinde gerçekleştirilmesinden dolayı, insanlar üzerinde kullanılabilirliği için yapılması gereken ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Cortés-Martín vd., 2020; Rad vd., 2020b).

Postbiyotiklerin biyolojik tepkileri, hücre kültürlerinde, hayvan modellerinde gözlenmiştir ve yapılan bazı insan deneyleri ile doğrulanmıştır. Bununla birlikte, postbiyotiklerin, kanıtlanmış sağlık yararları olan fonksiyonel gıdalar olarak kabul edilebilmesi için prebiyotikler ve probiyotikler gibi Uluslararası Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği (ISAPP), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) veya Gıda Tarım Örgütü (FAO) gibi kuruluşlar tarafından tanımlanması ve uzmanlar tarafından belirgin ifadelerle açıklanabilmesi gerekmektedir. Sonuç olarak, postbiyotiklerin bütün mekanizmaları tam olarak aydınlatılmamış olsa da, konakçı sağlığının iyileştirilmesine katkıda bulunabileceği belirtilmiştir. Ancak, konu üzerine yapılacak daha pek çok çalışmaya ihtiyaç vardır. Postbiyotikler, depolama ve raf ömrü açısından probiyotiklere kıyasla daha az zorluk içerdiğinden, sağlık için daha iyi bir alternatif olma potansiyeli taşımaktadırlar. Bunlara ek olarak da, postbiyotikler ve biyoaktif bileşikler, probiyotiklerin fonksiyonel bileşenlere veya terapötik ajanlara dönüşme gücünü artırmanın etkili bir yolu olabilirler (Wegh vd., 2019). Çizelge 1'de postbiyotiklerin potansiyel etki mekanizmaları gösterilmiştir.

Çizelge 1. Postbiyotiklerin potansiyel etkileri (Collado vd., 2019).

Potansiyel sorumlu postbiyotik	Olası etki
Soya peptidleri	Bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesi
Bakteriyosinler	Anti-mikrobiyal etki
Biyo-yüzey aktif maddeler	Yapışma önleyici etki
Laktat ve kısa zincirli yağ asitleri	Anti-enflamatuar etki
Bütirat	Anti-kanserojenik etki
Kısa zincirli yağ asitleri	Anti-proliferatif etki
ACE inhibitörleri	Anti-hipertansif etki
Kefiran (kefir ekzopolisakariti)	İmmünostimülasyon
Fermente süt hücresiz fraksiyonu	Enfeksiyonların önlenme etkisi
Opiooid ve anti-opiooid peptitler	İştah/tokluk kontrolü
Gama-aminobütirik asit açısından zengin süpernetant	Kolon bariyerinin güçlendirilmesi
Gama-aminobütirik asit	Duygu durum düzenlenmesi
Kazein fosfopeptitler	Kemik mineralizasyonu

Postbiyotikler Üzerine Bazı Soru(n)lar

Postbiyotik ürünlerin güncel tanımı, canlı olmayan hücrelerin varlığı odağından bir tanımdır. Dolayısıyla, piyasada bulunan ve probiyotik olduğu beyan edilen bir ürün, zaman içerisinde, içerisinde bulunan canlı hücrelerin azalması sonrasında, postbiyotik bir ürün durumuna geçebilecektir. Dolayısıyla, ürün etiketinde, bu durum belirtilerek, sağlık faydaları beyanının doğrulanması gerekliliği söz konusu olabilecektir. Dahası, bu tür bir durum söz konusu olduğu zaman, ürün etiketlenmesinin ne şekilde olacağı hakkında doğru yönlendirme/bilgilendirme gereklidir. Bu tür postbiyotik içerikli ürünlerin kalite kontrol değerlendirmeleri için hâlihazırda pratik ve ekonomik bir yöntem mevcut değildir. Probiyotik ürünlerin içerisinde bulunan canlı hücreler, pratik ve ekonomik bir şekilde mikrobiyolojik sayım yöntemleriyle belirlenebilmekteyken, cansız hücresel ürünler içeren postbiyotik ürünlere yönelik pratik ve ekonomik bir metot mevcut değildir (Collado vd., 2019).

SONUÇ

Tüketiciler, fonksiyonel beslenmeye ve akabinde probiyotik içerikli ürünlere son yirmi yıl içerisinde büyük ilgi göstermiştir. Ancak, sınırlı raf ömürleri ve doğaları gereği, bazı tüketici grupları probiyotik ürünleri tercih etmemektedir. Probiyotiklere ek olarak, gelişen yeni kavramlardan biri olan postbiyotikler, raf ömürlerinin probiyotiklere göre

daha uzun olması, taşıdıkları potansiyel sağlık etkileri ve canlı bakteriler içermemeleri gibi nedenlerden dolayı yakın zaman içerisinde ön plana çıkmıştır. Günümüzde, henüz ticari olarak yaygın üretimleri bulunmamakla birlikte, pek çok farklı çalışmayla doğaları ve potansiyel sağlık etkileri araştırılmaya devam etmektedir. Önümüzdeki on yıl içerisinde, fonksiyonel ürünler pazarında önemli bir aktör olabilecek potansiyele sahip postbiyotikler için henüz yanıtlanması gereken pek çok önemli soru mevcuttur. Öncelikli olarak, dünya genelinde kabul görececek bir tanımlama henüz mevcut değildir. Kullanımlarının sağlık üzerine zararlı ya da yararlı etkileri net olarak ortaya konulabilmiş değildir. Ek olarak, ölü hücrelerin ve metabolitlerinin varlığını endüstriyel gereksinimlere uygun bir biçimde hızlıca ve yüksek doğrulukta tespit edebilecek metotlar henüz geliştirilmemiştir. Son olarak, probiyotik içerikli bir ürünün zamanla postbiyotik nitelik kazanması halinde, tam olarak ne şekilde isimlendirilmesi gerektiği konusunda net bir yaklaşım mevcut değildir. Zaman içinde artan bilimsel çalışmaların desteğiyle postbiyotiklerin üretimlerinin ve tüketimlerinin artabileceği öngörülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

Çalışmanın planlanmasında, oluşturulmasında, yazımında ve son haline getirilmesinde tüm yazarlar eşit düzeyde katkı sağlamışlardır.

DESTEKLEYEN KURUM

Süleyman Demirel Üniversitesi BAP Komisyonu
Proje Numarası FDK-2020-7481

TEŞEKKÜR

Çağlar Gökırmaklı YÖK 100/2000 Bursiyeri olarak Yüksek Öğretim Kurumu'na teşekkürlerini sunar

REFERANSLAR

Aguilar-Toalá, J.E., Garcia-Varela, R., Garcia, H.S., Mata-Haro, V., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B., Hernández-Mendoza, A. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends Food Sci Technol*, 75: 105-114. doi: 10.1016/j.tifs.2018.03.009.

Akal C., Yetişemiyen A. (2020). Probiyotik ve prebiyotik tüketiminin laktoz intoleransı üzerine etkileri. *GIDA*, 45(2): 380-389. doi: 10.15237/gida.GD20016.

Akdeniz V., Özer E., Akalın A.S. (2018). *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda probiyotiklerin rolü. *GIDA*, 43(6): 943-956. doi: 10.15237/gida.GD18062.

Akdeniz-Oktay B., Özbaş, Z.Y. (2020). Fermente gıdaların insan sağlığı üzerindeki etkileri. *GIDA*, 45(6): 1215-1226 doi: 10.15237/gida.GD20105.

Anderson, R.C. (2019). Are postbiotics the long sought-after solution for a leaky gut?. *J Nutr*, 149(11): 1873-1874. doi: 10.1093/jn/nxz171.

Ang, C.Y., Sano M., Dan S., Leelakriangsak M., Lal T.M. (2020). Postbiotics applications as infectious disease control agent in aquaculture. *Biocontrol Sci*, 25(1): 1-7. doi: 10.4265/BIO.25.1.

Arpa-Zemzemoglu, T.E., Uludağ, E., Uzun, S. (2019). Üniversite öğrencilerinin probiyotik bilgi düzeyi ve tüketim durumlarının belirlenmesi. *GIDA*, 44(1): 118-130. doi: 10.15237/gida.GD18104.

Ashwini, A., Ramya, H.N., Ramkumar, C., Reddy, K.R., Kulkarni, R.V., Abinaya, V., Raghu, A.V.

(2019). Reactive mechanism and the applications of bioactive prebiotics for human health. *J Microbiol Methods*, 159: 128-137. doi: 10.1016/j.mimet.2019.02.019.

Azizkhani, M., Saris, P.E.J., Baniyadi, M. (2020). An in-vitro assessment of antifungal and antibacterial activity of cow, camel, ewe, and goat milk kefir and probiotic yogurt. *J Food Meas Charact*, 15: 406-415. doi: 10.1007/s11694-020-00645-4.

Chaluvadi S., Hotchkiss A. T., Yam K. L. (2015). Gut microbiota: Impact of probiotics, prebiotics, synbiotics, pharmabiotics, and postbiotics on human health. In: *Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics*. Preedy, V., Watson, R. (ed.) 1st Edition. Academic Press, the US, pp. 515–523. doi: 10.1016/B978-0-12-802189-7.00036-8.

Collado, M.C., Vinderola, G., Salminen, S. (2019). Postbiotics: facts and open questions. A position paper on the need for a consensus definition. *Benef Microbes*, 10(7): 711-719. doi: 10.3920/BM2019.0015.

Cortés-Martín, A., Selma, M.V., Tomás-Barberán, F.A., González-Sarriás, A., Espín, J.C. (2020). Where to look into the puzzle of polyphenols and health? The Postbiotics and gut microbiota associated with human metabolotypes. *Mol Nutr Food Res*, 64: e1900952. doi: 10.1002/mnfr.201900952.

Craighead, A.F., Caughey, A.B., Chaudhuri, A. et al. (2020). Cost-effectiveness of probiotics for necrotizing enterocolitis prevention in very low birth weight infants. *J Perinatol*, 40: 1652–1661. doi: 10.1038/s41372-020-00790-0.

Cuevas-González, P.F., Liceaga, A.M., Aguilar-Toalá, J.E. (2020). Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food Res Int*, 136: 109502. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109502.

D'Angelo, C., Reale, M., Costantini, E. (2017). Microbiota and probiotics in health and HIV infection. *Nutrients*, 9(6): 615. doi: 10.3390/nu9060615.

Davani-Davari D., Negahdaripour M., Karimzadeh I., Seifan M., Mohkam M., Masoumi S. J., Berenjian A., Ghasemi Y. (2019). Prebiotics:

- Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*(Basel, Switzerland), 8(3): 92. doi: 10.3390/foods8030092.
- de Simone, C. (2019). The unregulated probiotic market. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 17(5): 809-817.
- Delzenne, N.M., Bindels, L.B., (2019). Food for thought about manipulating gut bacteria. *Nature*, 577, 32-34. doi: 10.1038/d41586-019-03704-z.
- Di Cagno, R., Mazzacane, F., Rizzello, C. G., Vincentini, O., Silano, M., Giuliani, G., Gobetti, M. (2010). Synthesis of isoflavone aglycones and equol in soy milks fermented by food-related lactic acid bacteria and their effect on human intestinal Caco-2 cells. *J Agric Food Chem*, 58(19), 10338-10346.
- Dunand, E., Burns, P., Binetti, A., Bergamini, C., Peralta, G.H., Forzani L., Reinheimer J., Vinderola G. (2019). Postbiotics produced at laboratory and industrial level as potential functional food ingredients with the capacity to protect mice against Salmonella infection. *J Appl Microbiol*, 127(1): 219-29. doi: 10.1111/jam.14276.
- Erem, F. (2019). Probiyotik fırın ürünleri üretim yöntemleri. *GIDA*, 44(3): 430-441 doi: 10.15237/gida.GD19025.
- Erk, G., Seven, A., Akpınar A. (2019). Vegan ve vejeteryan beslenmede probiyotik bitkisel bazlı süt ürünlerinin yeri. *GIDA*, 44 (3): 453-462 doi: 10.15237/gida.GD18083.
- Farias, D. dP., de Araújo, F.F., Neri-Numa, I.A., Pastore, G.M. (2019). Prebiotics: Trends in food, health and technological applications. *Trends Food Sci Technol*, 93: 23-35. doi: 10.1016/j.tifs.2019.09.004.
- Gökırmaklı, Ç., Güzel-Seydim, Z. B. (2020). Probiyotiklerin kolon mikrobiyotasına etkileri: Güncel çalışmalar, *J Biotechnol and Strategic Health Res*, 4(3): 212-224. doi: 10.34084/bshr.812266
- Güneş, R., Palabıyık, İ., Kurultay, Ş. (2018). Şekerleme teknolojisinde fonksiyonel ürün üretimi. *GIDA*, 43(6): 984-1001. doi: 10.15237/gida.GD18088.
- Hikmetoglu, M., Sogut, E., Sogut, O., Gokırmaklı, C., Guzel-Seydim, Z. B. (2020). Changes in carbohydrate profile in kefir fermentation. *Bioact Carbohydr Diet Fibre*, 23: 100220. doi: 10.1016/j.bcdf.2020.100220.
- Homayouni-Rad, A., Aghebati Maleki, L., Samadi Kafil, H., Abbasi, A. (2020). Postbiotics: A novel strategy in food allergy treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 61(3): 492-499 doi: 10.1080/10408398.2020.1738333.
- Izuddin, W. I., Loh, T. C., Samsudin, A. A., Foo, H. L. (2018). In vitro study of postbiotics from *Lactobacillus plantarum* RG14 on rumen fermentation and microbial population. *Rev Bras Zootec*, 47: e20170255. doi: 10.1590/rbz4720170255.
- Kareem, K. Y., Loh, T. C., Foo, H. L., Akit, H., Samsudin, A. A. (2016). Effects of dietary postbiotic and inulin on growth performance, IGF1 and GHR mRNA expression, faecal microbiota and volatile fatty acids in broilers. *BMC Vet Res*, 12(1): 163. doi: 10.1186/s12917-016-0790-9.
- Kocsis, T., Molnár, B., Németh, Hegyi P., Szakács Z., Bálint A., Garami A., Soós A., Márta K., Solymár M. (2020). Probiotics have beneficial metabolic effects in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Sci Rep*, 10: 11787 doi: 10.1038/s41598-020-68440-1.
- Loh, T. C., Thu, T. V., Foo, H. L., Bejo, M. H. (2013). Effects of different levels of metabolite combination produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, diarrhoea, gut environment and digestibility of postweaning piglets. *J Appl Anim Res*, 41(2): 200-207. doi: 10.1080/09712119.2012.741046.
- Maguire, M., Maguire, G. (2018). Gut dysbiosis, leaky gut, and intestinal epithelial proliferation in neurological disorders: Towards the development of a new therapeutic using amino acids, prebiotics, probiotics, and postbiotics. *Rev Neurosci*, 30(2): 179-201. doi: 10.1515/revneuro-2018-0024.
- Malagón-Rojas, J. N., Mantziari, A., Salminen, S., Szajewska, H. (2020). Postbiotics for preventing

- and treating common infectious diseases in children: A systematic review. *Nutrients*, 12(2): 389. doi: 10.3390/nu12020389.
- Marx, W., Scholey, A., Firth, J., D’Cunha, N. M., Lane, M., Hockey, M., Ashton M. M., Cryan J. F., O’Neil A., Naumovski N., Berk M., Dean O. M., Jacka F. (2020). Prebiotics, probiotics, fermented foods and cognitive outcomes: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Neurosci Biobehav Rev*, 118: 472-484. doi: 10.1016/j.neubiorev.2020.07.036.
- Mayorgas, A. (2020). P840 Immunomodulatory effects of two different postbiotics on primary human cell culture. *J Crohns Colitis*, 14(Supplement 1): S650. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjz203.968.
- McFarland, L.V., Evans, C.T., Goldstein, E.J.C. (2018). Strain-specificity and disease-specificity of probiotic efficacy: A systematic review and meta-analysis. *Front Med*, 5: 124. doi: 10.3389/fmed.2018.00124.
- Moradi, M., Mardani, K., Tajik, H. (2019). Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* in vitro and in food models. *LWT-Food Sci Technol*, 111: 457-464. doi: 10.1016/j.lwt.2019.05.072.
- Myles, I.A. (2014). Fast food fever: Reviewing the impacts of the Western diet on immunity. *Nutr J*, 13: 61. doi: 10.1186/1475-2891-13-61.
- Nataraj, B.H., Ali, S.A., Behare, P.V., Yadav H. (2020). Postbiotics-parabiotics: the new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microb Cell Fact*, 19: 168. doi: 10.1186/s12934-020-01426-w.
- Nuraida, L. (2015). A review: Health promoting lactic acid bacteria in traditional Indonesian fermented foods. *Food Sci Hum Well*, 4(2), 47-55. doi: 10.1016/j.fshw.2015.06.001.
- O’Toole, P.W., Marchesi, J.R., Hill, C. (2017). Next-generation probiotics: The spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nat Microbiol*, 2: 17057. doi: 10.1038/nmicrobiol.2017.57.
- Öztürk, Z., Gündüz, G.T. (2018). Gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonunda probiyotik mikroorganizmaların kullanımı. *GIDA*, 43(4): 533-548. doi: 10.15237/gida.GD17112.
- Öztürk-Oruç, S., Çakır, İ. (2019). Probiyotik kültürlerle fermente karpuz suyu üretimi üzerine bir araştırma. *GIDA*, 44(6): 1030-1041 doi: 10.15237/gida.GD19124.
- Păcularu-Burada, B., Georgescu, L.A., Vasile, M.A., Rocha, J.M., Bahrim, G.E. (2020). Selection of wild lactic acid bacteria strains as promoters of postbiotics in gluten-free sourdoughs. *Microorganisms*, 8(5): 643. doi: 10.3390/microorganisms8050643.
- Paton, A., Morona, R., Paton, J. (2006). Designer probiotics for prevention of enteric infections. *Nat Rev Microbiol*, 4: 193–200. doi: https://doi.org/10.1038/nrmicro1349.
- Perricone, M., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M., Corbo, M. (2015). Challenges for the production of probiotic fruit juices. *Beverages*, 1(2): 95–103. doi: 10.3390/beverages1020095.
- Quigley, E.M. (2019). Prebiotics and probiotics in digestive health. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 17(2), 333-344. doi: 10.1016/j.cgh.2018.09.028.
- Rad, A.H., Aghebati-Maleki, L., Kafil, H. S., Abbasi, A. (2020b). Molecular mechanisms of postbiotics in colorectal cancer prevention and treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1-17. doi: 10.1080/10408398.2020.1765310.
- Rad, A.H., Maleki, L.A., Kafil, H.S., Zavoşti, H.F., Abbasi, A. (2020a). Postbiotics as novel health-promoting ingredients in functional foods. *Health Promot Perspect*, 10(1): 3–4. doi: 10.15171/hpp.2020.02.
- Reynés, B., Palou, M., Rodríguez, A.M., Palou, A. (2019). Regulation of adaptive thermogenesis and browning by prebiotics and postbiotics. *Front Physiol*, 9: 1908. doi: 10.3389/fphys.2018.01908.
- Roobab, U., Batool, Z., Manzoor, M.F., Shabbir, M.A., Khan, M.R., Aadil, R.M. (2020). Sources, formulations, advanced delivery and health benefits of probiotics. *Curr Opin Food Sci*, 32: 17-28. doi: 10.1016/j.cofs.2020.01.003.

- Sarkar, A., Lehto, S. M., Harty, S., Dinan, T. G., Cryan, J. F., Burnet, P. W. (2016). Psychobiotics and the manipulation of bacteria–gut–brain signals. *Trends Neurosci*, 39(11): 763-781. doi: 10.1016/j.tins.2016.09.002.
- Sarkar, S. (2016). Efficacy of dead probiotic cells. *Int J Food Sci Nutr Diet*, 5(2e): 1. doi: 10.19070/2326-3350-160006e.
- Singh, B., Mal, G., Marotta, F. (2017). Designer probiotics: Paving the way to living therapeutics. *Trends Biotechnol*, 35(8): 679-682. doi: 10.1016/j.tibtech.2017.04.001.
- Sniffen, J.C., McFarland, L.V., Evans, C.T., Goldstein, E.J.C. (2018). Choosing an appropriate probiotic product for your patient: An evidence-based practical guide. *PLoS One*, 13(12): e0209205. doi: 10.1371/journal.pone.0209205.
- Şengün, İ.Y., Kırmızıgöl, A., Özyayın, İ., Yarım, H. (2020). Tüketicilerin probiyotik ve prebiyotik gıdalara yönelik bilgi düzeyleri ve tüketim durumlarının belirlenmesi: İzmir/Bornova örneği. *GIDA*, 45(1): 103-114. doi: 10.15237/gida.GD19123.
- Taverniti, V., Guglielmetti, S. (2011). The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes Nutr*, 6(3): 261–274. doi: 10.1007/s12263-011-0218-x.
- Tomasik, P., Tomasik, P. (2020). Probiotics, non-dairy prebiotics and postbiotics in nutrition. *Appl Sci*, 10: 1470. doi: 10.3390/app10041470.
- Tsai, Y.C., Cheng, L.H., Liu, Y.W., Jeng, O.J., Lee, Y.K. (2021). Gerobiotics: Probiotics targeting fundamental aging processes. *Biosci Microbiota Food Health*, 40(1): 1–11. doi:10.12938/bmfh.2020-026.
- Wargo, J.A. (2020). Modulating gut microbes. *Science*, 369(6509): 1302-1303. doi: 10.1126/science.abc3965.
- Wegh, C.A.M., Geerlings, S.Y., Knol, J., Roeselers, G., Belzer, C. (2019). Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. *Int J Mol Sci*, 20(19): 4673. doi: 10.3390/ijms20194673.
- Xiao, J., Wang, T., Xu, Y. Gu X., Li D., Niu K., Wang T., Zhao J., Zhou R., Wang H.L. (2020). Long-term probiotic intervention mitigates memory dysfunction through a novel H3K27me3-based mechanism in lead-exposed rats. *Transl Psychiatry*. 10: 25. doi: 10.1038/s41398-020-0719-8.
- Yang, J.J., Yu, D., Xiang, Y.B. et al. (2020). Association of dietary fiber and yogurt consumption with lung cancer risk: A pooled analysis. *JAMA Oncol*, 6(2): e194107. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.4107.
- Zhang, Y., Gu, Y., Ren, H. et al. (2020). Gut microbiome-related effects of berberine and probiotics on type 2 diabetes (the PREMOTÉ study). *Nat Commun*, 11: 5015. doi: 10.1038/s41467-020-18414-8.

EFFECT OF DIFFERENT DRYING METHODS ON THE PHENOLIC EXTRACTION FROM BUTTERNUT SQUASH POMACE

Büşra Gündoğdu¹, Özge Süfer², Meric Simsek^{2*}

¹ Graduate School of Natural and Applied Sciences, Osmaniye Korkut Ata University, Osmaniye, Turkey

² Department of Food Engineering, Osmaniye Korkut Ata University, Osmaniye, Turkey

Received / Geliş: 25.10.2020; Accepted / Kabul: 05.05.2021; Published online / Online baskı: 27.05.2021

Gündoğdu, B., Süfer, Ö., Simsek, M. (2021). Effect of different drying methods on the phenolic extraction from butternut squash pomace. *GIDA* (2021) 46 (4) 883-894 doi: 10.15237/gida. GD20124

Gündoğdu, B., Süfer, Ö., Simsek, M. (2021). Farklı kurutma yöntemlerinin balkabağı posasından fenolik ekstraksiyonu üzerine etkisi. *GIDA* (2021) 46 (4) 883-894 doi: 10.15237/gida. GD20124

ABSTRACT

The objective of this study was to observe the effect of different drying methods (freeze drying, hot air, vacuum and microwave drying) on the color parameters, total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and antioxidant activity (AA) of butternut squash pomace (BSP). In addition, the extraction conditions of phenolic compounds were optimized using the extract of freeze-dried BSP by Response Surface Methodology. The drying conditions were 30 and 60 °C for hot air and vacuum drying and 120 and 600 W for the microwave drying. TPC, TFC and AA of dried BSP were changed between 1.88 ± 0.01 – 4.86 ± 0.27 mg gallic acid equivalent/g dry matter, 1.32 ± 0.05 – 3.09 ± 0.29 mg catechin equivalent/g dry matter and 1.45 ± 0.15 – 4.27 ± 0.27 mg ascorbic acid equivalent/g dry matter, respectively. This study showed that dried BSP can be used as a functional ingredient due to its bioactive potential.

Keywords: Butternut squash pomace, drying, phenolic extraction, response surface methodology

FARKLI KURUTMA YÖNTEMLERİNİN BALKABAĞI POSASINDAN FENOLİK EKSTRAKSİYONU ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, farklı kurutma metodlarının (dondurarak kurutma, sıcak hava, vakum ve mikrodalga kurutma) balkabağı posasının (BP) renk parametreleri, toplam fenolik (TF) içeriği, toplam flavonoid (TFL) içeriği ve antioksidan aktivite (AA) üzerindeki etkisini gözlemlemektir. Ek olarak, fenolik madde ekstraksiyon koşulları Yanıt Yüzey Yöntemi ile dondurularak kurutulmuş BP ekstraktı kullanılarak optimize edilmiştir. BP kurutma koşulları; sıcak hava ve vakum kurutma için 30 ve 60 °C ve mikrodalga kurutma için 120 ve 600 W olarak belirlenmiştir. Kurutulmuş BP için; TF içeriği, TFL içeriği ve AA sırasıyla 1.88 ± 0.01 - 4.86 ± 0.27 mg gallik asit eşdeğeri/g kuru madde, 1.32 ± 0.05 - 3.09 ± 0.29 mg kateşin eşdeğeri/g kuru madde ve 1.45 ± 0.15 - 4.27 ± 0.27 mg askorbik asit eş değeri/g kuru madde arasında değişmiştir. Bu çalışma kurutulmuş BP'nin biyoaktif potansiyeline bağlı olarak fonksiyonel bir bileşen olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Balkabağı posası, fenolik ekstraksiyonu, kurutma, yüzey yanıt yöntemi

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ mericsimsek@osmaniye.edu.tr,

☎ (+90) 328 827 1000 / 3661

☎ (+90) 328 825 0097

Büşra Gündoğdu; ORCID no: 0000-0002-9567-6753

Özge Süfer; ORCID no: 0000-0001-8337-6318

Meriç Şimşek; ORCID no: 0000-0003-4609-7824

INTRODUCTION

Butternut squash or pumpkin (*Cucurbita moschata*) is in the *Cucurbitaceae* family which consist vegetables in various shape, size, and color. Nowadays, pumpkin is cultivated all over the world but intensively in Europe, America and in Asia especially in India and China (Kulczynski and Gramza-Michalowska, 2019). Pumpkin is rich in carotenoids, phenols and flavonoids and moderate in fibers, vitamins, and carbohydrates (Ping et al., 2002; Seremet et al., 2016). Pumpkin can be added to daily diet due to its potential health benefits such as anti-diabetic, anti-inflammatory, anti-carcinogenic and antioxidant (Yadav et al., 2010).

The fresh-cut pumpkin is very prone to deterioration during storage; therefore, it is processed into puree, juice and as well dried products (Jamali et al., 2018). Butternut squash pomace (BSP) is a by-product mostly obtained from juice processing which consists of the skin, seeds and pulp. After processing of the butternut squash, the large quantity of pomace remains in the environment or utilized as an animal feed. However, it can be converted into a functional ingredient that can be added into different foods due to its bioactive content. Several studies reported that various pomaces (grape pomace, apple pomace and bayberry pomace) obtained from the processing of fruits and vegetables were rich in phenolics (Bao et al., 2020; Wang et al., 2018; Zhou et al., 2009).

BSP has high moisture content; therefore, it needs a preservation method to prevent the possible microbial growths and chemical degradations (Cano-Lamadrid et al., 2018). Freezing can be considered as one of the ways to store the pomace directly but a huge freezing area would be needed. Instead of freezing, a drying method can be used due to the advantages of less storage space, reduced weight and so easier packaging and transportation. In addition, dried pomace would be convenient to add into functional food formulations. The pumpkin flour has already been used in breakfast cereals, desserts, biscuits, soups and dairy products (Seremet et al., 2016). Hot air drying is the most common technique in

which the operating cost is comparatively low; however, color, texture and flavor of dried pomace can be affected negatively particularly at high temperatures and/or long time (Vashisth et al., 2011). Furthermore, the exposure to high temperatures may degrade color pigments, phenolics of the products; therefore, in order to protect these bioactive compounds, freeze-drying occurring under the low temperature and high vacuum can be an alternative method, but it has relatively high operating cost and longer drying time. Vacuum drying is another method which operates at reduced pressures and enables faster drying compared to hot air drying. Microwave drying is extremely faster to dehydrate food materials compared to previously mentioned methods and being recently used by the drying industry.

In this study, the bioactive capacity of BSP was the key parameter which would define the effectiveness of drying method. There are several studies about the influence of different drying methods on the bioactive content of phenolic extract of pomace obtained from pomegranate, citrus mandarin, grape and muscadine (Cano-Lamadrid et al., 2018; Hayat et al., 2010; Tseng and Zhao, 2012; Vashisth et al., 2011) but in regards to that, no studies were found for BSP. In order to evaluate the bioactive content of phenolic extracts, the proper extraction method and optimum extraction conditions need to be applied. Nowadays, Response Surface Methodology has been favored particularly to optimize phenolic compound extraction experiments due to time saving and low cost by researchers (Hernández-Carranza et al., 2016; Yadav et al., 2010). On the other hand, the solvent extraction method is a conventional technique used in this study among other modern extraction methods such as ultrasound, microwave-assisted and supercritical fluid extraction (Zainal-Abidin et al., 2017).

The aim of this study was to show the effect of different drying methods (freeze drying, hot air, vacuum and microwave drying) on the color parameters, total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity of the extracts

from BSP. In addition, this study analyzed the optimization of phenolic extraction from freeze-dried BSP using conventional solvent method by the aid of RSM to determine the optimum extraction conditions for dried BSP with hot air, vacuum and microwave drying.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The butternut squash (*Cucurbita moschata*) was obtained from wholesale market hall in Osmaniye in October 2018. Folin & Ciocalteu's phenol reagent, sodium bicarbonate, gallic acid, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, ascorbic acid, catechin, aluminum chloride, sodium nitrate, ethanol and methanol were purchased from Merck (Darmstadt, Germany).

Production of butternut squash pomace

The butternut squashes were washed and peeled off. The seeds inside of butternut squash were removed and cut into pieces. These pieces were placed to the home-use juice maker (J700, Braun, Germany, 1000 W). Afterwards, BSP were collected from the juice maker and these pomaces were stored at -20 °C until drying process.

Drying of butternut squash pomace

The obtained BSP were dried using four different methods (freeze drying, hot air, vacuum and microwave drying). Therefore, the lowest (30 °C and 120 W) and highest (60 °C and 600 W) temperature and microwave power were selected for drying experiments. The drying conditions were determined with the preliminary experiments which showed the temperature (40 and 50 °C) and microwave power (360 and 450 W) were not significantly affecting total phenolic content. BSP was dried by using freeze dryer (Alpha 2-4 LDplus, Christ, Germany) at -72 °C at 0.001 bar pressure for 48 h, hot air dryer (Memmert UN55, Germany) at 30 °C for 24 h and at 60 °C for 4 h, the vacuum dryer (Vacucell 111, Munich, Germany) at 30 °C for 4 h and 60 °C for 1 h and the microwave oven at 120 W for 16 min and at 600 W for 3 min. Dried BSP were ground into small particles by a grinder (PRG 277, Premier) and then stored at +4 °C for further

analyses. The moisture content of dried BSP samples was between 5 and 10%.

Moisture content

The moisture content of fresh and dried BSP samples was determined using AOAC method with some modifications. The fresh BSP of 10 g (W_1) or dried BSP of 2 g (W_1) were weighed into cups and hold at 80 °C for 24 h in the oven. The final weight (W_2) of the samples was recorded and the moisture content (%) was determined using Eq. (1);

$$\text{Moisture content (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} * 100$$

Color analysis

Color values (L^* (lightness), a^* (redness-greenness), b^* (yellowness-blueness)) of fresh and dried BSP samples were measured using a digital portable chroma meter (CR-400, Konica Minolta, Japan). ΔE , chroma (C) and hue (H°) values were calculated using Eqs. (1), (2) and (3). L_{ref} , a_{ref} and b_{ref} belong to fresh BSP sample.

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

$$C = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{Eq. (2)}$$

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

Experimental design

Factors and their levels affecting on total phenolic content of BSP extracts were investigated using experimental design and statistical analysis performed by Design-Expert (7.0.0, Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) software and summarized in Table 1 and 2. The screening step (2-replicate, 2³ full factorial design) were carried out before performing the optimization experiments. In screening experiments, the solid/solvent ratio (0.01-0.04 g/mL), temperature (25-45 °C) and time (1-3 h) were selected as independent parameters. A central composite design (CCD) with 19 runs with 5 center points were used for optimization of total phenolic content of BSP (Table 3). The independent variables were the solid/solvent ratio (0.04-0.08

g/mL), temperature (45-60 °C) and ethanol concentration (30-80%) (Table 1). Extraction time was kept at 1 h in the optimization step. Total phenolic content (mg gallic acid eqv./g dry matter) value of each run is the average of three experiments. Significance level was 0.05 for the *P*-value.

Table 1. Coded and actual levels of independent variables investigated at optimization.

Step	Factor	Sign	Actual levels	
			(-1)	(+1)
Optimization	Solid/solvent ratio (g/mL)	A	0.04	0.08
	Extraction temperature (°C)	B	45	65
	Ethanol concentration (%)	C	30	80

Phenolic extraction

The conventional solvent method was used for the extraction of phenolic compounds from BSP samples (Irakli et al., 2018). Screening and optimization experiments were carried out using freeze-dried BSP and the optimum extraction conditions for phenolic extraction were determined. In the optimization of phenolic extraction, required amount of dried BSP was placed into a centrifuge tube and mixed with 30 mL of ethanol-water mixture. Then, this mixture was homogenized (T18 digital Ultra-turrax, IKA) at 3600 rpm for 2 min and placed to the water bath (Selecta, Spain) at defined temperature for the phenolic extraction. During the extraction time, the samples were vortexed for 15 s in 5 min intervals. After the extraction, the obtained solutions were centrifuged at 3500 rpm for 15 min using the centrifuge (Universal 320 R, Hettich, Tuttlingen, Germany) and then filtered with a filter paper. The obtained extracts were stored at -20 °C for further analyses. Furthermore, the phenolic extraction from hot air, vacuum and microwave dried BSP was performed at defined optimum extraction conditions (0.08 g/mL of solid/solvent ratio, 65 °C and 56.9% ethanol concentration).

Total phenolic content assay

Total phenolic content (TPC) of BSP samples were determined using Folin-Ciocalteu method

(Li et al., 2015). In the analysis, 0.5 mL extract and 0.5 mL Folin-Ciocalteu reagent were mixed and then, 3 mL NaCO₃ solution was added. After holding the samples at dark for 30 min, the absorbance values were read at 760 nm using the spectrophotometer (Sp-3000 nano, Optima, Japan). TPC of samples was calculated as mg gallic acid equivalent/g dry matter of dried pomace (mg GAE/g DM). The experiments were carried out in three parallels.

Total flavonoid content assay

Total flavonoid content (TFC) of BSP samples were carried out according to the method of M'hiri et al. (2015). The extract of 0.3 mL was mixed with 0.3 mL of 5% NaNO₃ solution. Afterwards, 0.3 mL of 10% AlCl₃ solution was added, and the mixture was incubated for 10 min. After adding 4 mL of 10% NaOH solution to that mixture, the absorbance values were determined using the spectrophotometer at 510 nm. The experiments were performed in triplicates. Total flavonoid content was determined as mg catechin equivalent/g dry matter (mg CE/g DM).

Antioxidant activity assay

Antioxidant activity of BSP samples were performed using the method of Aruwa et al. (2019). Firstly, 0.025 g/L DPPH was prepared in 100% methanol for 2-3 h mixing. Then, 1 mL extract was mixed with 2 mL DPPH and the mixture was held at dark for 30 min. The absorbance values were read at 517 nm using the spectrophotometer. The experiments were carried out in three parallels. Antioxidant activity was expressed as mg ascorbic acid equivalent/g dry matter (mg AAE/g DM).

Statistical analysis

The effect of drying methods on the color values and bioactive content of BSP was determined using the one-way variance analysis. In order to compare the differences between means of drying methods, Duncan test was used. All data analysis was performed using SPSS trial version (SPSS Inc., Chicago, IL).

RESULTS AND DISCUSSION**The optimization of phenolic compound extraction from butternut squash pomace**

Central composite design (19 runs with 5 center points) was employed to investigate the effect of solid/solvent ratio, extraction temperature and ethanol (solvent) concentration on the TPC of the extracts of BSP (Table 3). Levels of the investigated factors were determined considering the results obtained at the screening step (data not given). The screening step (2-replicate, 2^3 full factorial design) showed that the temperature has no significant (P -value >0.05) effect on the TPC in the extraction process between 25-45 °C. Then, the levels of extraction temperature were increased to 45-65 °C at the optimization step. Similarly, between 1 – 3 h, extraction time has no significant (P -value > 0.05) effect on TPC of BPE, then in order to design a more economic process, extraction time was hold at 1 h at the optimization

step. On the other hand, a dramatic increment was observed on TPC of the extracts of BSP as the solid/solvent ratio increased from 0.01 to 0.04 g/mL (figure not given). This result led to investigate a higher level of solid/solvent ratio to maximize TPC of the extracts of BSP at the optimization step. It was stated that the physical properties of the solvent changes with the varying concentration of ethanol which play role in the solubility of compounds (Cacace and Mazza, 2003). Then, the concentration of ethanol was investigated as a factor with the levels between 30 - 80 % (v/v).

The ANOVA of the TPC results obtained from the CCD was given in Table 2. According to the ANOVA (Table 2), the significant (P -value < 0.05) factors affecting on the TPC of the extracts of BSP were solid/solvent ratio and its interaction with the ethanol concentration.

Table 2. ANOVA table for the optimization of extraction factors effecting on total phenolic content (mg GAE/g DM) of butternut squash pomace extract.

Source of variation	Sum of squares	Degrees of freedom	P -value
Model	7.481	6	<0.001
A- Solid/solvent ratio	5.788	1	< 0.001
B- Extraction temperature	< 0.001	1	0.994
C- Ethanol concentration	0.409	1	0.109
AB	0.394	1	0.116
AC	0.753	1	0.037
BC	0.137	1	0.337
Residual	1.644	12	
Lack of fit	1.490	8	0.072
Pure error	0.153	4	
Total	9.125	18	

The model equation describing the TPC of the extract was depicted in Eq. 1. All main and interaction terms were included in the model equation (Eq. 1) that can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. R-squared value of the constructed model indicates that the model is able to explain 90 % of the variation.

$$\text{TPC} = 2.91 + 0.651 A - 0.0008 B + 0.173 C + 0.221 AB - 0.307 AC + 0.131 BC \quad \text{Eq. (4)}$$

The model graph given in Figure 1 clearly shows that TPC of the extracts of BSP increased as the solid/solvent ratio increased from 0.04 to 0.08 g/mL. At 0.08 g/mL solid/solvent ratio, from 45 to 65 °C, extraction temperature increased the TPC slightly (Fig. 1). Ethanol concentration between 50 – 60 % has maximized the TPC (Fig. 2). Overall, the optimum parameters of the conventional extraction of total phenolics from butternut squash pomace is 0.08 g/mL solid/solvent ratio at 60-65 °C using 55 % ethanol (v/v) for 1 h (Fig. 1).

Table 3. Total phenolic content (TPC) in optimization experiments.

Experiment number	Solid/solvent ratio (g/mL)	Temperature (°C)	Ethanol concentration (%)	TPC (mg GAE/g DM)
1	0.06	55	55	3.12±0.16
2	0.08	45	80	2.92±0.03
3	0.06	55	55	3.62±0.08
4	0.06	55	55	2.04±0.09
5	0.06	55	97.04	2.68±0.08
6	0.06	55	12.96	1.82±0.06
7	0.04	65	30	1.87±0.14
8	0.09	55	55	2.60±0.03
9	0.06	55	55	3.28±0.09
10	0.06	71.82	55	2.97±0.07
11	0.04	45	80	3.04±0.05
12	0.04	45	30	2.57±0.03
13	0.03	55	55	2.70±0.07
14	0.04	65	80	4.29±0.09
15	0.06	38.18	55	4.08±0.23
16	0.08	65	30	3.04±0.02
17	0.08	65	80	3.96±0.09
18	0.06	55	55	2.67±0.08
19	0.08	45	30	2.12±0.03

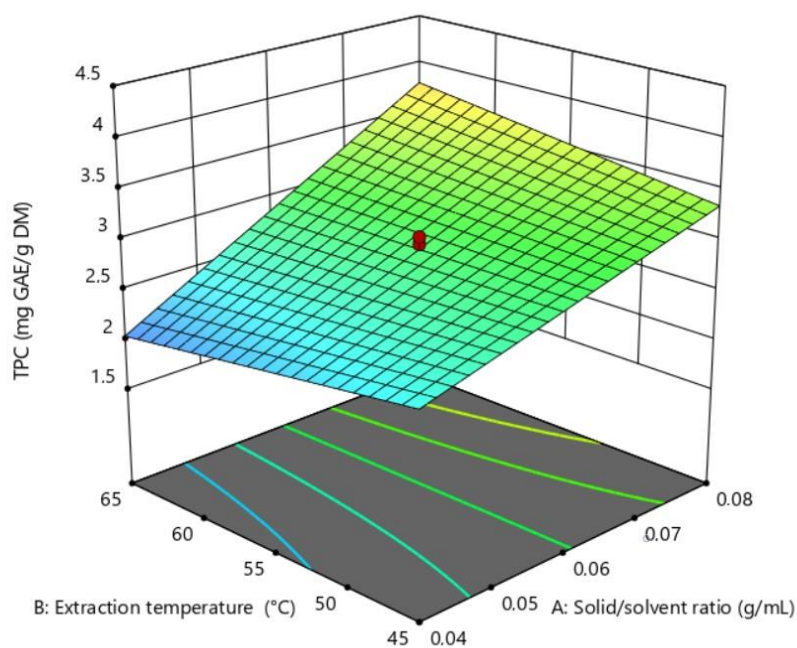


Figure 1. Effect of solid/solvent ratio and extraction temperature interaction on the TPC (ethanol concentration hold at 55%)

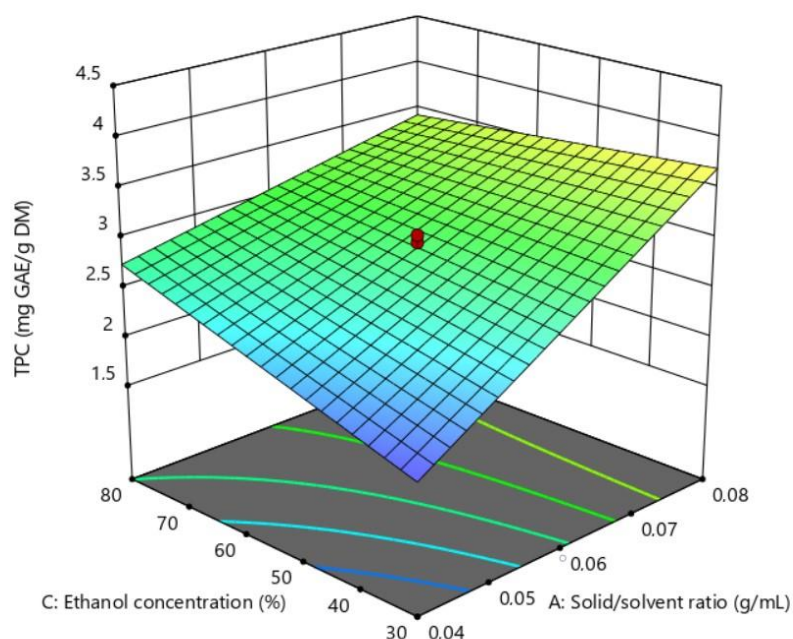


Figure 2. Effect of solid/solvent ratio and ethanol concentration interaction on the TPC (extraction temperature hold at 55 °C)

Wang et al. (2018) has reported that increase of concentration of ethanol from 0 to 50 % resulted in a noticeable increase in TPC extracted from apple pomace. Romero-Díez et al. (2019) also reported as the concentration of ethanol increased from 25 to 75 %, the concentration of anthocyanin conventionally extracted from Port wine lees increased significantly. Cacace and Mazza (2003) explained this phenomenon that the higher ethanol concentration lowers the dielectric constant resulting in a lower energy needed to break the water arrangement. Then, a higher yield of TPC can be obtained by higher ethanol concentration. The extraction temperature was found to be an insignificant factor at the optimization step however, in accordance with the increase in the solid/liquid ratio, a slight increase in TPC was observed as the extraction temperature raised from 45 °C to 65 °C (Fig. 1 and Table 3). This might be due to the enhanced release of phenolics from plant tissues with the help of softened tissue.

In the current study, three processing conditions at selected points from the optimum region were repeated (0.08 g/mL of solid/solvent ratio, 65 °C extraction temperature and ethanol concentration of 54.9, 55.1 and 56.9 %) and validated with the average convergence of 16.07%. The average TPC obtained from the pumpkin pomace under these optimum conditions was 3.35 mg GAE/g DM. Similarly, Hernández-Carranza et al., (2016) used RSM for phenolic extraction and the optimum extraction conditions and TPC of the extracts from apple pomace, orange and banana peels were reported as 51 °C - 7.9 h and 3.89 mg GAE/g DM, 60 °C-12 h and 7.29 mg GAE/g DM and 60 °C-12 h and 4.90 mg GAE/g DM, respectively.

The effect of different drying methods on the color

The color parameters (L^* , a^* , b^* , ΔE , C and H°) of fresh and dried BSP were shown in Table 4 and 5. L^* (80.05 ± 1.47), a^* (1.94 ± 0.09), b^* (44.73 ± 1.41), ΔE (67.77 ± 1.92) and C (44.77 ± 1.41) values of freeze-dried BSP were notably higher

than the ones of other drying methods (hot air, vacuum and microwave). H° values were changed between 55.85 ± 5.51 and 89.64 ± 0.01 for all drying methods, and the highest H° was calculated for microwave drying at 600 W. Similar to our findings, Aydin and Gocmen (2015) reported significantly higher L^* (88.36 ± 0.04), a^* (10.22 ± 0.09) and b^* (56.79 ± 0.90) values for the powder obtained from freeze-dried pumpkin slice than the ones of hot air-dried (60 °C and 24 h) pumpkin slice. Another study also showed that the hot air dried (60 °C) pumpkin slices has lower

L^* (38.53 ± 0.90) and ΔE (14.56 ± 1.21) values as compared to L^* (76.03 ± 2.29) and ΔE (30.51 ± 3.69) of freeze-dried pumpkin slices (Monteiro et al., 2018). On the other hand, L^* value of microwave-dried (120 W) BSP was in agreement with the L^* (25.85 ± 0.12) of microwave-dried (160 W) pumpkin slice reported by Alibas (2007). The lower L^* values obtained in hot air dried product compared to freeze-dried ones could be explained by the browning reactions due to the higher temperatures during the hot air drying (Monteiro et al., 2018).

Table 4. L^* , a^* and b^* values of fresh and dried butternut squash (BSP) samples (FD: freeze-dried, HAD: hot air drying, VD: vacuum drying and MWD: microwave drying).

Drying treatment	L^*	a^*	b^*
Fresh	$28.90^{ab} \pm 1.07$	$0.09^{ab} \pm 0.06$	$0.40^a \pm 0.25$
FD	$80.05^c \pm 1.47$	$1.94^c \pm 0.09$	$44.73^b \pm 1.41$
HAD-30 °C	$29.47^b \pm 0.63$	$0.03^{ab} \pm 0.02$	$0.53^a \pm 0.21$
HAD-60 °C	$29.55^b \pm 0.70$	$0.14^{bcd} \pm 0.02$	$0.37^a \pm 0.18$
VD-30 °C	$27.76^{ab} \pm 1.28$	$0.10^{abc} \pm 0.08$	$0.51^a \pm 0.19$
VD-60 °C	$28.12^{ab} \pm 0.70$	$0.22^{cd} \pm 0.05$	$0.62^a \pm 0.19$
MWD-120 W	$27.09^a \pm 0.27$	$0.23^d \pm 0.07$	$0.36^a \pm 0.18$
MWD-600 W	$29.10^{ab} \pm 0.01$	$0.01^a \pm 0.01$	$1.59^a \pm 0.01$

Different letters in the same column indicate a statistical difference between the means ($p < 0.05$).

Table 5. ΔE , C and H° values of fresh and dried butternut squash (BSP) samples (FD: freeze-dried, HAD: hot air drying, VD: vacuum drying and MWD: microwave drying).

Drying treatment	ΔE	C	H°
Fresh	-	$0.42^a \pm 0.24$	$82.28^{abc} \pm 18.93$
FD	$67.77^b \pm 1.92$	$44.77^b \pm 1.41$	$87.51^{bc} \pm 0.10$
HAD-30 °C	$0.68^a \pm 0.48$	$0.53^a \pm 0.14$	$87.09^{bc} \pm 1.54$
HAD-60 °C	$0.68^a \pm 0.68$	$0.40^a \pm 0.16$	$65.20^{ab} \pm 16.2$
VD-30 °C	$1.28^a \pm 1.12$	$0.52^a \pm 0.18$	$76.14^{abc} \pm 12.35$
VD-60 °C	$0.94^a \pm 0.49$	$0.66^a \pm 0.18$	$69.89^{abc} \pm 7.65$
MWD-120 W	$1.82^a \pm 0.28$	$0.42^a \pm 0.19$	$55.85^a \pm 5.51$
MWD-600 W	$1.28^a \pm 0.01$	$1.59^a \pm 0.01$	$89.64^c \pm 0.01$

Different letters in the same column indicate a statistical difference between the means ($p < 0.05$).

The effect of different drying methods on the total phenolic content

Total phenolic content of the extracts obtained from fresh and dried BSP was given in Figure 3. The lowest (1.88 ± 0.01 mg GAE/g DM) and highest (16.44 ± 0.39 mg GAE/g DM) TPC was found in the extracts of microwave dried BSP at 120 W and fresh BSP. Except fresh BSP, the highest TPC was obtained as 4.86 ± 0.27 mg GAE/g DM in the extracts of microwave dried

BSP at 600 W. When hot air and vacuum drying were compared, TPC of the extract from hot air dried BSP at 30 °C was slightly but significantly higher than TPC of the extract of vacuum dried BSP at 30 °C. Furthermore, lower TPC values for the extracts of hot air and vacuum dried BSP at 30 °C was obtained compared to the ones dried at 60 °C. This could be related with the oxidation of polyphenols due to prolonged exposure of BSP to oxygen at lower drying temperature in the hot air

drying process. Aydin and Gocmen (2015) reported TPC of the powder of freeze-dried and hot air dried pumpkin slice as 8.99 ± 0.19 and 11.13 ± 0.04 mg GAE/g DM, respectively which were higher than our findings. On the contrary to the study of Aydin and Gocmen (2015), we found that TPC was higher in freeze-dried BSP than hot air dried one supported by the studies of Tseng and Zhao (2012) and Demirkol and Tarakci (2018). These findings could be associated with the principle of freeze drying where the formation of ice crystals in plant tissues destroys the cell wall and structure, thus releasing phenolic compounds from the tissue matrix and facilitating extraction (Demirkol and Tarakci, 2018). In addition, the bioactive compounds of dried material are mostly

protected under the low temperature and vacuum of the freeze drying (Tseng and Zhao, 2012). On the other hand, the most effective method on TPC was microwave drying at 600 W; however, drying at 120 W did not provide the similar effect. Kammoun Bejar et al. (2011) reported that higher TPC (1.8 mg caffeic acid/g DM) was obtained with microwave drying at 450 W compared to that of 180 W. The wider and looser fiber matrix structure might be obtained at higher microwave power and therefore the phenolic extraction could become easier (Kammoun Bejar et al., 2011). Furthermore, the microwave energy could increase the release of free phenolic compounds from the plant matrix (Hayat et al., 2010).

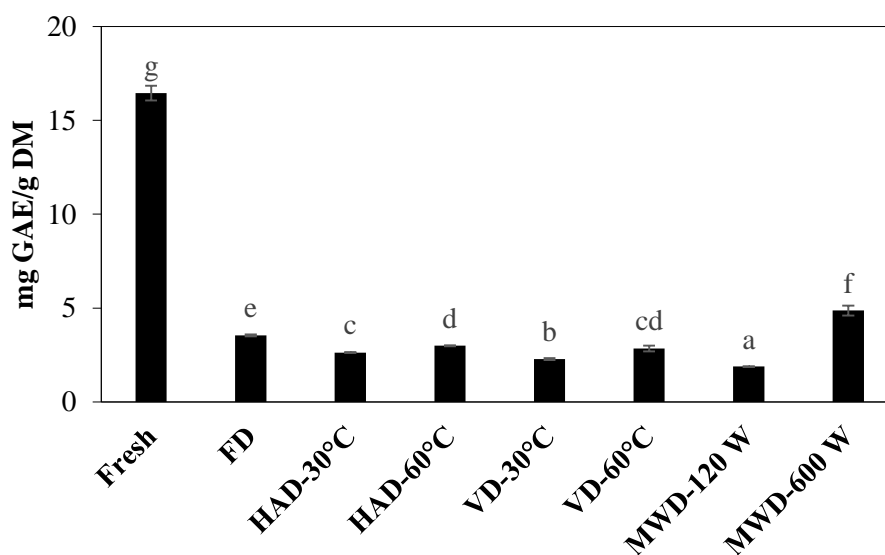


Figure 3. Total phenolic content (TPC) of fresh and dried BSP samples (FD: freeze-dried, HAD: hot air drying, VD: vacuum drying and MWD: microwave drying).

The effect of different drying methods on the total flavonoid content

Total flavonoid content of extracts of fresh and dried BSP with different methods was shown in Figure 4. The lowest (1.32 ± 0.05 mg CE/g DM) and highest TFC (18.89 ± 0.32 mg CE/g DM) were obtained in the extracts of hot air dried BSP at 30 °C and fresh BSP, respectively. In this study, similar TFC values were seen for the extracts obtained from other drying methods. There were no significant effects of different drying methods and temperature/microwave power on the TFC

values. On the contrary to our findings, previous studies reported the significant influence of different drying methods on TFC. Tseng and Zhao (2012) found that freeze drying was the most effective method on TFC of grape pomace and peel among different methods (hot air and vacuum drying at 40 °C and freeze drying). Hayat et al. (2010) reported that the increase of microwave power from 125 W to 500 W in drying of mandarin pomace increased significantly TFC values and the highest TFC was determined as 5.81 ± 2.80 mg/g DM.

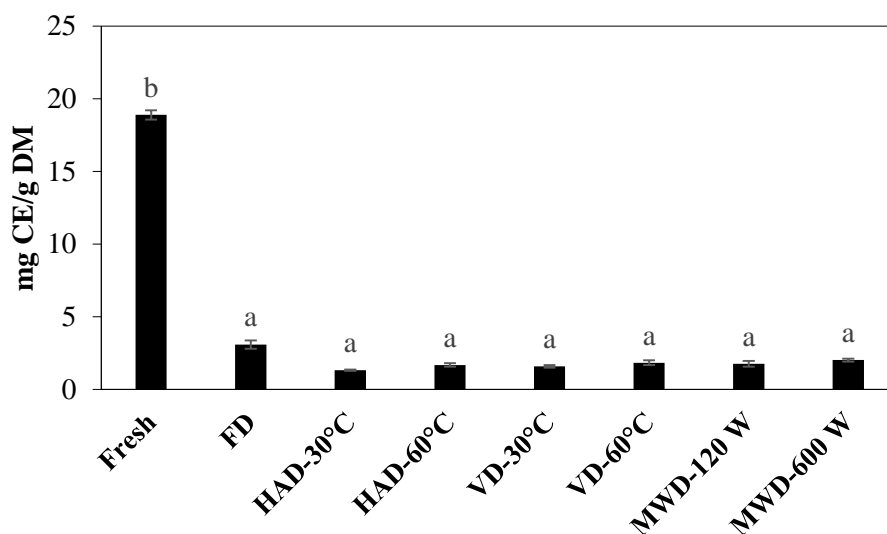


Figure 4. Total flavonoid content (TFC) of fresh and dried BSP samples (FD: freeze-dried, HAD: hot air drying, VD: vacuum drying and MWD: microwave drying).

The effect of different drying methods on the antioxidant activity

Antioxidant activity of the extract of BSP was determined using DPPH method. Antioxidant activity of fresh and dried BSP was presented in Figure 5. The antioxidant activity of the extracts obtained from 120 W microwave dried BSP and fresh BSP were determined as the lowest 1.45 ± 0.15 mg AAE/g DM and 6.09 ± 0.38 mg AAE/g DM, respectively. Aydin and Gocmen (2015) reported antioxidant activity of the powder obtained from freeze and hot air oven (60 °C and 24 h) dried pumpkin slice as 5.57 ± 0.17 and 30.0

± 0.39 μ mol trolox/g, respectively. On the contrary, Demirkol and Tarakci (2018) indicated that significantly higher antioxidant activity was obtained in the freeze-dried grape pomace compared to the that of oven dried pomace. Similarly, the highest antioxidant activity (34.65 mg AAE/g) was reported in the freeze-dried grape pomace among other drying methods (oven and vacuum drying at 40 °C) (Tseng and Zhao, 2012). However, in this study the effect of drying methods except microwave drying at 600 W was found similar on the antioxidant activity of the extracts from BSP.

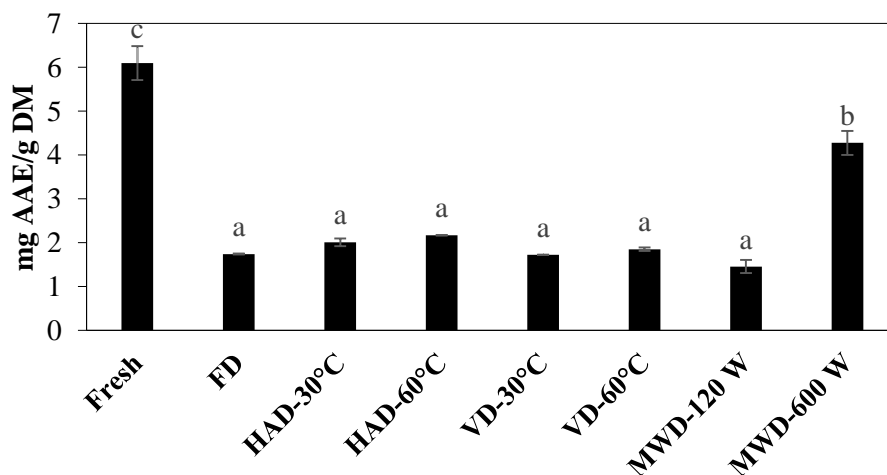


Figure 5. Antioxidant activities of fresh and dried BSP samples (FD: freeze-dried, HAD: hot air drying, VD: vacuum drying and MWD: microwave drying).

CONCLUSION

The solid/solvent ratio and its interaction with ethanol concentration significantly ($p < 0.05$) affected TPC of extracts obtained from BSP. TPC increased with increasing the solid/solvent ratio from 0.04 to 0.08 g/mL. In addition, TPC reached to the maximum level at 50-60% of ethanol concentration. The optimum conditions for phenolic extraction were determined as 1 h extraction time, 0.08 g/mL, 65 °C and 56.9% (v/v) ethanol concentration. The highest TPC and antioxidant activity was obtained in the extracts of microwave dried BSP at 600 W among drying treatments. In addition, TPC of the extract from BSP increased with the increase in temperature from 30 °C to 60 °C in both hot air and vacuum drying. The highest TFC was seen in freeze-dried BSP. As a result, this study showed that the butternut squash pomace has a potential to incorporate into formulations to produce functional foods. Also, our results suggested that the selection of the appropriate drying method is very important in the food industry.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declared no conflicts of interest for this work.

AUTHOR CONTRIBUTION

Büşra Gündoğdu: Investigation; Özge Süfer: Drying idea suggestion and data analysis; Meric Simsek: Conceptualization, methodology, formal and data analysis, supervision, writing-original draft

REFERENCES

Alibas, I., 2007. Microwave, air and combined microwave-air-drying parameters of pumpkin slices. *LWT - Food Sci. Technol.* 40, 1445–1451. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.09.002>

Aruwa, C.E., Amoo, S., Kudanga, T., 2019. Phenolic compound profile and biological activities of Southern African *Opuntia ficus-indica* fruit pulp and peels. *LWT* 111, 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.028>

Aydin, E., Gocmen, D., 2015. The influences of drying method and metabisulfite pre-treatment on the color, functional properties and phenolic

acids contents and bioaccessibility of pumpkin flour. *LWT - Food Sci. Technol.* 60, 385–392. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.025>

Bao, Y., Reddivari, L., Huang, J.Y., 2020. Enhancement of phenolic compounds extraction from grape pomace by high voltage atmospheric cold plasma. *LWT* 133, 109970. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109970>

Cacace, J.E., Mazza, G., 2003. Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. *J. Food Sci.* 68, 240–248.

Cano-Lamadrid, M., Lech, K., Calín-Sánchez, Á., Rosas-Burgos, E.C., Figiel, A., Wojdyło, A., Wasilewska, M., Carbonell-Barrachina, Á.A., 2018. Quality of pomegranate pomace as affected by drying method. *J. Food Sci. Technol.* 55, 1074–1082. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-3022-9>

Demirkol, M., Tarakci, Z., 2018. Effect of grape (*Vitis labrusca* L.) pomace dried by different methods on physicochemical, microbiological and bioactive properties of yoghurt. *LWT* 97, 770–777. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.058>

Hayat, K., Zhang, X., Farooq, U., Abbas, S., Xia, S., Jia, C., Zhong, F., Zhang, J., 2010. Effect of microwave treatment on phenolic content and antioxidant activity of citrus mandarin pomace. *Food Chem.* 123, 423–429. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.060>

Hernández-Carranza, P., Ávila-Sosa, R., Guerrero-Beltrán, J.A., Navarro-Cruz, A.R., Corona-Jiménez, E., Ochoa-Velasco, C.E., 2016. Optimization of antioxidant compounds extraction from fruit by-products: Apple pomace, orange and banana peel. *J. Food Process. Preserv.* 40, 103–115. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12588>

Irakli, M., Chatzopoulou, P., Ekateriniadou, L., 2018. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities. *Ind. Crops Prod.* 124, 382–388. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.070>

- Jamali, S.N., Kashaninejad, M., Amirabadi, A.A., Aalami, M., Khomeiri, M., 2018. Kinetics of peroxidase inactivation, color and temperature changes during pumpkin (*Cucurbita moschata*) blanching using infrared heating. *LWT* 93, 456–462. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.074>
- Kammoun Bejar, A., Kechaou, N., Boudhrioua Mihoubi, N., 2011. Effect of microwave treatment on physical and functional properties of. *J. Food Process. Technol.* 2, 1–7. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000109>
- Kulczynski, B., Gramza-Michałowska, A., 2019. The profile of carotenoids and other bioactive molecules in various pumpkin fruits (*Cucurbita maxima* Duchesne) cultivars. *Molecules* 24. <https://doi.org/10.3390/molecules24183212>
- Li, X., Wasila, H., Liu, L., Yuan, T., Gao, Z., Zhao, B., Ahmad, I., 2015. Physicochemical characteristics, polyphenol compositions and antioxidant potential of pomegranate juices from 10 Chinese cultivars and the environmental factors analysis. *Food Chem.* 175, 575–584. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.003>
- M'hiri, N., Ioannou, I., Mihoubi Boudhrioua, N., Ghoul, M., 2015. Effect of different operating conditions on the extraction of phenolic compounds in orange peel. *Food Bioprod. Process.* 96, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.07.010>
- Monteiro, R.L., Link, J.V., Tribuzi, G., Carciofi, B.A.M., Laurindo, J.B., 2018. Effect of multi-flash drying and microwave vacuum drying on the microstructure and texture of pumpkin slices. *LWT* 96, 612–619. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.06.023>
- Ping, W., Jiecai, L., Qingyan, Z., Lizhen, H., 2002. Studies on nutrient composition and utilization of pumpkin fruit. *J. Inn. Mong. Agric. Univ. Sci. Ed.* 23, 52–54.
- Romero-Díez, R., Matos, M., Rodrigues, L., Bronze, M.R., Rodríguez-Rojo, S., Cocero, M.J., Matias, A.A., 2019. Microwave and ultrasound pre-treatments to enhance anthocyanins extraction from different wine lees. *Food Chem.* 272, 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.016>
- Seremet, L., Botez, E., Nistor, O.V., Andronoiu, D.G., Mocanu, G.D., 2016. Effect of different drying methods on moisture ratio and rehydration of pumpkin slices. *Food Chem.* 195, 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.125>
- Tseng, A., Zhao, Y., 2012. Effect of different drying methods and storage time on the retention of bioactive compounds and antibacterial activity of wine grape pomace (Pinot Noir and Merlot). *J. Food Sci.* 77. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02840.x>
- Vashisth, T., Singh, R.K., Pegg, R.B., 2011. Effects of drying on the phenolics content and antioxidant activity of muscadine pomace. *LWT - Food Sci. Technol.* 44, 1649–1657. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.02.011>
- Wang, L., Boussetta, N., Lebovka, N., Vorobiev, E., 2018. Effects of ultrasound treatment and concentration of ethanol on selectivity of phenolic extraction from apple pomace. *Int. J. Food Sci. Technol.* 53, 2104–2109. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13835>
- Yadav, M., Jain, S., Tomar, R., Prasad, G.B.K.S., Yadav, H., 2010. Medicinal and biological potential of pumpkin: An updated review. *Nutr. Res. Rev.* 23, 184–190. <https://doi.org/10.1017/S0954422410000107>
- Zainal-Abidin, M.H., Hayyan, M., Hayyan, A., Jayakumar, N.S., 2017. New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: A review. *Anal. Chim. Acta.* 979, 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.05.012>
- Zhou, S.-h., Fang, Z.-x., Lü, Y., Chen, J.-c., Liu, D.-h., Ye, X.-q., 2009. Phenolics and antioxidant properties of bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) pomace. *Food Chem.* 112, 394–399. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.104>



EFFECT OF LINOLEIC ACID ADDITION ON THE CIS9-TRANS11- CONJUGATED LINOLEIC ACID CONTENT OF KEFİR

Betül Oskaybas Emlek, Ayşe Özbey*

Department of Food Engineering, Niğde Ömer Halisdemir University, Niğde, Turkey

Received /Geliş: 01.10.2020; Accepted /Kabul: 29.04.2021; Published online /Online baskı: 31.05.2021

Oskaybas Emlek, B., Özbey, A. (2021). Effect of linoleic acid addition on the cis9-trans11-conjugated linoleic acid content of kefir. GIDA (2021) 46 (4) 895-902 doi: 10.15237/gida.GD20115

Oskaybas Emlek, B., Özbey, A. (2021). Linoleik asit ilavesinin kefirin cis9-trans11-konjüge linoleik asit içeriğine etkisi. GIDA (2021) 46 (4) 895-902 doi: 10.15237/gida.GD20115

ABSTRACT

Conjugated linoleic acid (CLA) and CLA isomers, present naturally in dairy and meat products, are the natural and functional components. Ruminal microorganisms, such as *Butyrivibrio fibrosolvens*, lactic acid bacteria (LAB), and propionibacteria can convert linoleic acid (LA) to CLA. In this study, the effect of different linoleic acid (LA) concentrations (0, 0.5, 1, 2%) and different storage time (0, 2, 7, 14 and 21 days) on the CLA content of kefir was investigated. The highest CLA content was found on day 0 in the kefir sample to which 0.5% LA was added but there is no significant difference between control and 0.5% LA. On the contrary, the lowest CLA content belonged to the sample including 2% LA after 21 days of storage. The results suggested that certain amounts of LA could be used to enhance the functional properties of kefir.

Keywords: Conjugated linoleic acid, kefir, linoleic acid, functional food

LİNOLEİK ASİT İLAVESİNİN KEFİRİN CIS9-TRANS11-KONJÜGE LİNOLEİK ASİT İÇERİĞİNE ETKİSİ

ÖZ

Süt ve et ürünlerinde doğal olarak bulunan konjüge linoleik asit (KLA) ve KLA izomerleri, doğal ve fonksiyonel bileşenlerdir. *Butyrivibrio fibrosolvens*, laktik asit bakterileri (LAB) ve propionibacteria gibi ruminal mikroorganizmalar, linoleik asidi (LA) KLA'ya dönüştürebilmektedir. Bu çalışmada, farklı linoleik asit (LA) konsantrasyonları (%0, 0.5, 1 ve 2) ilavesinin ve farklı depolama sürelerinin (0, 2, 7, 14 ve 21 gün) kefirin KLA içeriği üzerine etkisi araştırılmıştır. En yüksek KLA içeriği %0.5 LA ilave edilen 0. gün kefir örneğinde bulunmuştur ancak kontrol örnekleri ve %0.5 LA ilave edilen kefir örnekleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Aksine, en düşük KLA içeriği 21 günlük depolamadan sonra %2 LA içeren kefir örneğinde saptanmıştır. Sonuçlar, kefirin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için belirli miktarlarda LA kullanılabilceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Konjüge linoleik asit, kefir, linoleik asit, fonksiyonel gıda

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: ayse.ozbey@gmail.com

☎: (+90) 388 225 4305

☎: (+90) 388 225 0110

Betül Oskaybas Emlek; ORCID no: 0000-0002-0238-8948

Ayşe Özbey; ORCID no: 0000-0003-3210-4077

INTRODUCTION

Kefir is a traditional, functional food that originated from the Caucasus and some countries of Eastern Europe (Domagala et al., 2009; Barukčić et al. 2017). It has been used to improve and maintain health for many years (Satir and Guzel-Seydim, 2016). Kefir is a fermented probiotic beverage containing yeast and some species of bacteria, including lactic acid bacteria (LAB) and acetic acid bacteria (Kim et al., 2016). Several studies have demonstrated kefir's useful effect on health, including anticarcinogenic properties, hypocholesterolemic effect, antibacterial activity, and improving the immune system (Barukčić et al., 2017; Gao et al., 2013; Zelovitis et al., 2016). Beneficial effects of kefir come from its bioactive components produced by yeast and bacteria (Gaware et al., 2011). The main microorganism species found in kefir grains are *Lactobacillus plantarum*, *L. kefir*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Saccharomyces*, and *Acetobacter* (Gamba et al., 2016). The fatty acid composition of dairy products can be changed through the activity of LAB (Vieira et al., 2015). During fermentation, some bacteria can convert fatty acid to specific fatty acids (do Espírito Santo et al., 2012), such as conjugated linoleic acid (CLA) in milk. Thus, the fatty acid composition including linoleic acid (18:2n6) (LA) may change due to the production of CLA (Abd El-Salam et al., 2010; Vieira et al., 2015). This conversion is a favorable situation because CLA has various beneficial effects on health, such as exhibiting anticarcinogenic activity (Kim and Liu, 2002) and preventing obesity and atherosclerosis (Van Nieuwenhove et al., 2007). In addition, CLA has an antioxidative effect and is able to reduce the level of low-density cholesterol (Lin, 2000).

CLA is a group of positional and geometric isomers of LA and has been frequently investigated in recent years (Csapó and Varga-Visi, 2015). CLA is found naturally in meat and dairy products (Bhattacharya et al., 2006), as well as some bacteria that are able to generate it. *Butyrivibrio fibrisolvens* is a rumen anaerobic bacterium, which is the first proven species producing CLA (Kepler et al., 1966). CLA isomers are biohydrogenation intermediates of LA produced by *B. fibrisolvens* during conversion

from linoleic and linolenic polyunsaturated fatty acid to stearic acid (Sébédio et al., 2003). Several studies have shown that *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis*, and *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* are able to produce CLA (Xu et al., 2004).

Different methods have been proposed for enhancing the daily consumption of CLA; e.g., improving the substrate for CLA production or factors affecting bacteria growth, by adding vegetable oils or dietary fibers to food (Siurana and Calsamiglia, 2016; Whitlock et al., 2006). Farsad-Naeimi et al. (2015) demonstrated that addition of safflower oil to kefir increased the CLA amount of the samples. However, to the best of our knowledge, the effect of linoleic acid addition on the CLA content of kefir has not been investigated in the literature.

This study aimed to determine the CLA amount in kefir produced by adding of different amounts of LA and evaluate the effect of storage time on the CLA content. It is considered that this study contributes to the literature by filling a gap and providing useful data to improvement of functional foods.

MATERIALS AND METHODS

Material

Raw cow milk was purchased from Nigde (Turkey). Kefir grains (aerobic lactobacilli 8.4, anaerobic lactobacilli 8.3, lactococci 9.1, acetic acid bacteria 5.2, total yeast content 6.2 log cfu / ml) were obtained from Nigde Ömer Halisdemir University. LA, 9*c*-11*t* CLA and 9*t*-11*t* CLA standard were purchased from Sigma–Aldrich Company Ltd. (St Louis, USA) and sodium methoxide (CH₃ONa) was obtained from TCI (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Singapore). Sulfuric acid (H₂SO₄), 2-propanol (CH₃CH(OH)CH₃), isooctane (CH₃C(CH₃)₂CH₂CH(CH₃)CH₃), acetonitrile (CH₃CN), and hexane (C₆H₁₄) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). All solvents and chemicals were of reagent grade, except for hexane and acetonitrile, which were of HPLC grade.

Methods

Production of Kefir

The first stage of kefir production was the activation of the grains. For this purpose, after storage under proper conditions, the grains were transferred into aseptically semi-skimmed (1.5% milk fat) cow UHT milk supplied from local markets in Nigde. Then, the milk was incubated at 25 ± 1 °C until the pH value decreased to 4.6, at which point the grains were separated from the milk. This process was repeated thrice.

At the second stage of kefir production, 0.5, 1 and 2% LA was added to the raw cow milk, which was then pasteurized at 90°C for 10 min and cooled to 25°C. The milk was inoculated with kefir grains (2% w/w) at 25 °C in water bath. After the pH of samples was 4.6 (~24h), the kefir grains and kefir were separated through leaching and samples were taken for the first-day analysis (t_0). The remaining samples were stored in a screw-capped tube at 4 °C until analysis (for 2, 7, 14 and 21 days). In addition, a kefir sample without LA was produced to constitute the control.

Preparation of Fatty Acid Methyl Esters

Fatty acid methyl esters were formed by modifying the method described by Guzel-Seydim et al. (2006). Approximately 0.5 g kefir samples were mixed with 1 ml 2-propanol and 1 ml isoctane for 60 s in a capped glass tube. 100 μ l was taken from the supernatant and dried in a vacuum oven (Vacucell – MMM Medcenter Einrichtungen, Germany). Then, 2 ml of NaOCH₃/MeOH (0.5 M) was added and mixed for 60 s. The blended samples were kept at 50 °C for 10 min in water bath and cooled at ambient temperature for about 10 min. The samples were interfused with 1.5 ml of H₂SO₄ (1%) prepared in methanol for 60 s. After adding H₂SO₄ into the samples and mixing them for 60 s, they were maintained at 80°C for 10 minutes and cooled until reaching ambient temperature. Finally, the samples were extracted with 1 ml of isoctane and 3.5 ml of K₂CO₃ (6%).

High Pressure Liquid Chromatographic Analysis

The CLA analysis of the raw cow milk and kefir was carried out using HPLC (Shimadzu, Japan)

equipped with two ChromSpher 5 Lipids analytical columns connected in series (each 4.6 mm i.d. \times 250 mm stainless steel; 5 μ m particle size; Varian, California, USA). Besides, a UV detector operated at 233 nm was used. This method was suggested by Sehat et al. (1999). The sample amount was 20 μ l. The mobile phase was hexane containing 0.1% acetonitrile, which was isocratic at a flow rate of 1.0 ml/min. Chromatographic analysis was undertaken under the same conditions for all samples. 0.1-2 mg/ml of *9*t*-11*t** CLA standard was used for quantitative analysis.

Recoveries were determined in duplicate in milk using pure standards in the range 0.02-0.8 mg/g in esterification media prior to the analysis of samples with the HPLC procedure. The result was $100.00 \pm 1.247\%$, suggesting that the procedure was reliable and appropriate for CLA analysis in kefir.

Proximate Analyses

The composition analysis of raw cow milk included the determination of dry matter, ash, fat, and protein. Determination of dry matter was performed by the drying method (AOAC Method 930.15), total protein analysis by the Kjeldahl method (AOAC Method 991.20), and fat content by the butyrometer method (AOAC Method 2000.18) (AOAC, 2005). The pH value of the samples was measured using a digital pH-meter (VWR International Ltd., Dublin, Ireland).

Statistical Analysis

The experiments were carried out in duplicate (two repetitions, two parallels). The data of the experiments were subjected to an analysis of variance (ANOVA) using SPSS Statistics v. 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The difference in the averages was assessed using Duncan's test. The values were expressed as means and standard deviations.

RESULTS AND DISCUSSION

According to the results, the raw milk showed the following characteristics: dry matter $11.99 \pm 0.156\%$; fats $3.66 \pm 0.055\%$; protein $3.12 \pm 0.044\%$; ash $0.70 \pm 0.007\%$, and the CLA

content 0.725 ± 0.019 mg/g. The values obtained for the composition of cow's milk were similar to those reported by Vargas et al. (2008). Besides, the values for the CLA content of cow's milk were within the average range determined by Jiang et al. (1998). Furthermore, kefir production using cow's milk was found to enhance the CLA content. The values obtained for the CLA content of the control kefir samples were higher than the CLA content of cow milk.

LAB are commonly found in dairy products, such as kefir and yoghurt. Jiang et al. (1998) reported the use of some LAB as starter culture for dairy products and suggested that these bacteria were capable of producing CLA from LA. Many factors, such as the available concentration of LA, pH value in medium, temperature of incubation, and type of bacteria affect the yield of conversion from LA to CLA (Gorissen et al., 2015). In this study, we investigated the effect of LA addition to kefir on CLA production, and the results showed that the highest CLA content belonged to the kefir including 0.5% LA (Table 1) but it did not statistically significant ($P > 0.05$). However, when the LA content increased above 0.5%, the CLA amount of kefir started to decrease. Previous research evaluating the effect of different concentrations of LA on CLA production by *L. acidophilus* reported that the greatest increase in CLA was found in the sample containing the lowest concentration of LA (Gorissen et al., 2015). In another study, when different concentrations of sunflower oil were added to skim milk, the highest CLA production was obtained from *L. brevis* at the lowest concentration while *L. lactis* had the lowest CLA content at the same concentration (Puniya et al., 2008). Li et al. (2012) evaluated the effect of different *L. plantarum* strains on CLA conversion by adding different concentrations of sunflower oil to the MRS broth. The authors observed similar results in that when the concentration of sunflower oil exceeded a certain amount in medium, conversion from LA to CLA decreased, indicating that free LA inhibited the conversion process promoted by LAB. However, the same effect was not observed until a certain level of LA, which may be associated with the antibacterial

effect of CLA on some bacterial strains. Li et al. (2012) reported that the conversion capability of CLA varied according to microorganism. In another study Gorissen et al. (2015) reported that LA inhibited the *L. reuteri* strain, but did not observe any negative effect of CLA isomerism on LAB. The authors also noted that in some cases, LA may have an inhibitory effect on the growth of LAB (Gorissen et al., 2015). In the current study, the increase in the LA of kefir to a certain level did not have a negative effect on CLA production. Jenkins and Courtney (2003) also reported that LA was more effective in the inhibition of LAB than CLA isomers. In another research, increasing the LA amount reduced the CLA levels, indicating the role of LA in decreasing the antibacterial effect (Lin et al., 1999). Lee et al. (2018) evaluated the fluctuation of CLA content in soybean powder hydrolysate milk and fermented soybean hydrolysate milk by adding different amounts of safflower oil to the samples and found that when the optimum supplemental concentration of safflower oil was exceeded, CLA conversion did not change significantly in the latter. Concerning soybean powder hydrolysate, in the current study, the CLA content was reduced up to a certain amount of LA. Therefore, we deduced that kefir containing 0.5% LA was appropriate for the fermentation of LAB in this product, consistent with the results of Lee et al. (2018). The reason for this toxic effect may be related to the structure of fatty acids and their isomers. With their double bonds, polyunsaturated fatty acids (PUFA), such as LA may join the cell membrane, damaging the lipid bilayer structure or diffusing the membrane, hence reducing its strength (Gorissen et al., 2015).

In this study, storage time did not significantly affect the CLA levels ($P > 0.05$) in kefir samples containing 0, 1 and 2% LA. However, the CLA content in kefir decreased when 0.5% LA was used (Table 1). Some researchers revealed similar results, indicating that the CLA content was not affected by storage time (Rodríguez-Alcalá and Fontecha, 2007; Shantha et al., 1995). Although the CLA values differed slightly, this was not statistically significantly ($P > 0.05$), except in samples containing 0.5% LA. Campbell et al.

(2003) enriched skim milk with CLA, stored the sample for three weeks under refrigerated conditions, and found reduced CLA content, which they attributed microbial growth causing microbial lipase activity. Serafeimidou et al. (2013) demonstrated a decreased level of CLA in cow milk yoghurt but increased CLA levels in sheep milk yoghurt during 14 days of storage. In contrast, Shantha et al. (1995) found that storage time did not affect the CLA content. Domagala

et al. (2009) observed decreased CLA levels in fermented cream during storage. In current study, the lowest CLA content was measured in the kefir sample containing 2% LA after 21 days of storage. This decrease can be related to microbial cultures as suggested by Sieber et al. (2004) or oxidative reactions in dairy products (Serafeimidou et al., 2013; Shantha et al., 1995), or even lipase activity (Campbell et al., 2003).

Table 1. The content of CLA in kefir (mg/g)

Storage time (days)	Percentage of Linoleic Acid (LA)			
	0%	0.5%	1%	2%
0	0.77±0.039 ^{1a}	0.83±0.031 ^{1a}	0.73±0.076 ^{1ab}	0.64±0.109 ^{1b}
2	0.76±0.001 ^{1a}	0.78±0.048 ^{12a}	0.68±0.033 ^{1ab}	0.64±0.110 ^{1b}
7	0.79±0.017 ^{1a}	0.79±0.050 ^{12a}	0.73±0.098 ^{1a}	0.68±0.106 ^{1a}
14	0.74±0.048 ^{1ab}	0.78±0.046 ^{12a}	0.71±0.114 ^{1ab}	0.67±0.114 ^{1b}
21	0.73±0.054 ^{1a}	0.74±0.057 ^{2a}	0.74±0.053 ^{1a}	0.63±0.101 ^{1a}

a–b: means (\pm SE, n = 3) within same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

1–2: means (\pm SE, n = 3) within same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

CONCLUSION

In the present study, the CLA level of kefir containing 0, 0.5, 1 and 2% LA was evaluated during 21 days of storage at 4 °C. The LA content above 0.5% reduced the CLA level of the samples due to the inhibitory effect of LA on LAB producing CLA. Nevertheless, storage time did not have a significant effect on the CLA amount of the kefir samples containing 0, 1 and 2% LA ($p > 0.05$). On the other hand, the CLA level of samples with 0.5% LA was reduced during storage ($p < 0.05$) due to oxidative reaction. The CLA level may also have been reduced by lipase activity, but this is considered to be less likely. Since LA could lead to the inhibition of the growth of microbial cultures, kefir containing 0.5% LA is a good source of CLA.

ACKNOWLEDGEMENTS

This project was financially supported by the Scientific Research Commission of Nigde Omer Halisdemir University (Project No:

FEB2015/39). The authors are grateful for the support.

CONFLICT OF INTEREST

Authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Betül Oskaybas Emlek performed research. Betül Oskaybas Emlek and Ayşe Özbey analyzed data, designed research, and wrote the paper.

REFERENCES

- Abd El-Salam, M. H., El-Shafei, K., Sharaf, O. M., Effat, B. A., Asem, F. M., and El-Aasar, M. (2010). Screening of some potentially probiotic lactic acid bacteria for their ability to synthesis conjugated linoleic acid. *Int J Dairy Techn* 63(1): 62-69, <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2009.00541.x>.
- AOAC. (2005). *Association of Official Analytical Chemists (AOAC)*. In: Horwitz W, Latimer GW (eds) Official methods of analysis, 18th edition. AOAC International, Gathersburg.

- Barukčić, I., Gracin, L., Režek Jambrak, A., and Božanić, R. (2017). Comparison of chemical, rheological and sensory properties of kefir produced by kefir grains and commercial kefir starter. *Mljekarstvo: časopis za unaprijeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 67(3): 169-176, <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2017.0301>.
- Bhattacharya, A., Banu, J., Rahman, M., Causey, J., and Fernandes, G. (2006). Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *J Nutr Biochem*, 17(12): 789-810, <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2006.02.009>.
- Campbell, W., Drake, M., and Larick, D. (2003). The Impact of Fortification with Conjugated Linoleic Acid (CLA) on the Quality of Fluid Milk. *J Dairy Sci*, 86(1): 43-51, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73582-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73582-6).
- Csapó, J., and Varga-Visi, É. (2015). *Conjugated linoleic acid production in fermented foods*. In *Advances in Fermented Foods and Beverages*, ed. by Wilhelm Holzapfel, Elsevier, pp. 75-105.
- do Espírito Santo, A. P., Cartolano, N. S., Silva, T. F., Soares, F. A., Gioielli, L. A., Perego, P., et al. (2012). Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. *Int J Food Microbiol*, 154(3): 135-144, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.025>.
- Domagała, J., Sady, M., Najgebauer-Lejko, D., Czernicka, M., and Wieteska, I. (2009). The content of conjugated linoleic acid (CLA) in cream fermented using different starter cultures. *Biotechn in Animal Husbandry*, 25(5-6-2): 745-751.
- Farsad-Naeimi, A., Imani, S., R Arefhosseini, S., and Alizadeh, M. (2015). Effect of Safflower Oil on Concentration of Conjugated Linoleic Acid of Kefir Prepared by Low-fat Milk. *Recent Patents on Food, Nutr & Agri*, 7(2), 128-133, DOI: 10.2174/2212798407666150831144122.
- Gamba, R. R., Caro, C. A., Martínez, O. L., Moretti, A. F., Giannuzzi, L., De Antoni, G. L., et al. (2016). Antifungal effect of kefir fermented milk and shelf life improvement of corn arepas. *International J Food Microbiol*, 235: 85-92, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.038>
- Gao, J., Gu, F., Ruan, H., Chen, Q., He, J., and He, G. (2013). Induction of apoptosis of gastric cancer cells SGC7901 in vitro by a cell-free fraction of Tibetan kefir. *Int Dairy Journal*, 30(1): 14-18, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.11.011>.
- Gaware, V., Kotade, K., Dolas, R., Dhamak, K., Somwanshi, S., Nikam, V., et al. (2011). The magic of kefir: a review. *Pharmacology online*, 1: 376-386.
- Gorissen, L., Leroy, F., De Vuyst, L., De Smet, S., and Raes, K. (2015). Bacterial production of conjugated linoleic and linolenic acid in foods: a technological challenge. *Critical Reviews in Food Sci and Nutr*, 55(11): 1561-1574, <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.706243>.
- Guzel-Seydim, Z., Seydim, A., Greene, A., and Taş, T. (2006). Determination of antimutagenic properties of acetone extracted fermented milks and changes in their total fatty acid profiles including conjugated linoleic acids. *Int J of Dairy Techn.*, 59(3):209-215, <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2006.00265.x>.
- Jenkins, J. K., and Courtney, P. D. (2003). Lactobacillus growth and membrane composition in the presence of linoleic or conjugated linoleic acid. *Canadian J Microbiol*, 49(1): 51-57, <https://doi.org/10.1139/w03-003>.
- Jiang, J., Björck, L., and Fonden, R. (1998). Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. *J Appl Microbiol*, 85(1): 95-102, DOI: 10.1046/j.1365-2672.1998.00481.x.
- Kepler, C. R., Hirons, K. P., McNeill, J., and Tove, S. (1966). Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J Biol Chem*, 241(6): 1350-1354.
- Kim, D.-H., Jeong, D., Kim, H., Kang, I.-B., Chon, J.-W., Song, K.-Y., et al. (2016). Antimicrobial activity of kefir against various food pathogens and spoilage bacteria. *Korean J Food Sci Animal Resources*, 36(6):787, doi: 10.5851/kosfa.2016.36.6.787.
- Kim, Y., and Liu, R. (2002). Increase of conjugated linoleic acid content in milk by

- fermentation with lactic acid bacteria. *J Food Sci*, 67(5), 1731-1737, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08714.x>.
- Lee, J. H., Kim, B., Hwang, C. E., Haque, M. A., Kim, S. C., Lee, C. S., et al. (2018). Changes in conjugated linoleic acid and isoflavone contents from fermented soymilks using *Lactobacillus plantarum* P1201 and screening for their digestive enzyme inhibition and antioxidant properties. *J of Funct Foods*, 43:17-28, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.01.022>.
- Li, H., Liu, Y., Bao, Y., Liu, X., and Zhang, H. (2012). Conjugated linoleic acid conversion by six *Lactobacillus plantarum* strains cultured in MRS broth supplemented with sunflower oil and soymilk. *J Food Sci*, 77(6): M330-M336, DOI: 10.1111/j.1750-3841.2012.02723.x.
- Lin, T. Y. (2000). Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and additives. *Food Chem*, 69(1): 27-31, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00218-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00218-6).
- Lin, T. Y., Lin, C.-W., and Lee, C.-H. (1999). Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid. *Food Chem*, 67(1): 1-5, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00077-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00077-1).
- Puniya, A. K., Chaitanya, S., Tyagi, A., De, S., and Singh, K. (2008). Conjugated linoleic acid producing potential of lactobacilli isolated from the rumen of cattle. *J Indust Microbiol & Biotechn*, 35(11), 1223-1228, DOI: 10.1007/s10295-008-0429-3.
- Rodríguez-Alcalá, L. M., and Fontecha, J. (2007). Hot topic: Fatty acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomer composition of commercial CLA-fortified dairy products: Evaluation after processing and storage. *J Dairy Sci*, 90(5): 2083-2090, DOI: 10.3168/jds.2006-693.
- Satir, G., and Guzel-Seydim, Z. B. (2016). How kefir fermentation can affect product composition? *Small Ruminant Research*, 134: 1-7, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.10.022>.
- Sébedio, J.-L., Christie, W. W., and Adlof, R. (2003). "Advances in conjugated linoleic acid research", AOCS Publishing.
- Sehat, N., Rickert, R., Mossoba, M. M., Kramer, J. K., Yurawecz, M. P., Roach, J. A., et al. (1999). Improved separation of conjugated fatty acid methyl esters by silver ion-high-performance liquid chromatography. *Lipids*, 34(4): 407-413.
- Serafeimidou, A., Zlatanov, S., Kritikos, G., and Tourianis, A. (2013). Change of fatty acid profile, including conjugated linoleic acid (CLA) content, during refrigerated storage of yogurt made of cow and sheep milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(1): 24-30, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.02.011>.
- Shantha, N. C., Ram, L. N., O'leary, J., Hicks, C. L., and Decker, E. A. (1995). Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. *J Food Sci*, 60(4): 695-697, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb06208.x>.
- Sieber, R., Collomb, M., Aeschlimann, A., Jelen, P., and Eyer, H. (2004). Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products-a review. *Int Dairy J*, 14(1): 1-15, [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00151-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00151-1).
- Siurana, A., and Calsamiglia, S. (2016). A metaanalysis of feeding strategies to increase the content of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy cattle milk and the impact on daily human consumption. *Animal Feed Sci Techn*, 217: 13-26, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.04.013>.
- Van Nieuwenhove, C., Oliszewski, R., González, S., and Perez Chaia, A. (2007). Conjugated linoleic acid conversion by dairy bacteria cultured in MRS broth and buffalo milk. *Letters in Appl Microbiol*, 44(5): 467-474, <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02135.x>.
- Vargas, M., Cháfer, M., Albors, A., Chiralt, A., and González-Martínez, C. (2008). Physicochemical and sensory characteristics of yoghurt produced from mixtures of cows' and goats' milk. *Int Dairy J*, 18(12):1146-1152, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.06.007>.

Vieira, C., Álvares, T., Gomes, L., Torres, A., Paschoalin, V., and Conte-Junior, C. (2015). Kefir grains change fatty acid profile of milk during fermentation and storage. *PloS one*, 10(10): e0139910, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139910>.

Whitlock, J. R., Heynen, A. J., Shuler, M. G., and Bear, M. F. (2006). Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science*, 313(5790): 1093-1097, DOI: 10.1126/science.1128134.

Xu, S., Boylston, T. D., and Glatz, B. A. (2004). Effect of lipid source on probiotic bacteria and conjugated linoleic acid formation in milk model

systems. *J Am Oil Chem' Society*, 81(6): 589-595, <https://doi.org/10.1007/s11746-006-0946-z>.

Zelovitis, I., Vlachou, A.-M., Pappa, E. C., and Kondyli, E. (2016). Manufacture of A “Functional” Fermented Milk Product with the Addition of an Alcoholic Plant Origin Extract. *Current Research in Nutr and Food Sci*, 4 (Special Issue Nutrition in Conference October 2016), 97-104, <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.4.Special-Issue-October.13>.



EFFECT OF H₂O₂ OXIDATION STRESS ON CAROTENOID PRODUCTION IN *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* AND ITS ANTIOXIDANT ACTIVITY

Çiğdem Yüksel¹, Saliha Şahin^{1*}, Turgay Çakmak²

¹Department of Chemistry, Faculty of Science and Arts, University of Bursa Uludağ, Bursa, Turkey

²Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Istanbul Medeniyet University, Istanbul, Turkey

Received / Geliş /: 22.12.2020; Accepted / Kabul: 20.04.2021; Published online / Online baskı: 05.06.2021

Yüksel, Ç., Şahin, S., Çakmak, T. (2021). Effect of H₂O₂ oxidation stress on carotenoid production in *Chlamydomonas reinhardtii* and its antioxidant activity. *GIDA* (2021) 46 (4) 903-913 doi: 10.15237/gida.GD20143

Yüksel, Ç., Şahin, S., Çakmak, T. (2021). H₂O₂ oksidasyon stresinin *Chlamydomonas reinhardtii* mikroalginin karotenoid üretimi ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisi. *GIDA* (2021) 46 (4) 903-913 doi: 10.15237/gida.GD20143

ABSTRACT

The effect of H₂O₂ oxidation stress on carotenoid production in *C. reinhardtii* and its antioxidant properties were investigated in this study. For this purpose, the amount of carotenoids determined by HPLC-DAD, total of phenolic contents and antioxidant capacities determined by Folin and CHROMAC methods respectively, in different oxidative stress conditions were studied. When the concentration of H₂O₂ was increased during the incubation period, total of phenolic content and antioxidant capacity value were decreased. In the same incubation period, HPLC-PDA results showed highest amounts of carotenoids in microalgae exposed to 1 µM H₂O₂ oxidative stress and it was thought that toxic dose might be in 20 µM oxidation media for microalgae. Thus, when the oxidative stress conditions were changed, the amounts of carotenoids and the structure of carotenoids could be changed. This study is important that the relationship between carotenoid and the power of oxidation stress in microalgae system.

Keywords: Antioxidant, *Chlamydomonas reinhardtii*, ultrasonic-assisted extraction, HPLC, carotenoid, oxidative stress.

H₂O₂ OKSİDASYON STRESİNİN *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* MİKROALGİNİN KAROTENOİD ÜRETİMİ VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZ

Bu çalışmada *C. reinhardtii* mikroalginin karotenoid üretimi ve antioksidan özellikleri üzerine H₂O₂ molekülünün oksidasyon etkisi incelenmiştir. Bu amaçla karotenoid miktarları HPLC-DAD cihazı ile, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite miktarları sırasıyla Folin ve CHROMAC yöntemleri ile tayin edilmiştir. Oksidatif stress süresi arttıkça karotenoid miktarlarında da artma görülmüştür. İnkübasyon süresi boyunca H₂O₂ konsantrasyonu arttırıldığında, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değeri azalmıştır. Aynı inkübasyon süresi boyunca HPLC-DAD sonuçlarına göre, 1 µM H₂O₂ oksidatif strese maruz kalan mikroalgelerde en yüksek miktarda karotenoid

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: salihabilgi@uludag.edu.tr

☎: (+90) 224 294 17 24

☎: (+90) 224 2941899

Çiğdem Yüksel; ORCID no: 0000-0002-7923-9764

Saliha Şahin; ORCID no: 0000-0003-2887-5688

Turgay Çakmak; ORCID no: 0000-0002-4953-8384

sentezlendiği ve mikroalgler için toksik dozun 20 µM oksidasyon ortamında olabileceği anlaşılmıştır. Böylece, oksidatif stres koşulları değiştiğinde, karotenoidlerin miktarları ve karotenoidlerin yapısı değiştirilebilir. Bu çalışma, mikroalg sisteminde, karotenoid sentezi ile oksidasyon stresi arasındaki ilişkinin açıklanması açısından önemlidir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, *Chlamydomonas reinhardtii*, ultrasonik destekli ekstraksiyon, HPLC, karotenoid, oksidatif stres

INTRODUCTION

Microalgae are unicellular microscopic and photosynthetic microorganisms. Due to their photosynthetic properties, they can take H₂O and CO₂ into their structures and transform them into organic compounds in different forms with the help of sunlight (Guedes et al., 2011; Olasehinde et al., 2017). These microorganisms can be found everywhere in the aquatic media (Minhas et al., 2016). Microalgae are known to contain bioactive components such as protein, fat, carbohydrates, amino acids and carotenoids. Microalgae show that antioxidant properties because of they contain carotenoids (Abd El Baky et al., 2013). The most important microalgae are *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Dunaliella*, *Muriellopsis* and *Haematococcus* spp (Erdoğan et al., 2015).

Chlamydomonas reinhardtii belongs to the *Chlorophyta* group, also called green algae. It is an organism with an oval cell shape, usually 10 µm in size and 3 µm in width. It can live in many different environments such as fresh water, moist soil, sea and snow. Because of the ability of photosynthetic properties and the presence of whips, they are regarded as the predecessors of both plants and animals (Erdoğan et al., 2015; Rochaix 1995; Çakmak et al., 2015).

Carotenoids are natural compounds that can be synthesized in all photosynthetic organisms and also synthesized by some non-photosynthetic bacteria, yeasts and fungi (Rao et al., 2007; Moran et al., 2010; Cazzonelli 2011). The antioxidant properties of carotenoids due to increasing disease (Alzheimer, cancer, cardiovascular disease, heart diseases, etc.) in recent years have become the focus of many studies. There are more than 600 carotenoids in the sources and many researchers have identified carotenoids using fruits, vegetables and microorganisms (algae, bacteria, fungi). The most common carotenoids are phytophthora, lycopene, γ-

carotene, β-carotene, α-carotene, ξ-carotene, β-cryptoxanthin, α-cryptoxanthin, zeaxanthin, lutein, violaxanthin and astaxanthin in vegetables and fruits. Some diseases are tried to be prevented by taking carotenoids through food or medicines (Olasehinde et al., 2017). For this reason, the assignment of carotenoids becomes important.

Free radicals are formed in an unstable structure due to chemical reactions or external factors in our body. In order to become stable, these molecules attack cell components such as lipids, proteins and DNA and cause damage. Antioxidant defense mechanisms exist in organisms to control the formation of free radicals and to prevent harmful effects of molecules. Antioxidants are molecules that prevent chain reactions that can cause many diseases by neutralizing free radicals that damage the cells. In some cases, however, the antioxidant defense mechanism of the body doesn't completely prevent the effect of free radicals, and the condition called oxidative stress occurs. For this reason, external antioxidant supplementation is required (El-Bahr 2013).

Recent studies have examined the effects of oxidative stress-inducing factors such as light, pH, and nutrient stress on carotenoids in order to increase antioxidant content in microalgae. *Phaeodactylum tricornerutum*, *Tetraselmis suecica* and *Chlorella vulgaris* were selected as target microalgae and antioxidant activity, total phenolic content, amount of carotenoid, vitamins E and C were compared in the presence of nitrogen and phosphorus to optimize antioxidant production in microalgae (Goiris et al., 2015). Compared to the control group for all three target microalgae, antioxidant activity, total phenol content, and total carotenoid content were reduced in microalgae exposed to nitrogen stress (Goiris et al., 2015). There are several research about regulation of carotenoid biosynthesis and

accumulation that conducted on a limited number of microalgal species such as β -carotene accumulation in the *Dunaliella salina*. (Nikulina et al., 2016). There are few studies about carotenoid biosynthesis and accumulation of *C. reinhardtii* in the literature (Nikulina et al., 2016).

In this study, carotenoid biosynthesis and accumulation of *C. reinhardtii* were investigated under H₂O₂ oxidation with different concentrations and time. The carotenoids of *C. reinhardtii* microalgae produced under different oxidative stress environments were analyzed by HPLC-DAD. Total phenolic content and antioxidant capacity of *C. reinhardtii* were determined by Folin-Ciocalteu method and CHROMAC method, respectively under oxidative stress.

MATERIAL AND METHODS

Chemicals

Ethanol, acetone, dichloromethane, ter-butyl methyl ether and methanol were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Folin-Ciocalteu reagent, trolox [(±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid], gallic acid, neoxanthin, beta-carotene and alpha-carotene were purchased from Sigma Aldrich (St Louis, USA). Lutein and beta cryptoxanthin were purchased from Extrasynthese (France), astaxanthin and zeaxanthin were purchased from Dr.Ehrenstorfer GmbH (UK). The other chemicals used were of analytical grade.

Isolation, identification, and cultivation

Chlamydomonas reinhardtii sp TMCC8 was isolated from Lake Nemrut, located in the Nemrut stratovolcano in Bitlis Province, Turkey (N 42°15'25"- 42°24' 48" and E 38° 31'11"- 38°36'12"). The strain was first morphologically identified via microscopic observation according to Kessler (1976). The species was also characterized via sequencing of the 18S rRNA gene. Accordingly, the genomic DNA fragment was amplified by PCR, sequenced, and analyzed following Hoham et al. (2002). Sequence comparison of the 18S rRNA genes was performed using the NCBI databases with BLASTN search (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>

Blast.cgi) and BioEdit-graphical biological sequence editor v7.0.9 and submitted to NCBI gene bank with an accession number, KP259886. For experiments, *C. reinhardtii* was cultured in 500 ml of TAP medium (Rippka et al., 1979, Çakmak et al., 2015) in 1 liter Erlenmeyer flasks under continuous light (150 PAR) on an orbital shaker at 120 rpm and 25°C. The authors adhered and confirmed that ethical statement as noted on the journal's author guidelines page. The Directive 2010/63/EU standard was followed for this study.

H₂O₂ oxidation of *C. reinhardtii*

In order to count the algae at different times, an amount of 4-day microalgae culture was allowed to incubate in the control medium. After sowing in the sterile chamber, the newly cultivated samples were cultured in a shaking incubator at 120°C at 23° C under continuous light at 100 μ mol photon m⁻² s⁻¹ intensity. The growth of microalgae grown in 250 mL erlene containing 100 mL liquid growth culture was divided into four groups with three replicates when they reached the absorbance value of 1.0 ($\lambda=680$ nm). In addition to the control group, the cultures were treated with H₂O₂ at a concentration of 1 mM, 5 mM and 20 mM and were harvested at 2, 8, 24 and 72 h after application. The concentration of H₂O₂ in sample was determined according to the literature (Çakmak et al., 2015).

Ultrasonic-assisted extraction

C. reinhardtii samples were lyophilized for an hour (freezing at -86°C, followed by drying at 0,1 mbar). Then the lyophilized samples were extracted with ethanol (2 mL) and mixed by vortex. The samples were placed in ultrasonic cleaning bath at 40°C for 2 hours. Ultrasonic-assisted extraction was performed in a temperature-controlled ultrasonic cleaner bath (40 kHz and 200 W) and also the temperature was monitored using a thermometer. Then, the extract was filtered and the filtrate was used for spectroscopic and chromatographic analysis.

Folin-Ciocalteu method

Determination of total phenolic content using the Folin–Ciocalteu method was performed

according to literatures (Güçlü et al., 2006; Şahin et al., 2013). 0.2 mL of sample was taken, 1.8 mL of distilled water and 2.5 mL of Lowry C solution (50 mL Lowry A + 1 mL Lowry B) were added in a test tube. After vortexed samples, 0.25 mL of Folin-Ciocalteu reagent was added a tube and the blue color was allowed to stabilize under darkness for about 30 min. The absorbance was measured at 750 nm by UV-VIS spectrophotometry (Varian Cary-50 UV/vis, in Melbourne, Australia) equipped with 10 mm quartz cuvettes. The results were expressed as mg gallic acid equivalent (GAE) of per gram of sample.

CHROMAC method

Antioxidant capacities of microalgae samples under oxidative stress were determined using the CHROMAC method was performed according to literatures (Işık et al., 2013; Nasir et al., 2017). 0.2 mL of sample and 0.3 mL of distilled water were added in a test tube. After vortexed samples, 3.5 mL of freshly prepared pH 2.8 phosphate buffer and 0.5 mL of $K_2Cr_2O_7$ (50 mg L^{-1}) were added in a tube. After incubation for 1 min, 0.5 mL of 1,5-diphenylcarbazide (3.4×10^{-4} mol L^{-1}) was added and stirred. The test tube was waited in the dark for 50 min to complete the reaction. The absorbance was measured at 540 nm by UV-VIS spectrophotometry. The results were expressed as mg Trolox equivalent (TE) of per gram of sample.

HPLC- PDA analysis

The carotenoids were analyzed by high performance liquid chromatography. An Agilent 1200 HPLC- PDA system (Waldbronn, Germany), consisting of a vacuum degasser, binary pump, autosampler, and a diode array detector, was used. Carotenoid separation was carried out on an YMC C30 carotenoid column (4.6 x 250 mm, 5 μ m id.) from Waters (USA). Mobile phase consists of methanol: water (95:5, % v/v, consists of % 0.05 triethylamine in water, solvent A) and ter-butyl methyl ether (solvent B). Gradient conditions were as follows: 0-15 min 5% B (95% A), 15-20 min 20% B (80% A), 20-30 min 30% B (70% A), 30-40 min 40% B (60% A), 40-45 min 75% B (25% A), total run time is 45 min. The flow rate was 1 mL/min, injection volume was 20 μ L and the column temperature set to 25

°C. The eluent was detected at 450 nm using a UV-visible detector.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed with Minitab 17.0 for Windows (Minitab Inc., State College PA). ANOVA was used for data comparing at 5% significance level. Principal component analysis (PCA) was used for visualizing the effect of experiments (Total phenolic content, antioxidant capacity, carotenoid amount). The data was standardized for PCA analysis. With eigenvalues of 73.55 (PC1), 24.19 (PC2) and 3.98 (PC3) that are estimated from the eigenvectors of the matrix represent 70.05, 23.04 and 3.80% of the total variance.

RESULTS AND DISCUSSION

Validation of analytical method

The linearity of the HPLC- PDA method was investigated for the determination of carotenoids at a concentration of 0.25-10 mg/L. Regression coefficients for each of the calibration plots were obtained using different carotenoid compounds. As shown in Table 1, the limits of detection (LOD, 3 s/m) and limits of quantification (LOQ, 10 s/m) of some carotenoids (lutein, β -carotene, α -carotene, zeaxanthin, neoxanthin) in *C. reinhardtii* microalgae were calculated. The peak purity values, capacity (k') and selectivity factors (α) of the carotenoids were also calculated. Based on the obtained values, it has been shown that carotenoids can be distinguished by HPLC- PDA method successfully.

Identification of carotenoids under oxidative stress

This study was taken up to understand the influence of H_2O_2 oxidation stress on carotenogenesis. After the growth phase of *C. reinhardtii*, different concentration levels (1, 5 and 20 μ M) of H_2O_2 were studied. The *C. reinhardtii* cultures exposed to H_2O_2 for 72 h and accumulated higher carotenoid production as compared to control within 24 h (Figs. 1-5). However, the decrease on carotenoid production was observed at 72 h. When trials were conducted using different concentration of H_2O_2 , cell rupturing and damage was observed at higher

concentration (>20 μ M). Growing cells were found to be more sensitive to higher concentration of H₂O₂ compared to control group. H₂O₂, which is non-toxic cellular metabolite, can act as a signaling molecule that mediates responses to various stimuli and stresses, such as the regulation of the antioxidant defense system (Mittler 2002; Neill et al., 2002; Apel et al., 2004; Mittler et al., 2004). Carotenoids are natural pigments synthesized from plants as well as from algae and microorganisms. Neoxanthin, lutein, zeaxanthin, α -carotene and β -carotene were determined in *C. reinhardtii* under H₂O₂ oxidative stress. The significant

differences that detected in amount of carotenoids among the samples depending on the concentration of H₂O₂ and oxidation time ($p < 0.05$). The amount of carotenoid was decreased in control group except zeaxanthin and α -carotene. At the beginning, the amounts of carotenoids have similar decrease behavior at the same concentration of H₂O₂ and then increased gradually after 24 h. The amounts of synthesized carotenoid in the live culture medium under oxidation condition are sensitive to some factors such as concentration of oxidant in the environment, enzyme concentration, etc (Çakmak et al., 2015).

Table 1. Analytical parameters for analysis of carotenoids by HPLC- PDA

Carotenoids	Concentration (mg/L)	y=mx+b	R ²	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	Peak purity (%)	Capacity factor (k')	Selectivity factor (α)
Lutein	0.25-10	y = 71.224x - 1.9159	0.998	0.02	0.06	99.88	5.04	1.19
β -carotene	0.25-10	y = 154.46x - 19.5	0.998	0.06	0.21	99.99	10.56	1.04
α -carotene	0.25-10	y = 118.09x - 17.225	0.999	0.02	0.06	98.52	9.53	1.11
Zeaxanthin	0.25-10	y = 265.7x - 23.055	0.998	0.04	0.12	99.50	6.00	1.06
Neoxanthin	0.25-10	y = 35.158x + 2.4447	0.997	0.01	0.02	96.89	3.15	1.15

Carotenoids, which are specific for each microalgae, can be synthesized using necessary enzymes. According to the biosynthesis diagram of microalgae, α -carotene can be converted to lutein, β -carotene can be converted to zeaxanthin and neoxanthin from these carotenoids (Cordero et al., 2011; Butnariu 2016). In this study, the amounts of lutein and neoxanthin were found to be high in HPLC analysis when oxidative stress was applied. Because it was thought that α -carotene converted to lutein and β -carotene converted to neoxanthin after oxidative stress according to the biosynthesis diagram of microalgae.

Neoxanthin has shown an increase of 2 and 3-fold than control group under 1 μ M H₂O₂ oxidation stress at first 24 h (Fig. 1). And also, the amount of neoxanthin was approximately 1.5-fold higher than control group under 5 and 20 μ M H₂O₂ oxidation stress. Because of oxidation of carotenoid and damaging of algae cell, the amount of neoxanthin was decreased during 72 h.

Lutein, which is one of the oxygenated derivatives of carotenes, has the highest amount (5.75 mg/g sample under 1 μ M H₂O₂ oxidation stress) in *C. reinhardtii* under H₂O₂ oxidative stress (Fig. 2). The amount of lutein that found in human tissues was decreased in that order: 2 h > 24 h > 8 h > 72 h. It was seen that the amount of carotenoid depends on the several factors such as H₂O₂ concentration, time, temperature and also presence of other antioxidants. And also, these factors can attract the redox properties of carotenoids.

Zeaxanthin has the more ability to scavenge reactive oxygen species than lutein (Woodall et al., 1997). It has shown an increase 4 and 5-fold than control group under 1 μ M H₂O₂ oxidation stress at first 24 h (Fig. 3). Its reactivity to reactive oxygen species is higher than that of lutein in the Fenton based system (Siems et al., 2005). Because of this reason the increase at the amount of zeaxanthin is higher than that of lutein within 24 h under 1 μ M H₂O₂ oxidation stress.

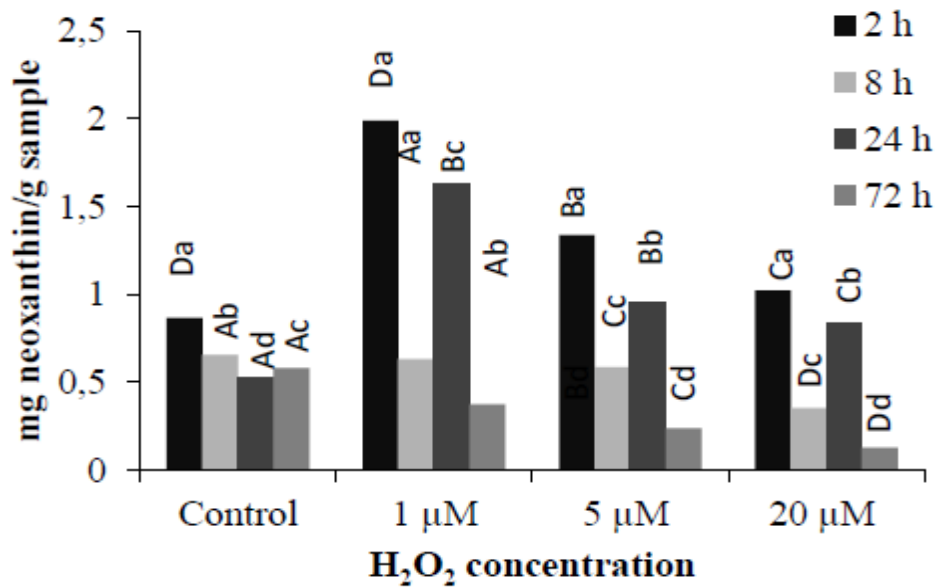


Fig. 1. Effect of H₂O₂ on the amount of neoxanthin in *C. reinhardtii*. Different uppercase letters (A-D) indicate significant differences between applied H₂O₂ concentrations at same time ($p < 0.05$), different lowercase letters (a-d) indicate significant differences between times at the same H₂O₂ concentration ($p < 0.05$).

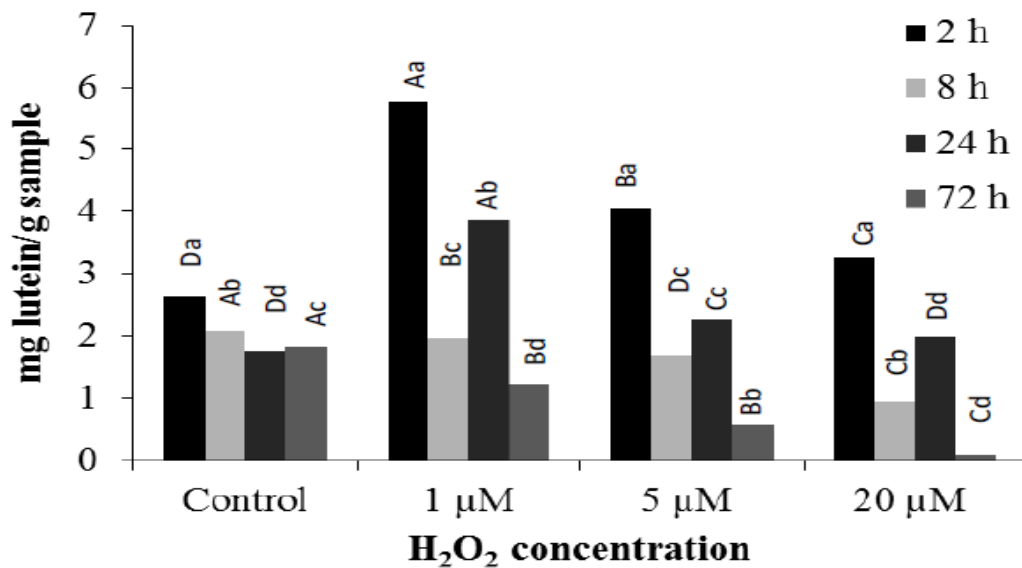


Fig. 2. Effect of H₂O₂ on the amount of lutein in *C. reinhardtii*. Different uppercase letters (A-D) indicate significant differences between applied H₂O₂ concentrations at same time ($p < 0.05$), different lowercase letters (a-d) indicate significant differences between times at the same H₂O₂ concentration ($p < 0.05$).

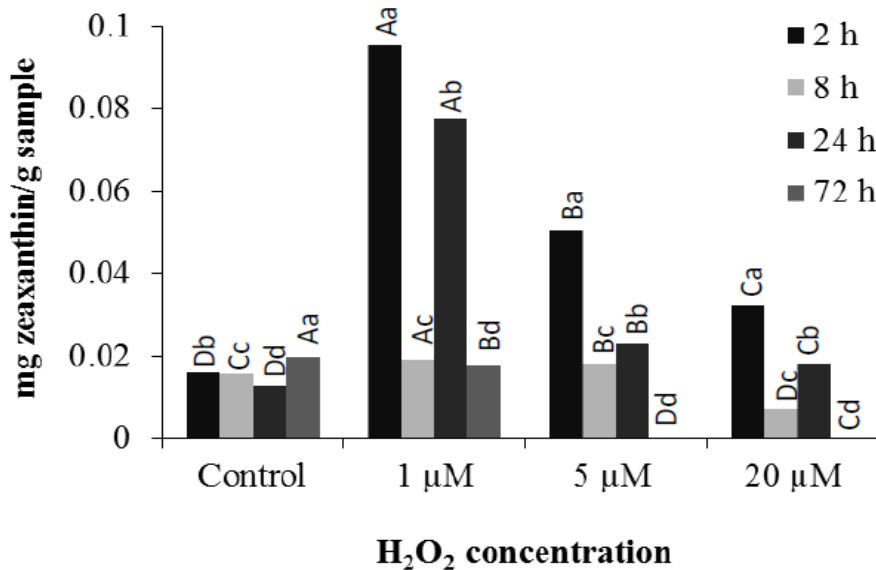


Fig. 3. Effect of H₂O₂ on the amount of zeaxanthin in *C. reinhardtii*. Different uppercase letters (A-D) indicate significant differences between applied H₂O₂ concentrations at same time ($p < 0.05$), different lowercase letters (a-d) indicate significant differences between times at the same H₂O₂ concentration ($p < 0.05$).

β -carotene and α -carotene, that are pro-vitamin A derivatives, have the same behavior under oxidative stress. There was no α -carotene detection under 5 μ M H₂O₂ oxidation stress after 72 h in Fig. 4. When comparing with β -carotene, 0.06 mg β -carotene was quantified by HPLC-PDA in Fig. 5. As a result, the quenching activity of α -carotene is bigger than that of β -carotene. The amounts of these carotenoids were decreased in that order: 2 h > 24 h > 8 h > 72 h without control group.

While little is known about carotenogenesis pathways in algae, some suggestion pathways are presented based on carotenoid structures (Takaichi, 2011). Carotenoids protect organisms from photodegradation by damping the photodegradation created by singlet oxygen and triplet chlorophyll (Cl) species that can participate in redox reactions. Carotenoids help keep the membrane structure stable (Lohr et al., 2005). In case of formation of damaging reactive oxygen types, it is seen that some unstable and photoreactive species are formed during Cl biosynthesis. Therefore, carotenoid and Cl

biosynthesis occur in chloroplasts and the formation of all enzymes in vascular plants is encoded by nuclear genes and synthesized in cytoplasm cells. A sudden increase in total carotenoid levels is observed in the medium of over pressure on the phytoene synthase genes (Lohr et al., 2005). In this study, the amount of carotenoids changed depending on the H₂O₂ concentration in the environment. In *C. reinhardtii* microalgae, α and β carotene are formed from lycopene carotenoid as a result of catalysis of the enzymes lycopene ϵ -cyclase (LCYe) and lycopene β -cyclase (LCYb). Lutein and zeaxanthin are then hydroxylated in α and β carotene. The enzymes involved here are P450 hydroxylases (P450b-CHY for α and β carotene, P450e-CHY for α -carotene). Neoxanthin can then be formed from zeaxanthin. This reaction can also be catalyzed by neoxanthin synthase (NSY) enzyme (Cordero et al., 2011). However, it is not known exactly how these enzymes are affected in oxidative stress environment and how they affect carotenoid biosynthesis in the literature. Under oxidative stress the carotenoids and their oxidation products have not studied yet in biological

samples such microalgae. The knowledge in similar study seems to be important to put forth the relationship between the amount of carotenoid and the power of oxidation stress. *C.*

reinhardtii has been selected as the most valuable microalgae for production of carotenoids as a source of natural pigment when grown under defined conditions.

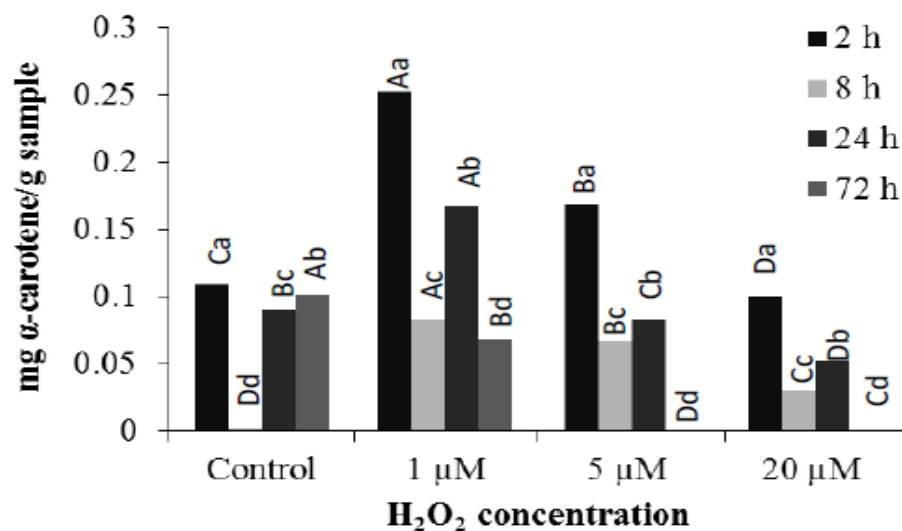


Fig. 4. Effect of H₂O₂ on the amount of α-carotene in *C. reinhardtii*. Different uppercase letters (A-D) indicate significant differences between applied H₂O₂ concentrations at same time ($p < 0.05$), different lowercase letters (a-d) indicate significant differences between times at the same H₂O₂ concentration ($p < 0.05$).

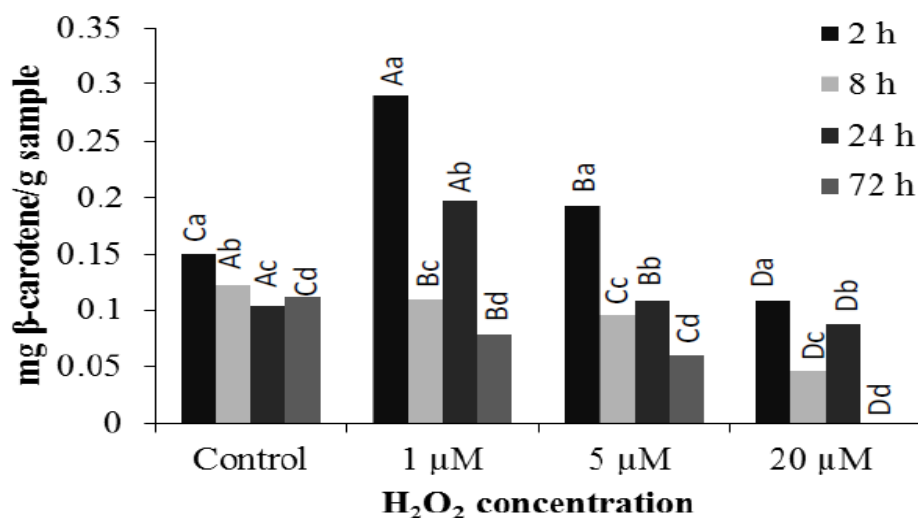


Fig. 5. Effect of H₂O₂ on the amount of β-carotene in *C. reinhardtii*. Different uppercase letters (A-D) indicate significant differences between applied H₂O₂ concentrations at same time ($p < 0.05$), different lowercase letters (a-d) indicate significant differences between times at the same H₂O₂ concentration ($p < 0.05$).

Total phenolic contents and antioxidant capacity of samples under oxidative stress

Antioxidant capacities and total phenolic contents of *C. reinhardtii* samples were determined by CHROMAC and Folin-Ciocalteu methods, respectively (Table 2). The correlation coefficient between total phenolic contents and antioxidant capacities is 0.57. This indicates that the results are compatible. When the concentration H₂O₂

was increased, the antioxidant capacity and total phenolic content of extract decreased at the same time. The highest amounts were obtained from extracts that were exposed to 1 μ M H₂O₂ oxidative stress for 72 hours. This shows that the carotenoids are more abundant in the environment because of cell destruction at the end of 72 hours.

Table 2. The total of phenolic content and antioxidant capacity value in microalgae samples of *Chlamydomonas reinhardtii* exposed to different oxidative stresses

Time	Samples	Antioxidant capacity (mg TE/g sample)	Total phenolic content (mg GAE/g sample)
2 h	Control	6.861 \pm 0.096	0.334 \pm 0.004
	1 μ M H ₂ O ₂	7.550 \pm 0.400	0.456 \pm 0.005
	5 μ M H ₂ O ₂	6.954 \pm 0.057	0.323 \pm 0.004
	20 μ M H ₂ O ₂	5.474 \pm 0.589	0.301 \pm 0.002
8 h	Control	7.037 \pm 0.396	0.344 \pm 0.011
	1 μ M H ₂ O ₂	7.569 \pm 0.020	0.411 \pm 0.010
	5 μ M H ₂ O ₂	7.189 \pm 0.002	0.398 \pm 0.002
	20 μ M H ₂ O ₂	7.044 \pm 0.220	0.382 \pm 0.006
24 h	Control	6.759 \pm 0.374	0.356 \pm 0.021
	1 μ M H ₂ O ₂	7.073 \pm 0.244	0.408 \pm 0.010
	5 μ M H ₂ O ₂	6.934 \pm 0.113	0.372 \pm 0.003
	20 μ M H ₂ O ₂	6.581 \pm 0.051	0.353 \pm 0.003
72 h	Control	7.490 \pm 0.053	0.342 \pm 0.005
	1 μ M H ₂ O ₂	9.174 \pm 0.162	0.469 \pm 0.016
	5 μ M H ₂ O ₂	8.517 \pm 0.596	0.348 \pm 0.010
	20 μ M H ₂ O ₂	7.487 \pm 0.068	0.307 \pm 0.002

Principal component analysis

Many factors are correlated with each other and their contributions to the variation have been major or minor. The two outliers (total phenolic content and antioxidant capacity) have seen in the loading plot of microalgae extract on PC1-PC2 (Fig. 6). These outliers were distinguished from other factors by significantly. The amounts of carotenoid (neoxanthin, lutein, zeaxanthin, α -carotene and β -carotene) were correlated in each other.

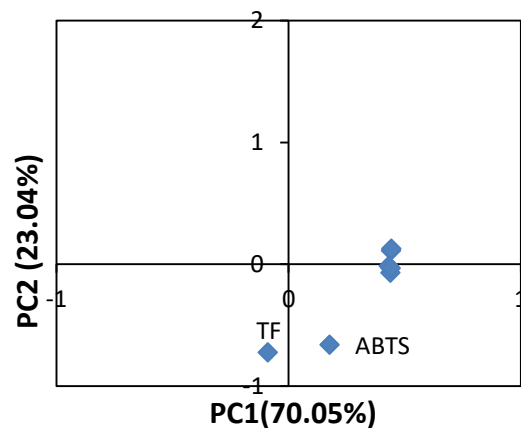


Fig. 6. The loadings plot of *Chlamydomonas reinhardtii* extracts on PC1-PC2 (TF: total phenolic content, ABTS: antioxidant capacity).

CONCLUSIONS

The effect of H₂O₂ oxidation stress on carotenoid production in *C. reinhardtii* for 72 h was investigated in this study. And after oxidative stress, total phenolic contents and antioxidant capacities of remaining samples were determined. The amounts of lutein and neoxanthin were found to be higher when determined by HPLC-PDA under oxidative stress. The five carotenoids' quantities were rapidly increased under 1 µM H₂O₂ oxidation stress. However, the highest total phenolic contents and antioxidant capacities were taken under 1 µM H₂O₂ oxidation stress for 72 h. The carotenoids are predominant antioxidants that effects on these results because of higher increase on their amount in that media. This study is important that the relationship between the amount of carotenoid and the power of oxidation stress was put forth successfully. Later, the oxidation products of these carotenoids can study to reveal anti- or pro-oxidant effects and biological potentials of carotenoids.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research is supported by the Scientific Research Projects Foundation (BAP) of the Uludag University of Turkey [Project No. OUAP (F)-2013/12].

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there are no potential conflicts or competing of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The conception and design of the study: Saliha Şahin, Turgay Çakmak. Acquisition of data: Çiğdem Yüksel, Saliha Şahin, Turgay Çakmak. Analysis and interpretation of data: Çiğdem Yüksel, Saliha Şahin. Drafting the article: Saliha Şahin. Revising the article critically for important intellectual content: Saliha Şahin. Final approval of the version to be submitted: Saliha Şahin

REFERENCES

Abd El Baky, H. H., El-Baroty, G. S. (2013). Healthy Benefit of Microalgal Bioactive Substances. *Journal of Aquatic Science*, 1(1), 11-22. doi:10.12691/jas-1-1-3.

Apel, K., Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal

transduction. *Annu Rev Plant Biol*, 55, 373-399. doi:10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701

Butnariu, M. (2016). Methods of analysis (extraction, separation, identification and quantification) of carotenoids from natural products. *Journal of Ecosystem & Ecography*, 6, 193. doi:10.4172/2157-7625.1000193

Cazzonelli, C. I. (2011). Carotenoids in nature: insights from plants and beyond. *Funct Plant Biol*, 38, 833-847. doi:10.1071/FP11192.

Cordero, B. F., Couso, I., León, R., Rodríguez, H., Vargas, M. Á. (2011). Enhancement of carotenoids biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* by nuclear transformation using a phytoene synthase gene isolated from *Chlorella zoofingensis*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 91, 341-351. doi:10.1007/s00253-011-3262-y.

Çakmak, Z. E., Ölmez, T. T., Çakmak, T., Menemen, Y., Tekinay, T. (2015). Antioxidant response of *Chlamydomonas reinhardtii* grown under different element regimes. *Phycological Res*, 63, 202-211. doi:10.1111/pre.12096.

El-Bahr, S. M. (2013). Biochemistry of free radicals and oxidative stres. *Sci Int*, 1(5), 111-117. doi:10.17311/sciintl.2013.111.117.

Erdoğan, A., Çağır, A., Dalay, M. C., Eroğlu, A. E. (2015). Composition of carotenoids in *Scenedesmus protuberans*: application of chromatographic and spectroscopic methods. *Food Anal Methods*, 8, 1970-1978. doi:10.1007/s12161-015-0088-8.

Goiris, K., Colen, W. V., Wilches, I., León-Tamariz, F., Cooman, L. D., Muylaert, K. (2015). Impact of nutrient stress on antioxidant production in three species of microalgae. *Algal Res*, 7: 51-57. doi:10.1016/j.algal.2014.12.002.

Guedes, A. C., Amaro, H. M., Malcata, F. X. (2011). Microalgae as sources of carotenoids. *Mar Drugs*, 9, 625-644. doi:10.3390/md9040625

Güçlü K., Altun M., Özyürek M., Karademir S. E., Apak R. (2006). Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods. *Int J Food Sci Technol*, 41, 76-85. doi:10.1111/j.1365-2621.2006.01347.x

- Hoham, R.W., Bonome, T.A., Martin, C.W., Leebens-Mack, J.H. (2002). A combined 18S rDNA and rbcL phylogenetic analysis of Chloromonas and Chlamydomonas (Chlorophyceae, Volvocales) emphasizing snow and other cold-temperature habitats. *J Phycol*, 38,1051–1064. doi:10.1046/j.1529-8817.2002.t01-1-01227.x
- Işık, E., Şahin, S., Demir, C. (2013). Development of a new chromium reducing antioxidant capacity (CHROMAC) assay for plants and fruits. *Talanta*, 111, 119–124. doi:10.1016/j.talanta.2013.02.053
- Kessler, E. 1976. Comparative physiology, biochemistry, and taxonomy of Chlorella (Chlorophyceae). *Plant Syst Evol*, 125, 129–138. doi:10.1007/BF00986146.
- Lohr, M. Im, C-S., Grossman, A.R. (2005). Genome-Based Examination of Chlorophyll and carotenoid biosynthesis in Chlamydomonas reinhardtii. *Plant Physiol*, 138, 490-515. doi:10.1104/pp.104.056069.
- Minhas, A. K., Hodgson, P., Barrow, C. J., Adholeya, A. (2016). A review on the assessment of stress conditions for simultaneous production of microalgal lipids and carotenoids. *Front Microbiol*, 7, 546. doi:10.3389/fmicb.2016.00546.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci*, 7, 405–410. doi:10.1016/s1360-1385(02)02312-9.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci*, 9, 490–498. doi:10.1016/j.tplants.2004.08.009
- Moran, N. A., Jarvik, T. (2010). Lateral transfer of genes from fungi underlies carotenoid production in aphids. *Science*, 30, 328(5978):624–627. doi:10.1126/science.1187113
- Nasır, N. T. B. M., Şahin, S., Çakmak, Z. E., Çakmak, T. (2017). Optimization of ultrasonic-assisted extraction via multiresponse surface for high antioxidant recovery from *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta). *Phycologia*, 56, 561–569. doi:10.2216/16-132.1
- Neill, S. J., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R.D., Hancock, J.T. (2002). Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. *J Exp Bot*, 53, 1237–1247. doi:10.1093/jexbot/53.372.1237.
- Nikulina, K., Chunaev, A.S., Boschetti, A. (2016). Accumulation of zeta-carotene in Chlamydomonas reinhardtii under control of the ac5 nuclear gene. *Plant Cell Rep*, 19, 37-42. doi:10.1007/s002990050707.
- Olasehinde, T. A., Olaniran, A. O., Okoh, A. I. (2017). Therapeutic potentials of microalgae in the treatment of alzheimer's disease. *Molecules*, 22, E480. doi:10.3390/molecules22030480
- Rao, A. V., Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacol Res*, 55, 207–216. doi:10.1016/j.phrs.2007.01.012
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J.B., Herdman, M., Stanier, R.Y. (1979). Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *J Gen Appl Microbiol*, 111, 1–61. doi:10.1099/00221287-111-1-1
- Rochaix, J. D. (1995). *Chlamydomonas reinhardtii* as the photosynthetic yeast. *Annu Rev Genet*, 29, 209-230. doi:10.1146/annurev.ge.29.120195.001233
- Siems, W., Wiswedel, I., Salerno, C., Crifo, C., Augustin, W., Schild, L., Langhans, C.D., Sommerburg, O. (2005). β -carotene breakdown products may impair mitochondrial functions - potential side effects of high-dose β -carotene supplementation. *J Nutr Biochem*, 16, 385–397. doi:10.1016/j.jnutbio.2005.01.009.
- Şahin, S., Aybastier, Ö., Işık, E. (2013). Optimisation of ultrasonic assisted extraction of antioxidant compounds from Artemisia absinthium using response surface methodology. *Food Chem*, 141, 1361–1368. doi:10.1016/j.foodchem.2013.04.003.
- Takaichi, S. (2011). Carotenoids in Algae: Distributions, Biosyntheses and Functions. *Mar Drugs*, 9, 1101-1118. doi:10.3390/md9061101.
- Woodall, A.A., Lee, S.W.M., Weesie, R.J., Jackson, M.J., Britton, G., (1997). Oxidation of carotenoids by free radicals: relationship between structure and reactivity. *Biochim Biophys Acta*, 1336, 33-42. doi:10.1016/S0304-4165(97)00006-8.



TİRE ÇAMUR PEYNİRİNİN BAZI FİZİKOKİMYASAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİ

Onur Karaalioğlu, Ezgi Günay, Yonca Karagül Yüceer*

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

Geliş / *Received*: 12.03.2020; Kabul / *Accepted*: 12.05.2021; Online baskı / *Published online*: 12.06.2021

Karaalioğlu, O., Günay, E., Karagül Yüceer, Y. (2021). Tire çamur peynirinin bazı fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri. *GIDA* (2021) 46 (4) 914-924 doi: 10.15237/gida. GD21052

Karaalioglu, O., Gunay, E., Karagül Yüceer, Y. (2021). Some physicochemical and sensory characteristics of Tire Çamur cheese. GIDA (2021) 46 (4) 914-924 doi: 10.15237/gida. GD21052

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, İzmir'in Tire ilçesinde geleneksel olarak üretimi gerçekleştirilen 'Tire Çamur peyniri'nin bazı fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesidir. Bu çalışma kapsamında analizleri gerçekleştirilen Tire Çamur peyniri örnekleri arasında bileşim bakımından önemli farklılıklar olduğu saptanmıştır. Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) vasıtasıyla gerçekleştirilen kromatografik analizlerde toplam 29 adet uçucu bileşen tespit edilmiştir. Duyusal değerlendirmeler sonucunda ise pişmiş, peynir altı suyu, kremamsı, fermente ve sütümsü yoğun olarak algılanan aromatikler olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler kapsamında, ürünün endüstriyel boyutlarda üretim standardizasyonunun sağlanmasıyla birlikte tüketiciler için ürünün kaynağını gösteren coğrafi işaret alınmasının; üreticiye, üretildiği bölgeye ve ülkemize önemli ekonomik katkı ve katma değer sağlama potansiyeline sahip olacağı düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Tire Çamur peyniri, uçucu bileşenler, duyuşal özellikler

SOME PHYSCOCHEMICAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF TIRE CAMUR CHEESE

ABSTRACT

The purpose of this study is to determine some physicochemical and sensory characteristics of "Tire Camur Cheese" traditionally produced in Tire, Izmir. Within the scope of this study, it has been determined that general composition of Tire Camur cheese shows significantly differences between the samples. In total, 29 volatile compounds were detected in chromatographic analyzes performed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). As a result of sensory characteristics of cheeses; cooked, whey, creamy, fermented and milky has been found as most detected aromatics. Within the scope of the obtained data, ensuring of the standardization of Tire Camur cheese production on industrial scale and combining with taking geographical indication which show to consumers about the origin of the product will have the potential to provide significant economic contribution to the producer, region and the country.

Keywords: Tire Camur cheese, volatile compounds, sensory properties

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉: yoncayuceer@comu.edu.tr

☎ (+90) 286 218 0018

Onur Karaalioğlu; ORCID no: 0000-0003-2397-2972

Ezgi Günay; ORCID no: 0000-0003-1280-4025

Yonca Karagül Yüceer; ORCID no: 0000-0002-9028-2923

GİRİŞ

Ham maddesi olan süte göre daha uzun süre muhafaza edilebilmesinin yanı sıra, yüksek kalitede protein, yağ, vitamin, kalsiyum, fosfor gibi zengin besin içeriğine sahip olmasından dolayı oldukça önemli bir besin ögesi olan peynir, geleneksel üretimlerden dolayı kültürel zenginliğin de bir işareti olarak görülmektedir (Saygılı vd., 2020; Ayar vd., 2006). Coğrafi konumu itibarıyla farklı kültürlerin bir araya geldiği ve geleneksel lezzetlerin sentezlendiği ülkemizde peynirin süt ürünleri içerisinde geniş bir ürün yelpazesine sahip olduğu bilinmektedir (Saygılı vd., 2020). Günümüzde farklı işleme ve olgunlaştırma tekniklerine bağlı olarak, çok farklı karakteristik özelliklere sahip peynirlerin üretimi gerçekleştirilmektedir. Türkiye’de peynir üretimi ve tüketiminde son yıllarda önemli artışlar meydana gelmiştir. Bu artışta en önemli etkenlerden biri geleneksel olarak üretimleri gerçekleştirilen pek çok peynir çeşidinin üretim yerleri dışında büyükşehirlerde de aranır hale gelmesidir. Bu durum geleneksel olarak bazı yörelerimizde veya illerimizde üretilen peynirlerin endüstriyel ölçekte üretimlerinin başlamasına neden olmuştur (Hayaloğlu, 2008). Ülkemizde her çeşidin kendine özgü bileşim, lezzet, tekstür ve görünümüne sahip olduğu 130’den fazla yöresel ve bölgesel peynir türü olduğu bilinmektedir (Tekinşen ve Elmalı, 2006). Tire Çamur peyniri, İzmir’in Tire ilçesinde geleneksel olarak üretimi gerçekleştirilen, genellikle yöre halkı tarafından kahvaltıda tüketilen, sürülebilir yapıda bir peynir çeşididir. Tire Çamur peynirinin üretiminde günümüzde daha çok inek sütünden yararlanılsa da önceleri keçi ve koyun sütlerinden de yararlanıldığı belirtilmektedir. Peynirin üretiminde, öncelikle beyaz peynir veya İzmir Tulum peyniri yapımı sırasında açığa çıkan peynir altı suyuna ısıl işlem uygulanmakta ve oluşan pıhtının süzülmesi ile lor eldesi sağlanmaktadır (Keskin ve Dağ, 2020; Erdoğan, 2020). Elde edilen lor peyniri, soğutulmuş peynir altı suyu ile karıştırılmakta ve tuz ilavesi sonrasında tüketime hazır hale getirilmektedir. Üretim yöntemine bağlı olarak, üretim sırasında belirli bir miktar krema ile de karıştırılabildiği yerel üreticiler tarafından belirtilmektedir. Tire Çamur peyniri üretimine ait akış şeması Şekil 1’de gösterilmiştir. Bu çalışmanın

amacı, İzmir’in Tire ilçesinde yaygın olarak ve geleneksel yöntemlerle üretimi gerçekleştirilen Tire Çamur peynirinin bazı fizikokimyasal ve duyu özelliklerinin belirlenmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışma kapsamında araştırma materyali olarak İzmir’in Tire ilçesinde bulunan ve geleneksel olarak Tire Çamur peyniri üretimi gerçekleştiren yerel üreticilerden farklı zamanlarda toplamda 8 adet peynir örneği temin edilmiştir. 2020 yılının Ocak ve Temmuz aylarında temin edilip laboratuvar ortamına getirilen peynirler analiz edilinceye kadar uygun koşullar altında ($+4 \pm 1$ °C ve/veya -18 ± 1 °C) cam kavanozlarda muhafaza edilmiştir.

Yöntem

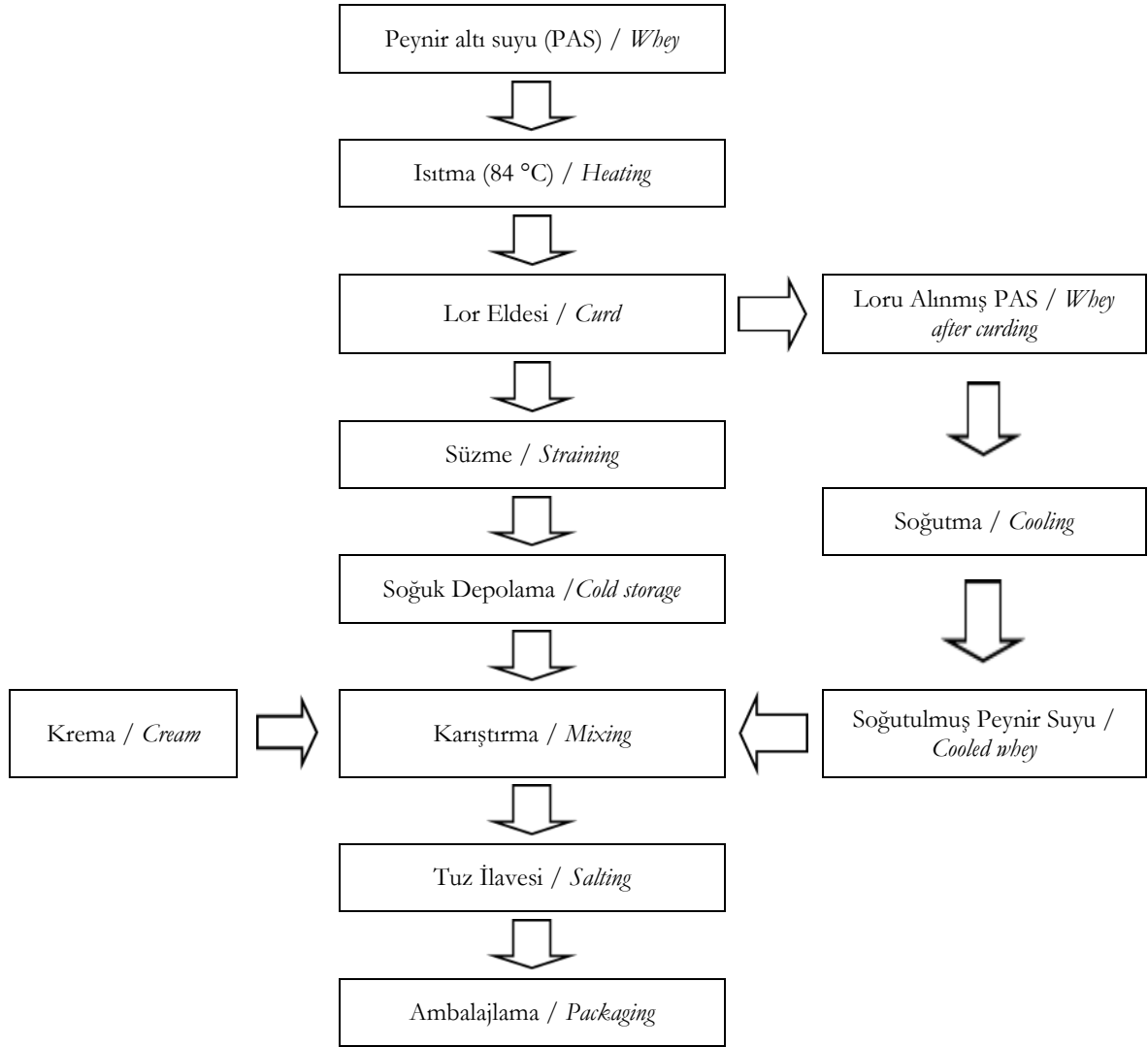
Fizikokimyasal analizler

Tire Çamur peyniri örneklerinde pH (Bradley vd. 1992), titrasyon asitliği (% laktik asit) (Metin, 2006), % toplam kurumadde (TS, 1989), yağ (TS, 1978) ve toplam protein tayini (AOAC, 1990) gerçekleştirilmiştir.

Uçucu bileşenlerin belirlenmesi

Örneklerdeki uçucu bileşenlerin kalitatif ve kantitatif olarak tespiti gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Uçucu bileşenler katı faz mikroekstraksiyon (SPME) prosedürü ile ekstrakte edilmiştir. Uçucu bileşenlerin SPME fiber (2 cm to 50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS) üzerine toplatılması amacıyla 2 gram peynir örneği 40 mL kapasiteli ve amber renkli viallere tartılarak üzerine 1 g NaCl ilave edilmiş ve kapatılan vial 40 °C sıcaklığındaki su banyosunda 20 dakika bekletilmiştir. Daha sonra SPME fiber vialle daldırılarak 20 dakika süresince tepe boşluğunda toplanan bileşenlerin ekstraksiyonu sağlanmıştır. Bileşenlerin ayrımı için DB-5MS (60m x 0.25mm ID, 0.25 µm) kapiler kolon kullanılmıştır. Kolondaki akış hızı 1.5 ml/dakika olacak şekilde ayarlanmıştır. GC-MS cihazına ait fırın sıcaklık programı ve bekleme süreleri 40 °C’den 250 °C’ye kadar sırasıyla; 40 °C’de 1 dakika bekleme süresi, 180 °C’ye ulaşıncaya kadar dakikada 8°C (8°C/dk) artış ile 15 dakika bekleme süresi ve 250 °C’ye ulaşıncaya kadar dakikada 5°C (5°C/dk)

artış ile 15 dakika bekleme süresi olacak şekilde ayarlanmıştır.



Şekil 1. Tire Çamur Peyniri Üretim Akış Şeması

Figure 1. Production chart of Tire Camur cheese

Duyusal analizler

Tire Çamur peyniri örneklerinde çeşitli aromatikler ve temel tatların belirlenebilmesi amacıyla; Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Gıda mühendisliği bölümü öğretim üyeleri ve lisansüstü öğrencilerinden oluşan toplam 7 kişilik panelist grup tarafından tanımlayıcı duyu analizler gerçekleştirilmiştir. Panelistlerin eğitimi ve duyu analizleri amacıyla Spectrum™

metodu kullanılmıştır (Meilgaard vd., 2006). Duyu analizlerinde 10 puanlı skala kullanılmış olup skalanın en soluna belirtilen özelliğin olmadığını en sağa ise çok fazla olduğunu ifade etmektedir. Duyu analizleri kapsamında değerlendirilen terimler ve referansları Çizelge 1'de belirtilmiştir (Karagül Yüceer vd., 2007).

Çizelge 1. Duyusal analizler kapsamında değerlendirilen terimler ve referansları
 Table 1. Terms evaluated within the scope of sensory analysis and their references

Terimler / Terms	Referanslar / References	Referansların hazırlama/ Preparation of references
Pişmiş / Cooked	Pişmiş ile ilişkilendirilmiş aromatikler/ <i>Aromatics associated with cooked</i>	85°C de 30 dakika ısıtılmış süt / <i>Heated milk at 85°C 30 min</i>
Peyniraltı suyu/ <i>Whey</i>	PAS ile ilişkilendirilmiş aromatikler/ <i>Aromatics associated with whey</i>	%5'lik PAS tozu / <i>%5 whey powder</i>
Kremamsı / <i>Creamy</i>	Süt kreması ile ilişkilendirilmiş aromatikler/ <i>Aromatics associated with milk cream</i>	Krema / <i>Cream</i>
Hayvansı / <i>Animal-like</i>	Ahır kokusu ile ilişkilendirilmiş aromatikler/ <i>Aromatics associated with the smell of barn</i>	%5'lik Na-Kazeinat solüsyonu / <i>%5 Na-Caseinate solution</i>
Depo/ <i>Storage</i>	Panelistler tarafından tarif edilmiştir / <i>Described by panelists</i>	-
Fermente / <i>Fermented</i>	Fermente süt ürünleri ile ilişkilendirilmiş aromatikler / <i>Aromatics associated with fermented milk products</i>	Taze yoğurt / <i>Fresh yoghurt</i>
Sülfür / <i>Sulphur</i>	Haşlanmış yumurta ile ilişkilendirilmiş aromatikler / <i>Aromatics associated with boiled egg</i>	Haşlanmış yumurta / <i>Boiled egg</i>
Sütümsü / <i>Milky</i>	Panelistler tarafından tarif edilmiştir/ <i>Described by panelists</i>	-
Küf-Maya/ <i>Mold-Yeast</i>	Panelistler tarafından tarif edilmiştir/ <i>Described by panelists</i>	-
Tatlı / <i>Sweet</i>	Sakkaroz/ <i>Saccharose</i>	%2'lik sakkaroz solüsyonu / <i>%2 Saccharose solution</i>
Tuzlu / <i>Salty</i>	NaCl/ <i>NaCl</i>	%0.5 NaCl solüsyonu / <i>%0.5 NaCl solution</i>
Ekşi / <i>Sour</i>	Sitrik asit / <i>Citric acid</i>	0.08 sitrik asit solüsyonu / <i>%0.08 citric acid solution</i>
Umami / <i>Umami</i>	Monosodyum glutamat/ <i>Monosodium glutamate</i>	%1'lik MSG solüsyonu / <i>%1 MSG solution</i>

PAS: Peynir altı suyu/ *whey*, MSG: Monosodyum glutamat

İstatistiksel analizler

Tire çamur peynirlerine ait; fizikokimyasal, kromatografik ve duyusal bazı özelliklerin ve farklılıkların istatistiksel olarak ortaya konulabilmesi amacıyla SPSS (Windows v21) istatistik programı vasıtasıyla tanımlayıcı ve çok boyutlu ölçeklendirme (Multidimensional Scaling-MDS) analizleri gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Fizikokimyasal Analiz Bulguları

Tire Çamur peyniri örneklerine ait asitlik ve bileşim analizi sonuçları Çizelge 2' de gösterilmiştir. Peynir örneklerinde gerçekleştirilen asitlik ve bileşim analizi sonuçlarına göre ortalama değerler (Ortalama \pm Standart sapma); pH

5.50 \pm 0.63, titrasyon asitliği 0.22 \pm 0.07, toplam kurumadde 31.20 \pm 6.45, protein 10.95 \pm 1.58, yağ 16.40 \pm 6.17 ve kurumaddede yağ 51.31 \pm 11.28 olarak tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda örneklerin toplam kurumadde içeriklerinin %22.76-40.81 aralığında değiştiği belirlenmiştir. Toplam kurumadde içeriğindeki bu farklılığın oluşmasındaki en temel bileşenin %8.25-24.50 aralığında değişkenlik gösteren yağ oranlarından kaynaklandığı görülmektedir. Farklı yağ içeriklerinin, toplam kurumadde üzerindeki etkisi kurumaddede % yağ oranları incelendiğinde de görülebilmektedir. Protein içerikleri bakımından örnekler belirli farklılıklar içerse de, bu farklılıkların toplam kurumadde üzerinde yağ içeriği kadar belirleyici olmadığı ifade edilebilir.

Çizelge 2. Tire Çamur peynirlerinin asitlik ölçümleri ve bileşimi
 Table 2. Acidity measurements and composition of Tire Camur cheeses

Örnek/ Sample	pH	Titrasyon asitliği (%) / Titratable acidity	Kurumadde (%) / Dry Matter (%)	Protein (%)	Yağ (%) / Fat (%)	Kurumaddede yağ (%) / Fat in Dry matter (%)
B-1	6.21 ± 0.09	0.16±0.00	23.12±0.70	10.91±0.16	8.25±0.35	35.71±2.60
B-2	6.29±0.00	0.15±0.00	22.76±0.39	10.06±0.48	8.50±0.00	37.35±0.65
B-3	5.10±0.01	0.36±0.04	26.52±1.25	11.46±0.45	14.00±0.00	54.97±1.19
K-1	6.07±0.01	0.17±0.00	34.37±1.97	7.77±0.36	24.00±0.28	69.91±3.20
K-2	4.81±0.03	0.25±0.02	32.64±0.76	11.81±0.28	15.5±0.70	47.47±1.06
H-1	5.72±0.06	0.27±0.01	33.28±1.38	10.49±0.04	17.5±1.41	52.53±2.05
H-2	4.90±0.08	0.20±0.00	36.13±0.02	12.25±0.35	19±5.65	52.57±15.62
Ş	4.94±0.01	0.23±0.01	40.81±1.30	12.91±0.19	24.5±0.70	60.02±0.19
En düşük/ Minimum	4.81	0.15	22.76	7.77	8.25	35.71
En yüksek/ Maximum	6.29	0.36	40.81	12.91	24.5	69.91
Ortalama±SS (Mean ±SD)	5.50±0.63	0.22±0.07	31.20±6.45	10.95±1.58	16.40±6.17	51.31±11.28

SS: Standart hata SD: *Standart deviation*

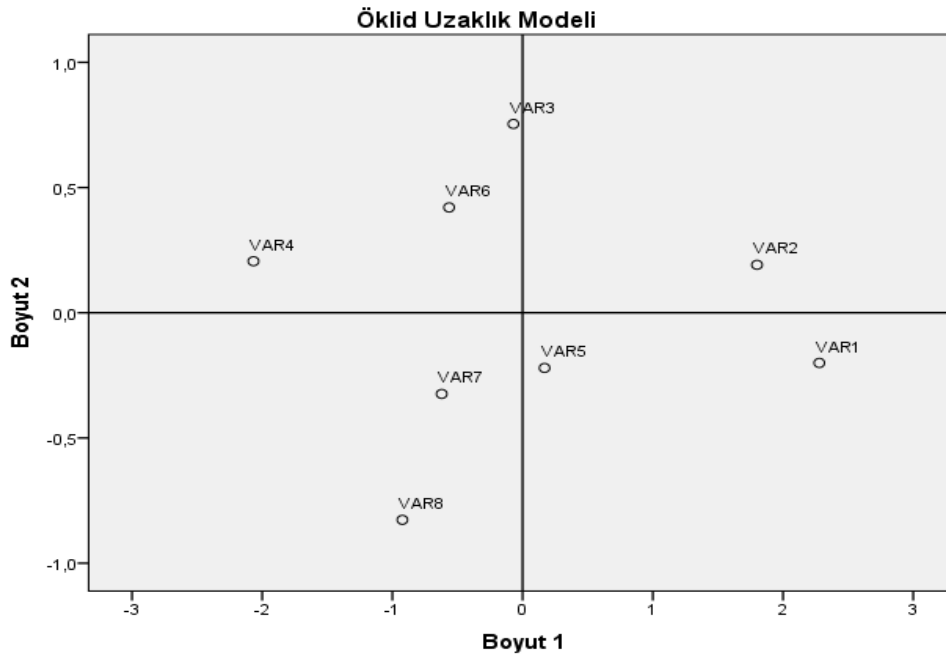
Tire çamur peyniri örneklerine ait asitlik ve bileşim analizi sonuçları göz önüne alındığında örnekler arasında farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Bu durum, üretim teknolojisinin ve ürün bileşiminin standardize edilemediğinin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Erdoğan (2020), geleneksel Tire Çamur peynirinde pH ölçümlerinin 5.15-6.77, % laktik asit cinsinden titrasyon asitliğinin 0.08-0.10, % toplam kurumaddenin 27.33-30.35 aralığında tespit edildiğini bildirmiştir. Bu çalışma kapsamında pH değerleri 4.81-6.29 aralığında tespit edilmiş olup Erdoğan (2020) tarafından gerçekleştirilen çalışma ile benzerlik göstermektedir. Ancak, Çizelge 2'de de görülebildiği gibi analiz edilen tüm örneklerin titrasyon asitliği, pek çok örneğin ise % toplam kurumadde oranları bakımından Erdoğan'un (2020) gerçekleştirdiği çalışmaya göre daha yüksek miktarlarda tespit edildiği görülebilmektedir. Peynir örnekleri arasındaki bu bileşim farklılığının sebebi işletmeler arasında üretim yöntemleri, kullanılan lor, peyniraltı suyu ve kremanın bileşimi ve oranları bakımından farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Literatürde Tire çamur peyniri özelinde gerçekleştirilmiş sınırlı sayıda çalışma bulunduğundan peynir altı suyundan üretimleri gerçekleştirilmiş çeşitli peynirlerin asitlik ve bileşim analizi sonuçları incelenmiştir. Şimşek ve

Sağdıç (2006), Isparta ve yöresinde peynir altı suyundan üretilen Dolaz peynirinde kurumadde, yağ, titrasyon asitliği (% laktik asit), pH, yağ/kurumadde, toplam protein içeriklerini sırasıyla; %52.04±5.70, %17.70±5.49, %1.62±0.45, 4.58±0.31, 34.52±10.78, 15.21±2.31 olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. Kavaz vd. (2012) tarafından bir başka peynir altı suyu peynir çeşidi olan lor peynirinde gerçekleştirilen çalışmada toplam kurumadde, yağ, titrasyon asitliği, pH ve yağ/kurumadde oranları sırasıyla; 36.60, 15.94, 0.20, 4.87 ve 43.63 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma kapsamında analizleri gerçekleştirilen Tire çamur peynirlerinin ortalama toplam kurumadde, titrasyon asitliği, pH, yağ/kurumadde içerikleri bakımından Kavaz vd. (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışma ile benzerlikler gösterdiği tespit edilmiştir. Şimşek ve Sağdıç (2006) tarafından gerçekleştirilen çalışma göz önüne alındığında ise Tire çamur peyniri örneklerinin yağ içeriği bakımından benzerlikler gösterdiği, kurumadde, titrasyon asitliği (%laktik asit) ve toplam protein içeriklerinin ise Dolaz peynirine göre daha düşük değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Dolaz peynirinin kurumadde içeriğinin Tire Çamur peynirine kıyasla daha yüksek olmasının, üretim aşamasında peynir altı suyuna süzme yoğurt ya da yağlı süt ilavesi ile,

süzme, kurutma gibi işlem farklılıklarından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür.

Dört farklı firmadan farklı zamanlarda üretimleri gerçekleştirilmiş sekiz adet örneğin bazı fizikokimyasal özellikleri (pH, laktik asit cinsinden titrasyon asitliği, % protein, % yağ, % kurumadde ve % kurumadde yağ) bakımından farklılık ve benzerliklerinin belirlenebilmesi amacıyla çok boyutlu ölçeklendirme (Multidimensional scaling-ALSCAL) analizi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma

kapsamında değerlendirilen örnekler, geleneksel olarak bu peyniri üreten firmalardan farklı zamanlarda temin edilmiştir. Bu bağlamda, aynı üreticiden farklı zamanlarda temin edilen örnekler arasında varsa farklılıkların ortaya konması amacıyla çok boyutlu ölçeklendirme haritası kullanılmıştır. Fizikokimyasal analiz sonuçlarına bağlı olarak elde edilen iki boyutlu ölçeklendirme haritası ve kullanılan model ile ne kadar iyi ifade edilebildiğini gösteren stres (S) değeri Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Tire çamur peyniri örneklerinin asitlik ve bileşim analizi sonuçlarına göre çok boyutlu ölçeklendirme haritası.

Figure 2. Multidimensional scaling map according to acidity and composition analysis results of Tire Camur cheese (VAR: Her bir peynir örneğini temsil etmektedir. Sırasıyla (VAR1-VAR8); B1, B2, B3, K1, K2, H1, H2, Ş örneklerini temsil etmektedir). S-stress=0.004 R²=0.99

(VAR: Represents each cheese sample. (VAR1-VAR8) respectively represents; B1, B2, B3, K1, K2, H1, H2, Ş). S-stress=0.004 R²=0.99

Çok boyutlu ölçeklendirme haritası incelendiğinde B1 ve B2 örneklerinin birbirlerine yakın sonuçlar gösterdiği tespit edilmiştir. B3 ve K1 örneklerinin diğer örneklere kıyasla asitlik ve bileşim içeriği bakımından önemli ölçüde farklılıklar gösterdiği, başta yağ oranları olmak üzere toplam kurumadde içeriklerinin bu farklılığın oluşmasındaki temel faktör olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). K2, H1, H2 ve Ş

örneklerinin asitlik ve bileşim içerikleri bakımından benzerlikler gösterdikleri görülmektedir. Bunlar arasında Ş örneğinin kurumadde içeriğinin diğer örneklerden (VAR8) farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Şekil 2 incelendiğinde, farklı firmalardan temin edilen Tire Çamur peynirlerinin asitlik ve bileşim analizi sonuçlarının birbirlerinden başta % yağ ve toplam kurumadde içerikleri bakımından önemli derecede

farklılıklar gösterdikleri belirlenmiştir. Yağ ve toplam kurumadde içeriğindeki bu farklılığın peynirin üretim sürecinde elde edilen lora farklı miktarlarda krema ve soğutulmuş peynir altı suyu ilavesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Bu durum farklı firmalardan temin edilen Tire Çamur peyniri örneklerinde üretim standardizasyonunun iyi bir şekilde gerçekleştirilemediğinin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

Uçucu Bileşen Analizi Bulguları

Tire çamur peyniri örneklerinin uçucu bileşenlerinin belirlenebilmesi amacıyla gaz kromatografisi-kütle spektrometresinden (GC-

MS) yararlanılmıştır. Elde edilen verilere göre Tire Çamur peyniri örneklerinde aldehit, keton, ester, terpen, alkol, asit ve diğer kimyasal gruplara dahil toplam 29 uçucu bileşen olduğu saptanmıştır. Limonen, oktanoik asit ve bütanoik asit tüm peynir örneklerinde belirlenen uçucu bileşenlerdir. Ökaloiptol, 2-undekanon, nonanal, dietil fitalat, 2-etil heksanol, 2-metil bütanoik asit, 3-metil bütanoik asit, 2-nonanon ve oktanoik asit etil esterleri örneklerde yaygın olarak tespit edilen önemli diğer uçucu bileşenlerdir. Tire Çamur peyniri örneklerinde tespit edilen tüm uçucu bileşenler ve miktarları Çizelge 3'te yer almaktadır.

Çizelge 3. Tire Çamur peynirlerinde belirlenen uçucu bileşenler (n=8)

Table 3. Volatile compounds identified in Tire Camur Cheeses (n=8)

Uçucu Bileşenler/ Volatile compounds	Peynirler/ Cheeses (µg/kg) Ortalama± SS/Mean±SD								
	RI	B1	B2	B3	K1	K2	H1	H2	Ş
d-Limonen	1027	12.9±7.5	4.8±4.6	21.8±3.6	158.9±20.0	16.7±7.8	39.8±38.8	20.1±2.4	28.3±2.1
Oktanoik asit	1153	7.2±1.9	6.9±6.0	52.9±42.0	4.4±0.6	59.3±25.9	34.3±15.1	15.4±0.1	9.7±0.0
Bütanoik asit	791	39.6±2.8	0.4±0.0	19.3±4.0	205.8±41.3	122.4±33.6	9.9±4.7	114±19.8	103.1±29.3
Ökaloiptol	1032	4.7±0.9	-	340.1±158.3	4.4±0.6	264.6±161.7	18.1±21.0	5.7±0.5	13.9±0.0
2-undekanon	1280	0.2±0.0	0.6±0.0	-	4.7±0.4	7.1±2.7	0.1±0.1	3.5±0.1	4.2±0.2
Nonanal	1096	-	-	42.8±25.7	4.1±2.0	34.1±11.0	6.6±6.6	5.1±0.7	8.2±0.4
Dietil fitalat	1577	-	-	21.5±21.1	1.9±0.3	17.9±7.2	5.1±5.4	4.7±0.5	12.3±1.8
2 etil heksanol	1018	-	-	71.0±48.1	-	4.4±0.6	20.9±9.8	5.5±0.0	23.8±3.2
Oktanoik asit EE	1181	6.2±5.2	6.2±2.0	-	17.6±2.5	-	3.5±1.4	-	3.5±0.0
3-metil Bütanoik asit	861	71.6±9.5	120.5±35.6	-	-	8.5±5.8	1.29±0.6	-	-
2-nonanon	1081	-	-	-	19.0±0.9	3.6±1.4	-	4.3±2.5	17.9±0.0
Asetofenon	1064	0.2±0.3	-	-	-	-	1.3±1.9	1.5±1.1	1.7±0.3
2-metil Bütanoik asit	868	15.3±1.3	27.4±9.7	-	13.2±6.9	-	-	-	-
Dekanoik asit EE	1378	0.7±0.6	0.6±0.1	-	2.9±1.0	-	2.6±2.1	-	-
Kamfor	1152	-	-	64.2±45.1	-	1.5±1.3	-	-	3.7±0.1
Dekanoik asit	1340	1.1±1.0	0.9±0.1	-	-	-	-	-	2.7±0.7
Hekzanoik asit	979	26.2±7.5	18.6±9.0	-	-	-	32.1±22.6	-	-
Fenol	1492	0.6±0.1	1.0±0.4	-	-	-	0.4±0.6	-	-
Hekzanoik asit EE	987	15.2±6.8	0.6±0.9	-	11.7±1.8	-	-	-	-
Heptan 2-2-4-6-6 pentametil	984	-	0.2±0.1	-	106.1±35.4	-	2.8±0.4	-	-
Bütanediol	792	-	-	-	-	-	39.9±8.8	-	126.9±7.1
Asetoin	713	23.4±7.8	50.1±13.8	-	-	-	-	-	-
İzobütül hekzanoat	1138	0.5±0.0	2.3±0.5	-	-	-	-	-	-
Fenil etil alkol	1110	0.7±0.6	1.4±2.0	-	-	-	-	-	-
Karvakrol	1288	-	-	-	-	33.5±28.7	0.5±0.3	-	-
m-simen	1022	-	-	63.4±25.2	-	53.7±25.0	-	-	-
Linalool	1091	-	-	22.8±10.7	-	-	-	-	-
Asetik asit	652	-	-	-	80.2±0.8	-	-	-	-
Alfa terpinen	1340	-	-	19.3±8.9	-	-	-	-	-

EE: Etil ester/*Ethyl ester*, SS: Standart sapma / *Standard deviation*, RI: Retention indeks/*Retention index*, -: Tespit edilemedi/*Not detected*

Her peynirin kendine has lezzet özellikleri; karbonhidrat, protein ve yağların karmaşık biyokimyasal yollar vasıtasıyla hidrolizi sonucu oluşan uçucu bileşenlerden kaynaklanmaktadır (McSweeney ve Sousa, 2000). Peynirlerde hem lezzet bileşenlerinin hem de tekstürel özelliklerin oluşumunun olgunlaşma sırasında gerçekleşen proteoliz olayından önemli ölçüde etkilendiği belirtilmektedir (Ertekin vd. 2009). Bu duyuşal özelliklerin oluşmasında kilit rol oynayan aminoasit katabolizması temelde aminoasidin transaminasyonu, dekarboksilasyonu ve dehidrojenasyonu olmak üzere üç aşamayı kapsamakta ve asitler, esterler, ketonlar, alkoller, aldehitler gibi duyuşal özellikler üzerinde etkili uçucu bileşenleri içeren kimyasal grupların oluşumları meydana gelmektedir (Styger vd., 2013).

Tire Çamur peyniri örneklerinin tamamında belirlenen bütanoik ve oktanoik asidin süt ve süt ürünlerinde yaygın olarak yüksek miktarlarda tespit edildiği literatürdeki çeşitli çalışmalar incelendiğinde görülebilmektedir (Vagenas ve Roussis, 2012; Nalbant ve Karagül Yüceer, 2020). Bunun yanı sıra; 2-metil bütanoik asit, 3-metil bütanoik asit, asetik asit, dekanolik asit ve hekzanoik asit gibi çeşitli asitler de bu çalışma kapsamında Tire Çamur peynirlerinde tespit edilmiştir.

Örneklerin tamamında terpenler grubuna dahil uçuculardan d-limonen belirlenmiştir. Terpenlerin oluşumunun; hayvanların otlatıldığı alanlarda tükettikleri yemler ile ilişkili olduğu ve bu bileşenlerin keçi ve koyun sütlerinden üretilen peynirlerde sıklıkla tespit edildiği belirtilmektedir (Öztürkoğlu-Budak vd., 2016). K1 örneğinde d-limonen diğer örneklere kıyasla çok yüksek konsantrasyonda tespit edildiğinden bu peynirin üretiminde keçi veya koyun sütlerinden yararlanılmış olabileceği düşünülmüştür. Örneklerin pek çoğunda taze nane aroması olarak bilinen ve bir monoterpenoid olan ökaliptol de tespit edilmiştir. Bunların yanı sıra terpen grubundan; kamfor, karvakrol, m-simen, linalool ve alfa terpinen de bu çalışma kapsamında Tire çamur peynirinde tespit edilen diğer uçucu bileşenlerdir.

Kısa zincirli yağ asitlerinin esterleşmesi sonucu meydana gelen esterlerin düşük algılama eşik değerlerinden dolayı peynir aroması üzerinde oldukça etkili olduğu belirtilmektedir. Çiçeksi ve meyvemsi bir aromaya sahip olan esterler, yağ asitlerinin sebep olduğu keskin tat ile aminoasit kaynaklı acılığın azaltulmasına katkıda bulunmaktadır (Öztürkoğlu-Budak vd., 2016). Bu çalışma kapsamında ester grubuna ait başta dietil fitalat olmak üzere hekzanoik asit etil esteri, dekanolik asit etil esteri, oktanoik asit etil esteri gibi uçucu bileşenler bazı örneklerde belirlenmiştir.

Okur ve Güzel Seydim (2011) tarafından, peynir altı suyundan üretilen bir peynir çeşidi olan Dolaz peynirinde gerçekleştirilen uçucu bileşen analizleri sonucunda; asetaldehit, aseton, etanol, asetik asit, diasetil ve 1-butanol'un tespit edildiği bildirilmiştir. Faccia vd. (2018), peynir altı suyundan üretilen Ricotto peynirinin uçucu bileşenlerini tespit ettikleri çalışma kapsamında peynirde; esterler, asitler, alkoller, ketonlar, fenoller, pirazinler ve diğer çeşitli uçucu bileşenlerden oluşan toplam 76 uçucu bileşen tanımlamışlardır. En yaygın olarak tespit ettikleri asitlerin sırasıyla; bütanoik, hekzanoik, asetik ve propiyonik asit olduğunu bildirmişlerdir. Ketonlardan; 2-bütanon, 2-nonanon, 2-undekanon, esterlerden; etil asetat, etil propanoat, propil asetat gibi bileşenleri gerçekleştirdikleri çalışma kapsamında tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Peynir altı suyundan elde edilen Dolaz ve Ricotto peynirlerinde tespit edilen uçucu bileşenlerin, bu çalışma kapsamında tespit edilen bileşenlerle benzerlikler gösterdiği belirlenmiştir. Tire Çamur peyniri örneklerinde de 2-undekanon, bütanoik asit, 2-nonanon, hekzanoik asit ve hekzanoik asit etil esteri tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, d-limonen, oktanoik asit, oktanoik asit etil esteri, ökaliptol, nonanal, dietil fitalat, 2-etil hekzanol gibi bileşenlerin bu çalışma kapsamında peynir altı suyundan üretimi gerçekleştirilen Çamur peynirinde yüksek miktarlarda tespit edildiği ve peynirin aroması üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Gün vd. (2019), çökelek peynirindeki uçucu bileşenleri belirledikleri çalışmada, bu çalışma kapsamında da tespit edilen bütanoik ve hekzanoik asitle birlikte aldehit, keton, ester, lakton ve sülfür bileşiklerinden

oluşan toplamda 19 adet uçucu maddenin tespit edildiğini bildirmişlerdir (Gün vd. 2019).

Duyusal Analiz Bulguları

Tanımlayıcı duyu analizi tekniği kullanılarak Çamur peyniri örneklerinde gerçekleştirilen değerlendirmeler sonucunda 'pişmiş', 'peyniraltı suyu', 'kremamsı', 'fermente' ve 'sütümsü' yoğun

olarak algılanan aromatik terimler olarak belirlenmiştir. Temel tat özelliklerinden başta 'tuzlu' olmak üzere bazı örneklerde 'ekşi' tadın da baskın olduğu saptanmıştır. Tanımlayıcı duyu analizler kapsamında panelistler tarafından onluk skala kullanılarak verilen ortalama puanlar Çizelge 4'te sunulmuştur.

Çizelge 4. Tanımlayıcı Duyusal değerlendirme skorları (Ortalama±SS)
Table 4. Descriptive sensory evaluation scores (Mean±SD)

Tanımlayıcılar/ Descriptors	B-1	B-2	B-3	K-1	K-2	H-1	H-2	Ş
Pişmiş/ <i>Cooked</i>	4.85±0.40	4.64±0.19	3.16±0.70	3.46±0.55	3.08±0.11	4.03±0.04	2.91±0.12	2.95±0.06
Peyniraltı suyu/ <i>Whey</i>	5.28±0.19	5.32±0.25	2.33±0.46	5.85±0.20	2.91±0.35	4.78±0.60	2.53±0.53	2.37±0.17
Kremamsı / <i>Cream</i>	4.85±0.00	4.78±0.30	3.49±0.94	7.46±0.76	3.28±0.17	6.35±0.80	3.24±0.58	5.16±0.00
Hayvansı/ <i>Animal-like</i>	-	0.17±0.24	0.85±0.43	-	0.37±0.05	-	1.08±0.59	0.79±0.29
Depo/ <i>Storage</i>	-	0.25±0.35	-	0.32±0.45	0.08±0.00	0.28±0.40	1.28±0.88	0.49±0.47
Fermente/ <i>Fermented</i>	0.59±0.02	0.64±0.04	5.66±0.23	0.85±0.09	3.58±2.23	0.98±0.42	4.50±0.70	5.66±0.23
Sütümsü/ <i>Milky</i>	3.92±0.20	3.49±0.40	0.50±0.35	3.49±0.40	0.45±0.64	3.74±0.14	1.24±0.47	0.54±0.76
Sülfür/ <i>Sulphur</i>	-	-	0.62±0.05	-	0.45±0.17	-	0.75±0.35	1.12±0.88
Küf-Maya/ <i>Mould-Yeast</i>	-	-	0.29±0.41	-	0.79±0.05	-	0.74±0.23	2.04±0.05
Tatlı/ <i>Sweet</i>	1.64±0.09	1.57±0.09	1.16±0.23	1.74±0.04	1.79±0.65	1.64±0.00	1.87±0.05	1.58±0.35
Tuzlu/ <i>Salty</i>	4.42±0.00	4.67±0.65	2.66±0.70	5.71±0.80	5.50±0.70	4.74±0.04	3.95±3.00	2.91±0.12
Ekşi/ <i>Sour</i>	1.21±0.09	1.35±0.00	3.16±0.47	1.46±0.15	3.58±0.59	1.64±0.50	3.25±0.35	3.58±0.11
Umami/ <i>Umami</i>	0.21±0.00	0.21±0.00	0.87±0.29	0.14±0.00	0.89±0.02	0.35±0.09	1.00±0.00	0.95±0.17

SS: standard sapma/*SD: Standard deviation*

Faccia vd. (2018), Tire çamur peyniri gibi peynir altı suyundan üretilen bir peynir çeşidi olan Ricotta peynirinde gerçekleştirdikleri duyu analizleri kapsamında tüm örneklerde ransit, kremamsı ve fermente özellikleri tespit etmişlerdir. Gün vd. (2019) tarafından Çökelek peynirinde gerçekleştirilen çalışma kapsamında ise; pişmiş, peyniraltı suyu, kremamsı, fermente, mayamsı aromatikleri ile ekşi, tuzlu, tatlı ve umami temel tatlarının tanımlandığı bildirilmiştir. Değerlendirilen Çamur peyniri örneklerinde pişmiş, peyniraltı suyu, kremamsı, fermente ve sütümsü aromatiklerinin algılandığı panelistler tarafından bildirilmiştir. Kremamsı özellik bakımından K1 ve H1 örneklerinin ortalamaya göre oldukça yüksek bir değerde olduğu, bu durumun Tire çamur peyniri üretiminde üretim metoduna bağlı olarak krema ilavesi yapılmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Gün vd. (2019) tarafından yapılan çalışmaya paralel olarak tuzlu, tatlı, ekşi ve umami tatlar tüm örneklerde tespit edilmiştir. B1 ve B2 örneklerinde diğer örneklerle kıyasla 'pişmiş' teriminin daha yoğun algılandığı belirlenmiştir. Bazı örneklerde hayvansı aroma tespit edilmiş olup bu durumun peynire işlenecek olan sütün uygun olmayan koşullarda üretimi ve depolanmasından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Sütün üretimi sırasında ahır havası ya da yoğun kokulu yemlerin bulunduğu ortamda uzun süre muhafaza edilmesi sonucu sütte istenmeyen ahır ya da yem kaynaklı koku oluşumu meydana gelebilmekte ve sütün işlenmesi sırasında peynire de geçebilmektedir. Bunun yanı sıra, uygun olmayan üretim ve depolama koşulları çeşitli mikroorganizmaların gelişimi için elverişli bir ortam sağladığından, mikrobiyal kaynaklı istenmeyen çeşitli aromatikler

de oluşabilmektedir. Bu bağlamda, duyuşal değerlendirmeler sonucunda algılanan mayamsı lezzetin, uygun olmayan üretim ve depolama koşullarına bağlı olarak çeşitli mayaların bulaşması sonucunda oluşabileceği düşünölmüştür.

SONUÇ

İzmir'in Tire ilçesinde geleneksel olarak üretimi gerçekleştirilen Tire Çamur peyniri, ekmeğe sürülebilir yapıda olan ve yöre halkı tarafından sevilerek tüketilen bir peynir çeşididir. Türk kültüründe kahvaltının yeri ve insanların çok çeşitli peynirleri kahvaltının vazgeçilmezi olarak görmelerine paralel olarak belirli bir bölgede üretilen peynirlere olan talepte gün geçtikçe artış görölmektedir. Bu bağlamda geleneksel olarak üretimi gerçekleştirilen Tire Çamur peynirinin hem tanınırlığının artırılması hem de ekonomik faydalar elde edilebilmesi amacıyla endüstriyel boyutlarda üretilmesinin yararlı olabileceği düşünölmüştür. Bunun yanı sıra, geleneksel olarak üretimi gerçekleştirilen Tire Çamur peynirine, tüketiciler için ürünün kaynağını gösteren coğrafi işaret alınmasının; üreticiye, üretildiği bölgeye ve ölkemize önemli ekonomik katkı ve katma değer sağlama potansiyeline sahip olabileceği düşünölmektedir. Ancak, bu çalışma kapsamında elde edilen veriler ışığında, farklı firmalardan temin edilen örneklerin; tespit edilen uçucu bileşenler bakımından benzerlikler gösterebilir de kimyasal bileşim ve duyuşal değerlendirmelerinde önemli derecede farklılıklarının olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, ürünün endüstriyel boyutlarda üretiminde üretim standardizasyonunun sağlanmasının yararlı olabileceği düşünölmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

OK, örneklerin temini, makalenin metodolojisi, verilerin elde edilmesi, biçimsel analiz, makalenin yazımı ve görselleştirilmesine katkıda bulunmuştur. EG, verilerin elde edilmesi ve makalenin düzenlenmesi konusunda katkıda bulunmuştur. YKY, makalenin metodolojisi, düzenleme ve danışman olarak katkıda

bulunmuştur. Katkıda bulunan tüm yazarlar makalenin son halini okuduğunu ve onayladığını kabul etmektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışma kapsamında analizleri gerçekleştirilen örneklerin temini konusunda verdikleri destekten dolayı Tire Ticaret Odası'na teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

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

Ayar, A., Akın N. ve Sert D. (2006). Bazı peynir çeşitlerinin mineral kompozisyonu ve beslenme yönünden önemi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu, Türkiye, 319-322s.

Bradley, Jr. R.L., Arnold, Jr. E., Barbano, D.M., Semerad, R.G., Smith, D.E., Vines, B.K. (1992). Chemical and physical methods. In *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, Marshall, R. T. (Ed.) *Am J Public Health*, Washington D.C., pp. 433-531.

Erdoğmuş, S. (2020). Geleneksel yöntemle üretilen çamur peynirinin mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal kalitesinin belirlenmesi, raf ömrünün tespiti ve probiyotik ilaveli fonksiyonel çamur peyniri üretimi. Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Tokat, Türkiye, 114 s.

Ertekin, B., Okur, Ö.D., Güzel-Seydim, Z. (2009). Peynirde aminoasit katabolizması ile lezzet bileşenlerinin oluşumu. *GIDA*, 34(1):43-50.

Faccia, M., Trani, A., Natrella, G., Gambacorta, G. (2018). Short communication: Chemical-sensory and volatile compounds of ricotta forte, a traditional fermented whey cheese. *J. Dairy Sci.*, (101): 5751-5757, doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14424>.

Gün, İ., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y., Güzel Seydim, Z.B., Torun, F., Çakıcı, S. (2019). Aromatic and sensorial properties of Çökelek cheese produced by different methods. *SDU Fen Bil. Enst. Der.*, 23: 131-138.

- Hayaloğlu, A.A. (2008). Türkiye'nin peynirleri-Genel bir perspektif. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, Türkiye, 729-732s.
- Karagül Yüceer, Y., İşleten, M., Uysal Pala, Ç. (2007). Sensory characteristics of Ezine cheese. *J. Sens. Stud.*, (22):49-65.
- Kavaz, A., Arslaner, A., Bakırcı, İ. (2012). Comparison of quality characteristics of Çökelek and Lor cheeses. *Afr. J. Biotechnol.*, 11(26), pp:6871-6877.
- Keskin, E., Dağ, T. (2020). Identity of cheese: a research on the cheeses of Aegean Region in Turkey. *J. Ethnic Foods*, 7(25): 2-9, doi: 0.1186/s42779-020-00062-4.
- McSweeney, P.L.H., Sousa, M.J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*, (80): 293-324.
- Meilgaard M., Civille, G.V., Carr, B.T. (2006). Sensory Evaluation Techniques. CRC press, 4 ed., Boca Raton, pp: 173-253.
- Metin, M. (2006). Süt Teknolojisi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Yayın No:33, E.Ü. Basımevi, Bornova-İzmir, 623 s.
- Nalbant, D., Karagül Yüceer, Y. (2020). İnek ve keçi sütü kullanılarak üretilen probiyotik fermente süt ürünlerinin karakteristik özellikleri. *Gıda*, 45(2):315-328.
- Okur, Ö.D., Güzel Seydim, Z. (2011). Geleneksel Dolaz peynirinin üretim yönteminin, mikrobiyal ve uçucu aroma bileşen içerikleriyle duyuşal özelliklerinin belirlenmesi. *Gıda* 36(2): 83-88.
- Öztürkoğlu Budak, S., Gürsoy, A., Aykas, D.P., Koçak, C., Dönmez, S., de Vries, R.P., Bron, P.A. (2016). Volatile compound profiling of Turkish Divle cave cheese during production and ripening. *J. Dairy Sci*, 99: 5120-5131.
- Saygılı, D., Demirci, H., Samav, U. (2020). Coğrafi işaretli Türkiye peynirleri. *Aydın Gastronomi*, 4(1):11-21.
- Styger, G., Jacobson, D., Prior, B.A., Bauer, F.F. (2013). Genetic analysis of the metabolic pathways responsible for aroma metabolite production by *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 97: 4429-4442.
- Şimşek, B., Sağdıç, O. (2006). Isparta ve yöresinde üretilen Dolaz (Tort) peynirinin bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *SDU Fen Bil. Enst. Der.*, 10(3):346-351.
- Tekinşen, K.K., Elmalı, M. (2006). Taze Civil (Çeçil) peynirin bazı mikrobiyolojik özellikleri. *Ankara Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 1(3-4): 78-81. TS (1978). Türk Standartları Enstitüsü. Peynirde Yağ Miktarı Tayini. (Van-Gulik Metodu) TS 3046. Ankara.
- TS (1989). Türk Standartları Enstitüsü. Beyaz Peynir Standardı. TS 591. Ankara.
- Vagenas, G., Roussis, I.G. (2012). Fat-derived volatiles of various products of cows, ewes and goats. *Milk. Int. J. Food Prop.*, (15): 665-682.

NADİR BİR ŞEKER OLAN D-ALLÜLOZUN BESLENMEDE KULLANIM İMKANLARI VE ÜRETİM YÖNTEMLERİ

Hazal Özhanlı¹, Duygu Gizem Bilgin¹, Ceren Mutlu^{1,2}, Mustafa Erbaş^{1*}

¹Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

²Balıkesir Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Balıkesir, Türkiye

Geliş / Received: 30.12.2020; Kabul / Accepted: 05.05.2021; Online baskı / Published online: 15.06.2021

Özhanlı, H., Bilgin, D.G., Mutlu, C., Erbaş, M. (2021). Nadir bir şeker olan D-allülozün beslenme kullanım imkanları ve üretim yöntemleri. *GIDA* (2021) 46 (4) 925-938 doi: 10.15237/gida. GD21010.

Özhanlı, H., Bilgin, D.G., Mutlu, C., Erbaş, M. (2021). *D-allulose, a rare sugar, and its usage possibilities in nutrition and production methods. GIDA* (2021) 46 (4) 925-938 doi: 10.15237/gida. GD21010.

ÖZ

Şekerler; duyuşal olarak tatlı tada sahip, suda çözünlüğü yüksek ve moleköl ağırlıkları düşük karbonhidratlar olarak tanımlanabilir. Doğada yüksek miktarda bulunan şekerler yaygın şekerler ve düşük miktarda bulunan şekerler ise nadir şekerler olarak adlandırılırlar. Nadir bir şeker olan D-allüloz, D-fruktozun 3. karbondan epimerik izomeridir. D-allüloz aynı zamanda D-glikoza eşdeğer tatlı tada, oldukça düşük enerji içeriğine ve glisemik indeks değerine sahip olması gibi özellikleri ile de gıda teknolojisinde kullanım potansiyeline sahip bir bileşendir. D-allülozün diğler endüstriyel şekerlere alternatif bir bileşen olarak kullanımını için doğal kaynakları yetersizdir. Bu nedenle D-allülozün diğler yaygın heksoz şekerlerden üretilmesi gerekmektedir. D-allülozün en genel üretim yöntemi; D-fruktozun, D-tagatoz 3-epimeraz veya D-allüloz 3-epimeraz enzimleri ile D-allüloza dönüştürülmesidir. Bu çalışmada; D-allülozün bazı özellikleri, sağık üzerine etkileri, üretim yöntemleri ve gıdalarda kullanım potansiyeli derlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Şeker, nadir şeker, D-allüloz, D-psikoz, D-tagatoz 3-epimeraz

D-ALLULOSE, A RARE SUGAR, AND ITS USAGE POSSIBILITIES IN NUTRITION AND PRODUCTION METHODS

ABSTRACT

Sugars are defined as carbohydrates with a sweet taste, high water solubility, and low molecular weight. Sugars found in high amounts in nature are classified as common sugars, sugars found in low amounts are classified as rare sugars. D-allulose, a rare sugar, is the C-3 epimeric isomer of D-fructose. D-allulose is also an ingredient having the potential for usage in food technology with its properties such as sweet taste equivalent to D-glucose, very low energy content and glycemic index value. Natural resources are insufficient for D-allulose to be used as an alternative ingredient to other industrial sugars. Therefore, D-allulose must be produced from other common hexose sugars. The most common production method of D-allulose is the conversion of D-fructose to D-allulose by D-tagatose 3-epimerase or D-allulose 3-epimerase enzymes. In this study; some properties, effects on health, production methods and potential usage in foods of D-allulose are reviewed.

Keywords: Sugar, rare sugar, D-allulose, D-psicose, D-tagatose 3-epimerase

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: erbas@akdeniz.edu.tr

☎: (+90) 242 310 6575

☎: (+90) 242 310 6306

Hazal Özhanlı; ORCID no: 0000-0002-9825-3916

Duygu Gizem Bilgin; ORCID no: 0000-0003-4162-1412

Ceren Mutlu; ORCID no: 0000-0003-4943-2798

Mustafa Erbaş; ORCID no: 0000-0002-9485-2356

GİRİŞ

Karbonhidratlar, temel olarak karbon başına bir molekül suyun bağlanmasıyla oluşan organik hidrattır. Ayrıca karbonhidratlar polihidroksi alkollerin aldehit veya keton türevleri olan bileşiklerin monomerik, oligomerik veya polimerik formları olarak da tanımlanabilir. İnsan beslenmesinde temel enerji kaynağı olan karbonhidratlar, glikanlar veya sakkaritler isimleriyle de bilinirler (Gil-Campos vd., 2015).

Şekerler ise; çoğunlukla 3 ila 6 arasında karbon atomuna sahip trioz, tetroz, pentoz ve heksoz grubu monosakkaritlerden veya bu monosakkaritlerin birkaçının glikozidik bağ ile birbirlerine bağlanması sonucu ortaya çıkan oligosakkaritlerden oluşan tatlı karbonhidratlar grubuna verilen genel bir isimdir. Ayrıca şekerler duyuşal olarak tatlı tada sahip, suda çözünürlüğü yüksek ve molekül ağırlıkları düşük karbonhidratlar olarak da tanımlanabilir.

Doğada bulunan 36 adet pentoz ve heksoz formundaki monosakkaritlerden; D-glikoz, D-galaktoz, D-mannoz, D-fruktoz, D-ksiloz, D-riboz ve L-arabinoz doğal kaynaklarda yüksek miktarlarda bulunmaları nedeniyle yaygın monosakkaritler olarak adlandırılırken, diğerleri ise doğada oldukça az miktarlarda bulunmaları nedeniyle nadir monosakkaritler veya şekerler olarak adlandırılmaktadırlar.

Nadir şekerler, Uluslararası Nadir Şekerler Derneği (ISRS) tarafından, doğada yaygın olmayan ve az miktarda bulunan monosakkaritler veya türevleri olarak tanımlanmaktadır (Zhang vd., 2017). Doğada iz miktarda bulunan D-alloz, D-allüloz, D-tagatoz, L-fruktoz ve L-sorboz gibi monosakkaritler en çok bilinen nadir şekerlerken bazı kaynaklar izomaltoz, izomaltuloz, trehaloz ve kojibioz gibi disakkaritleri de nadir şekerler arasında sınıflandırmaktadır (Van Laar vd., 2020).

Şekerler gıda endüstrisinde gıda maddelerinin tatlandırılması, donma veya erime noktalarının değiştirilmesi, renklendirilmesi ve korunması için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda özellikle işlenmiş gıdalar ile aşırı şeker tüketiminin obezite ve diyabet gibi hastalıklara neden

olduğunun anlaşılması ile birlikte şekerlerin tüketimlerinin azaltılması veya ikame edilmesi yönünde araştırmalara ihtiyaç duyulmuştur (Gil-Campos vd., 2015). Nadir şekerler glikoz ve fruktoz gibi yaygın şekerler kadar duyuşal tatlılığa sahip olmalarına rağmen enerji içerikleri yaygın şekerlere kıyasla oldukça düşük ve fizyolojik faydaları da yüksektir. Bu nedenlerle nadir şekerler gıda sektöründe kullanılan yaygın şekerlere ikame bileşenler olarak kabul edilmeye ve kullanılmaya başlanmıştır. Nadir şeker doğal kaynaklarının yetersiz olması nedeniyle nadir şekerlerin ticari üretimleri için çeşitli kimyasal, enzimatik ve mikrobiyolojik yöntemler kullanılmakta ve nadir şekerlerin üretimi hakkında gerçekleştirilen çalışmalar gittikçe artmaktadır (Mu vd., 2018).

Bu çalışmada nadir şekerlerden biri olan allülozun; genel özellikleri, vücutta metabolizasyonu, fizyolojik faydaları, gıdalarda kullanım potansiyeli ve üretim yöntemleri derlenmiştir.

ALLÜLOZ VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Allüloz, $C_6H_{12}O_6$ kapalı formülüne sahip bir ketoheksozdur. Eski adıyla psikoz olarak da bilinen D-allüloz, D-fruktozun karbon-3 epimeridir. CAS Numarası 551-68-8 ve molekül ağırlığı 180.156 g/mol olan D-allüloz; beyaz, kristal, katı formda ve kokusuz bir bileşiktir. Sakkarozun %70 eşdeğer tatlılığında olan allüloz, indirgen bir monosakkarit olduğu için gıdalarda enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarına katılabilmektedir (Patel vd., 2016; O'Charoen vd., 2015).

Uluslararası Nadir Şekerler Derneği tarafından 2014 yılında düzenlenen Nadir Şekerler Sempozyumu'nda kimyasal adı D-ribo-2-heksüloz olan bu ketoheksozun, D-allozun izomeri olması ve D-allitolün bir oksit ürünü olması nedeniyle isimlendirmede D-psikoz yerine D-allüloz isminin tercih edilmesi önerilmiştir (Yoshihara vd., 2017). Yine 2014 yılında allüloz, Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından Genel Olarak Güvenilir (GRAS) kategorisinde kabul edilmiş ve bir gıda bileşeni veya gıda takviyesi olarak kullanılması onaylanmıştır (FDA, 2017).

ALLÜLOZUN BULUNDUĞU KAYNAKLAR

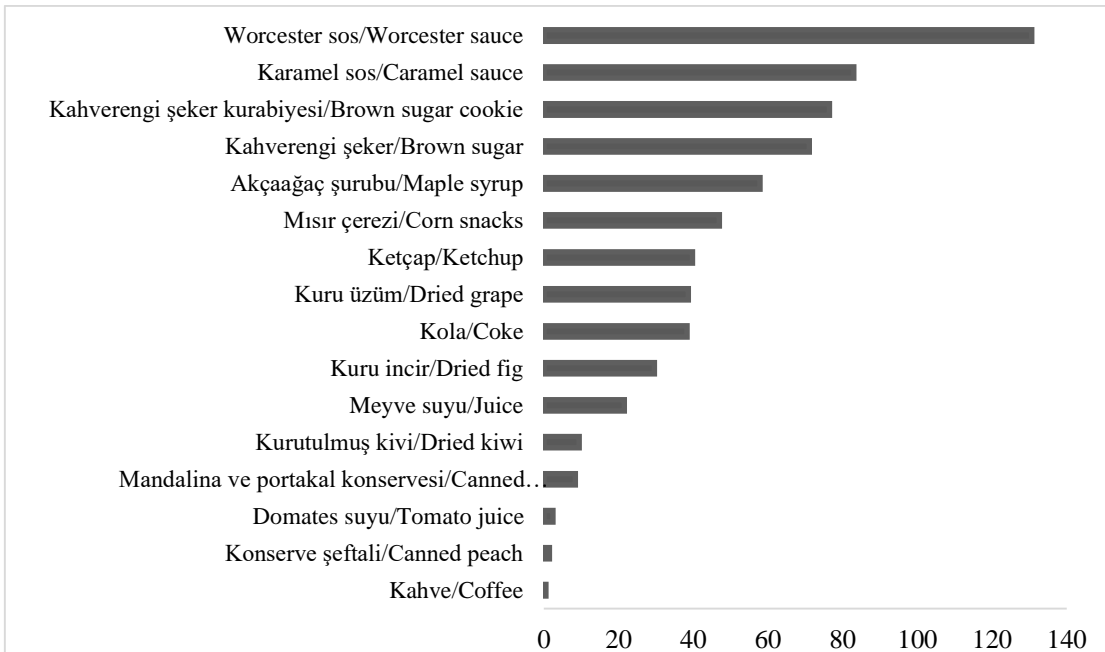
Allüloz doğal bir bileşen olarak yalnızca *Itea* cinsine ait bitki türlerinde ve az miktarda buğdayda tespit edilmiştir (Oshima vd., 2006). Zeng vd., (2015) gerçekleştirdikleri bir çalışmada *Itea virginica* bitkisinin taze yapraklarında 82.3 mg/g D-allüloz ve 21.2 mg/g allitol bulunduğunu, *Itea oblonga* Hand.-Mazz. ve *Itea yunnanensis* Franch bitkilerinin ise yaprak ekstraktlarında sırasıyla 38.4 mg/g ve 12.2 mg/g D-allüloz olduğunu bildirmişlerdir. Yine Japonya'da Zuina ismiyle bilinen *Itea japonica* Oliver bitkisi de doğal bir bileşen olarak allüloz içerip, üretebilmekte ve bu nedenle Zuina bitkisi, Japonya'da "Nadir Şeker Ağacı" olarak da isimlendirilmektedir (Hashii vd., 2015).

Allüloz *Itea* cinsine ait bitkilerin yanı sıra şeker pancarı melası ile işlenmiş şeker kamışında, esmer şekerde, akçaağaç şurubunda, kurutulmuş meyvelerde ve meyve sularında bulunabilmektedir (Oshima vd., 2006).

Sakkarozun hidrolizinden veya glikozun izomerizasyonundan elde edilen ticari D-glikoz ve D-fruktoz karışımlarında da D-allüloz az miktarlarda bulunabilmektedir (Han vd., 2018).

D-allüloz içeren nadir şeker şurubu, fonksiyonel bir tatlandırıcı olarak kabul edilmekte ve endüstriyel ölçekte yüksek fruktozlu mısır şurubunun alkali izomerizasyonu ile üretilmektedir. Nadir şeker şurubu, %5 oranında D-allüloz içermekte ve bu şurubun anti-obezite ve anti-diyabetik etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Shintani vd., 2017).

Şekil 1'de verilen bazı gıda ürünlerinin ihtiva ettikleri allüloz miktarları (FDA, 2017; Oshima vd., 2006) incelendiğinde sıcaklık uygulamasının ürünlerin allüloz içeriği üzerinde etkili olduğu anlaşılmaktadır. İşlenmiş gıda ürünlerindeki allüloz miktarının, gıdanın başlangıçtaki fruktoz veya hidrolize uğrayan sakkaroz konsantrasyonu ve gıdanın işlenmesi esnasında uygulanan ısı işlem süre ve sıcaklığı ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Gıda ürünlerinin içerdiği fruktoz uzun süreli sıcaklık uygulaması ile allüloza epimerize olabilmektedir. Şeker kamışı suyu üzerinde yapılmış olan bir çalışmada 4 saatlik bir ısı işlem sonrası şeker kamışı suyunun D-allüloz içeriğinin 0.1 mg/100 mL miktarından 2.9 mg/100 mL miktarına yükseldiği bildirilmiştir (Oshima vd., 2006).



Şekil 1. Bazı gıda ürünlerinin içerdiği allüloz miktarı (mg/100 g)

ALLÜLOZUN METABOLİZASYONU VE TOKSİSİTESİ

D-allüloz oldukça düşük kalori içeriğine (<0.2 kcal/g) ve glisemik indeks değerine sahip olduğu için, ideal bir sakkaroz ikamesi olarak gıdalarda kullanıma potansiyeline sahiptir (Wee vd., 2018).

Iida vd., (2010) insanlarda allülozun metabolizması üzerine yaptıkları çalışmada, bireylerde allülozun %70 kadarının ince bağırsaktan absorbe edilip kan dolaşımına geçtiğini ve daha sonra metabolize edilmeden idrar ile uzaklaştırdığını belirlemişlerdir. İnce bağırsak tarafından absorbe edilmeyen kısmının ise kalın bağırsakta, bağırsak bakterileri tarafından ihmal edilebilecek kadar düşük miktarda fermente edildiğini ve kalan allülozun ise dışkı ile uzaklaştığını tespit etmişlerdir.

Matsuo vd., (2002) gerçekleştirdikleri bir çalışmada farelere 14 gün boyunca tek doz halinde 8, 11, 14, 17 ve 20 g/kg vücut ağırlığı miktarlarında D-allüloz uygulamışlar ve tüm farelerde bu dozların diyareye neden olduğunu ve yüksek dozda allüloz alımının bağırsak sistemi için zararlı olabileceğini bildirmişlerdir. Fareler üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise 10 hafta uygulanmış bir diyetle günlük 2 g/kg vücut ağırlığı kadar allüloz uygulamasının, allüloz uygulanmayan kontrol grubuna kıyasla fareler üzerinde olumsuz bir etki göstermediği belirlenmiştir (Kim vd., 2019).

Fruktoz için 14.7 ve eritritol için ise 15.3 g/kg olan LD₅₀ değeri, D-allüloz için fare deneyleriyle 16.3 g/kg olarak belirlenmiştir (Matsuo vd., 2002). FDA'nın toksisite derecelendirme çizelgesine göre, en düşük toksisite derecesi olan nispeten zararsız kategorisinde olması nedeniyle D-allüloz gıda ürünlerine sakkaroz ikamesi olarak farklı miktarlarda eklenebilmektedir (Bilal vd., 2018).

FDA 2019 yılında D-allülozu; kalori içeriğinin çok düşük olması, insan vücudunda metabolize edilememesi ve glisemik indeks değerinin düşük olması nedenleriyle diğer şekerlerden farklı olduğu için gıda etiketlerinde şekerler kategorisinde sınıflandırılmayacağını açıklamıştır (FDA, 2019).

ALLÜLOZUN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

D-fruktozun 3. karbonundan epimeri olan D-allüloz, sağlık üzerinde olumlu etkileri olan bir monosakkarittir. D-allüloz kan şekeri düzeyini yükseltmemesinin yanı sıra düşürücü bir etkiye de sahiptir (Iwasaki vd., 2018). D-allülozun kan şekeri düzeyini düşürücü etkisi iki mekanizma ile açıklanabilmektedir. Birinci mekanizmaya göre; in vitro ve in vivo çalışmalarla gösterilmiştir ki D-allüloz ince bağırsakta α -glukozidazın aktivitesini inhibe ederek, glikoz emiliminin azalmasını sağlamaktadır. İkinci mekanizmaya göre ise; kandaki glikozun karaciğerdeki glikojene dönüşümünü teşvik eden glikokinaz enziminin faaliyetini destekleyerek kan şekeri seviyesini düşürmektedir (Shintani vd., 2017). Gerçekleştirilen bir çalışmada 8 hafta boyunca D-allülozla beslenen farelerde, D-allülozun karaciğer glikojenini arttırdığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda allülozla beslenen farelerin, kontrol grubuna kıyasla kan şekeri düzeylerinin düşük olduğu ve insülin konsantrasyonunun ise allülozla beslenen farelerde anlamlı bir şekilde yüksek olduğu bildirilmiştir (Matsuo ve Izumori, 2006).

Ayrıca D-allülozun, yapı benzerliği nedeniyle D-glikoz ve D-fruktozun sindirim kanalında taşınmasında rol alan proteinlere bağlanarak onların emilimini indirekt olarak azaltıcı bir etkiye sahip olduğu ve bu yolla da insan vücudunda glisemik indeksin azalmasına katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Hossain vd., 2015). Bazı araştırmalarda da D-allülozun diğer karbonhidratlara kıyasla besin alımını baskılayıcı etkide olduğu ve vücutta yağ birikimini azalttığı bildirilmiştir (Kimura vd., 2017; Matsuo ve Izumori, 2006).

Çeşitli çalışmalar D-allülozun anti-hiperlipidemik aktiviteye sahip olduğunu doğrulamıştır. D-allülozun lipid metabolizması üzerine etkilerinin belirlendiği bir çalışmada fareler 4 hafta boyunca öğün miktarının %3'ü kadar D-allüloz içeren ve içermeyen mısır nişastası ile beslenmiştir. Çalışma ile D-allüloz diyetinin lipogenezde rol alan karaciğer enzimi aktivitesini baskıladığı, yağ asidi oksidasyonunu ve 24 saatlik enerji harcamasını ise arttırdığı tespit edildiğinden kilo yönetimini

kontrol etmede uygun olduğu bildirilmiştir (Nagata vd., 2015). Yine farelerde yapılan bir çalışmada 16 hafta boyunca uygulanan yüksek yağlı diyetle sakkaroz ikame olarak öğünde ağırlıkça %5 D-allüloz takviyesinin ince bağırsakta yağ emilimini azalttığı ve yağ kullanımını artırdığı belirlenmiştir (Han vd., 2016).

D-allüloz takviyesinin, yüksek yağlı bir diyetin lipid metabolizması üzerindeki etkilerini hafifletip hafifletmediğini belirlemek üzere yapılan bir araştırmada, 8 hafta boyunca farelere D-allüloz takviyesi olan ve olmayan diyetler uygulanmıştır. Allüloz içeren diyet grubunun vücut yağ dokusunun, karaciğer ağırlıklarının ve açlık kan glikoz seviyesinin kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar D-allülozün genel lipid metabolizmasını geliştirebildiğini ve vücutta yağ birikmesini önlemek için fonksiyonel bir gıda bileşeni olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Do vd., 2019).

Allülozün gıdalarla tüketiminin insan sağlığı üzerine etkileri hakkında 121 yetişkin bireye yapılan bir çalışmada ise 12 hafta boyunca günde 2 öğün uygulanan diyetle 4 ve 7 g allüloz alımının deneklerde anormal bir etkiye veya klinik bir soruna neden olmadığı tespit edilmiştir (Han vd., 2018). Özgür ve Uçar, (2019) tarafından karbonhidrat ve yağ metabolizmasının bozulduğu bazı endokrin hastalıklarında alternatif bir tedavi seçeneği olarak diyetle D-allülozün kullanılabilmesi ve bu nedenle de D-allüloz içeren gıda ürünlerinin geliştirilerek, tüketime sunulmasının yararlı olacağı bildirilmiştir.

ALLÜLOZUN GIDALARDA KULLANIMI

D-allüloz genel olarak fırıncılık ürünleri, alkolsüz içecekler, dondurma, yoğurt, çorba ve soslarda kullanılmasının yanı sıra kıvam artırıcı ve stabilize edici bir ajan olarak işlenmiş et ürünlerinde ve tıbbi ilaçlarda da kullanılmaktadır (FDA, 2017; Jiang vd., 2020). Tatlı tadı, düşük kalorisi, yüksek higroskopisitesi, çok düşük glikemik indeksi, anti-karyojenik etkisi ve diyareye neden olmayışı gibi özellikleriyle D-allüloz çeşitli şekerleme ürünlerine de ilave edilebilmektedir (Barkalow vd., 2018).

D-allülozün gıda endüstrisinde kullanımı üzerine yapılmış çeşitli çalışmalarda, ilave edildiği gıdada retrogradasyonu geciktirici ve jel oluşumunu destekleyici etkide bulunduğu ve ısı işlem gören gıdalarda D-fruktoz ve D-glikoza göre Maillard reaksiyonuna daha düşük düzeyde katıldığı tespit edilmiştir (Hossain vd., 2015; Ilhan vd., 2020). Allüloz, puding gibi jel gıdalara ilave edildiğinde gıdanın viskoelastik yapısını ve kırılma direncini geliştirip, jelde proteinlerin çapraz bağlanmasını teşvik etmektedir (Hadipernata vd., 2017).

Tavuk sosisine %2.5 oranında sakkaroz ikamesi olarak ilave edilen allülozün, kontrol örneğine göre; sosis viskozitesini %10 arttırdığı, dondurulmuş çözölmüş sosların reolojik özelliklerinin %19 daha iyi olduğu ve ürünün su tutma kapasitesini ve elastikitesini koruduğu belirlenmiştir (Hadipernata vd., 2016). Allülozün dondurulmuş çözölmüş soslerdeki hasar önleyici bu etkileri dondurulmuş gıdalara uygulanmasının faydalı olabileceğini göstermektedir.

Ayrıca allüloz bitki koruma alanında da bakteriyel yanma gibi ekin hastalıklarına karşı direnç sağlayıcı olarak kullanılabilir (Mao vd., 2020; Yoshihara vd., 2017).

ALLÜLOZUN ÜRETİMİ

Allülozün Kimyasal Üretimi

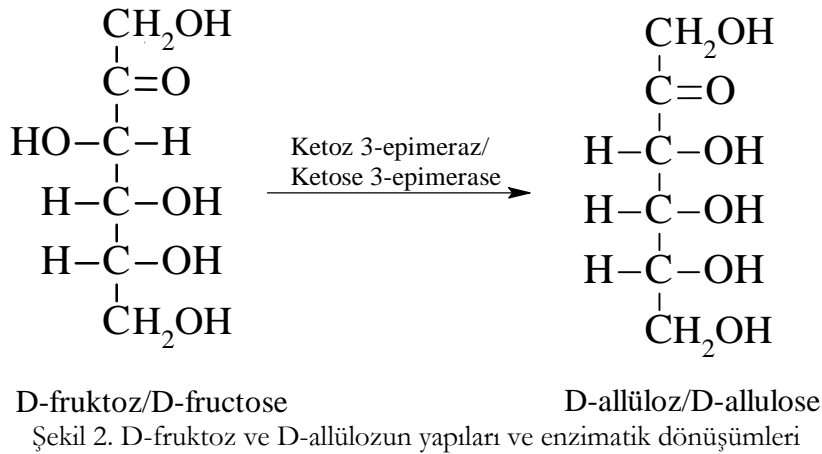
Allüloz doğada nadir bulunan bir şeker olması nedeniyle kimyasal olarak yaygın bulunan şekerlerden allülozün üretilmesi için farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden biri; D-fruktozu molibdat iyonlarının katalitik etkisi altında asidik çözeltide D-allüloza epimerize etmektir (Bilik ve Tihlárík, 1973). McDonald (1967) tarafından gerçekleştirilen başka bir yöntemde ise; 3 kimyasal aşamada 1,2:4,5-di-O-isopropiliden- β -D-fruktopiranozdan allüloz sentezlenmiştir. Diğer bir kimyasal üretimde ise; D-fruktoz, etanol ve trietilamin içerisinde kaynatılarak D-allüloz elde edilmiştir (Doner, 1979). Fakat tüm bu üretim yöntemlerinin karmaşık saflaştırma aşamaları gerektirmesi, kimyasal atık ve yan ürün oluşumu gibi dezavantajlarının olması nedenleriyle D-allülozün büyük ölçekli üretimi maliyetli ve düşük verimli olmaktadır.

Allülozun Mikrobiyolojik ve Enzimatik Üretimi

Son zamanlarda allüloz gibi nadir şekerlerin fizyolojik etkileri ve faydalarına dair yapılan çalışmalar artmış ve bu durum doğada az miktarda rastlanan bu şekerlerin seri üretim yöntemlerinin araştırılmasına yol açmıştır. Allülozun mikrobiyolojik yöntemler kullanılarak üretiminin, kimyasal sentez yöntemlerine göre daha çevre dostu olduğu ve kullanılan enzimatik tekniklerin orta yoğunlukta reaksiyon şartları, yüksek verimlilik, spesifiklik ve sürdürülebilirlik gibi birçok avantaj sağladığı tespit edilmiştir (Zhang vd., 2017).

Nadir şekerlerin üretimi için geliştirilmiş bir yöntem ile uygun biyokatalizörler kullanılarak D-

glukoz ve D-fruktoz gibi doğal ve ucuz heksozlardan, diğer tüm heksozların eldesi gerçekleştirilebilmektedir. Izumoring Stratejisi adı verilen bu yöntem, özellikle allülozun da dahil olduğu nadir ketoheksozların enzimatik üretiminde öncü bir yöntem haline gelmiştir. Bu yöntemde kullanılan biyokatalizörlerden ketoz 3-epimeraz enzim grupları, serbest halde bulunan ketoheksozların 3. karbonunun geri dönüşümlü epimerizasyonunu katalize etmekte ve ketoheksozların enzimatik dönüşümünde oldukça kritik bir role sahip olmaktadır (Li vd., 2015; Mu vd., 2015). D-allülozun, D-fruktozdan ketoz 3-epimeraz enzimleri aracılığı ile dönüşümü Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. D-fruktoz ve D-allülozun yapıları ve enzimatik dönüşümleri

D-fruktozun D-allüloza epimerizasyonunu katalize edebilen D-tagatoz 3-epimeraz (DTEaz, EC 5.1.3.31) ve D-allüloz 3-epimeraz (DAEaz, EC 5.1.3.30) enzimleri çeşitli mikroorganizmalardan kısmen veya tamamen saflaştırılmış, rekombinant veya immobilize formda izole edilmiştir. 1993 yılında D-fruktozun C-3 konumunda D-allüloza epimerizasyonunu gerçekleştirebilen bir ketoz 3-epimeraz enzimi *Pseudomonas cichorii* ST-24 suşu kullanılarak karakterize edilmiş ve ilk defa rapor edilen bu enzimin seçici substratı D-tagatoz olduğu için D-tagatoz 3-epimeraz olarak isimlendirilmiştir (Itoh vd., 1994). Daha sonra *Rhodobacter sphaeroides* (Qi vd., 2017), *Caballeronia fortuita* (Li vd., 2019) ve *Sinorhizobium* sp. (Zhu vd., 2019) gibi çeşitli

mikroorganizmalarda da DTEaz enzimi belirlenmiştir.

D-fruktozdan D-allüloz epimerizasyonunu katalize edebilen bir başka enzim olan D-allüloz 3-epimeraz ise ilk defa *Agrobacterium tumefaciens* mikroorganizmasından elde edilip, tanımlanmış ve bu enzimin seçici substratı D-allüloz olduğu için D-tagatoz 3-epimeraz yerine D-allüloz 3-epimeraz olarak isimlendirilmiştir (Kim vd., 2006). Devam eden araştırmalarda ise; *Clostridium cellulolyticum* (Mu vd., 2011), *Ruminococcus* sp. (Zhu vd., 2012), *Clostridium scindens* (Zhang vd., 2013a), *Desmospora* sp. (Zhang vd., 2013b), *Clostridium* sp. (Mu vd., 2013), *Clostridium boltae* (Jia vd., 2014), *Treponema primitia* (Zhang vd., 2016), *Flavonifractor plautii* (Park vd., 2016), *Arthrobacter globiformis*

(Yoshihara vd., 2017), *Agrobacterium* sp. (Tseng vd., 2018), *Dorea* sp. (Zhang vd., 2015; Zhang vd., 2018), *Sinorhizobium* sp. (Zhu vd., 2019) gibi mikroorganizmalardan da DAEaz enzimi karakterize edilip, tanımlanmıştır. D-fruktozdan

D-allüloz üretiminde farklı suşlardan izole edilerek kullanılan bazı DTEaz ve DAEaz enzimlerinin biyokimyasal özellikleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Allüloz üretiminde kullanılan enzimlerin biyokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması

Ketoz 3-epimeraz	Optimum Sıcaklık (°C)	Optimum pH	Aktivatör	Denge oranı ^a	Referanslar
<i>Agrobacterium</i> sp. DAEaz	55-60	7.5-8.0	Co ⁺²	30:70	(Tseng vd., 2018)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> DAEaz	50	8.0	Mn ⁺²	33:67	(Kim vd., 2006)
<i>Clostridium bolteae</i> DAEaz	55	7.0	Co ⁺²	32:68	(Jia vd., 2014)
<i>Clostridium cellulolyticum</i> DAEaz	55	8.0	Co ⁺²	32:68	(Mu vd., 2011)
<i>Clostridium scindens</i> DAEaz	60	7.5	Mn ⁺²	28:72	(Zhang vd., 2013a)
<i>Clostridium</i> sp. DAEaz	65	8.0	Co ⁺²	28:72	(Mu vd., 2013)
<i>Desmospora</i> sp. DAEaz	60	7.5	Co ⁺²	30:70	(Zhang vd., 2013b)
<i>Dorea</i> sp. DAEaz	70	6.0	Co ⁺²	30:70	(Zhang vd., 2015)
<i>Ruminococcus</i> sp. DAEaz	60	7.5-8.0	Mn ⁺²	28:72	(Zhu vd., 2012)
<i>Treponema primitia</i> DAEaz	70	8.0	Co ⁺²	28:72	(Zhang vd., 2016)
<i>Caballeronia fortuita</i> DTEaz	60	7.5	Co ⁺²	37.5:62.5	(Li vd., 2019)
<i>Pseudomonas cichorii</i> DTEaz	60	7.5	-	20:80	(Itoh vd., 1994)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> DTEaz	40	9.0	Mn ⁺²	23:77	(Zhang vd., 2009)

^a Sırasıyla D-allüloz ve D-fruktoz oranları

Allüloz üretiminde kullanılan enzimlerin D-allüloz ve D-fruktoz arasındaki denge oranları, endüstriyel epimerizasyon uygulaması bakımından oldukça önemli bir parametre olup bu denge oranı kullanılan enzimlere göre farklılık göstermektedir (Jia vd., 2014; Kim vd., 2006; Li vd., 2019; Mu vd., 2011). DTEaz ve DAEaz enzimlerinin genel olarak aktivite gösterdikleri optimum sıcaklıklar 50-70°C ve optimum pH değerleri 7.0-9.0 arasında değişmektedir. Enzimlerin moleküler ağırlıklarının ise; monomerik yapıdaki enzimler için yaklaşık 33

kDa, dimerik enzimler için yaklaşık 64 kDa ve tetramerik enzimler için ise 130-139 kDa arasında olduğu bildirilmiştir (Jia vd., 2014; Li vd., 2019; Mu vd., 2013; Zhang vd., 2018). Çizelge 1'de verilen DAEaz enzimlerinin tamamı D-allüloz için en iyi substrat seçiciliği gösterirken, *P. cichorii* DTEaz ve *C. fortuita* DTEaz D-tagatoz için ve *R. sphaeroides* DTEaz ise D-fruktoz için en yüksek substrat seçiciliğini göstermektedir (Itoh vd., 1994; Li vd., 2019; Zhang vd., 2009).

D-fruktozun D-allüloza izomerizasyonunda DTEaz ve DAEaz enzimlerinin aktivitesi Co^{+2} ve Mn^{+2} gibi metal iyonlarının varlığında önemli derecede artmaktadır. D-fruktozdan D-allüloz eldesinde *A. tumefaciens* DAEaz ve *R. sphaeroides* DTEaz enzimleri sistemde metal iyonu olmadan aktivite gösterebilirken, sisteme Mn^{+2} iyonu ilave edildiğinde enzimlerin aktiviteleri kayda değer şekilde artmaktadır (Kim vd., 2006; Zhang vd., 2009). *C. cellulolyticum* DAEaz ve *C. scindens* DTEaz ortamda sırasıyla Co^{+2} ve Mn^{+2} iyonu olmadan aktivite gösterememektedir (Mu vd., 2011; Zhang vd., 2013a). *P. cichorii*'den elde edilen DTEaz enzimi ise aktivite için herhangi bir metal iyonuna ihtiyaç duymamaktadır (Itoh vd., 1994).

D-allüloz eldesinde doğal mikrobiyal kaynaklardan izole edilen enzim, enzimin yarılanma ömrünün kısa olması, düşük stabiliteye sahip olması, uygulama sonrası enzim geri kazanımının zor olması ve yeniden kullanımında aktivite kaybı gözlenmesi gibi nedenlerle endüstriyel uygulama için yeterli olmamaktadır (Dedania vd., 2020; Ran vd., 2019). Bu nedenle araştırmalar çoğunlukla DTEaz enzim ailesinin tanımlanıp, izole edildiği doğal suşlar yerine gen ekspresyonu ile elde edilen rekombinant suşlar ile yapılmıştır. Takeshita vd., (2000) *P. cichorii*'den DTEaz enzimini kodlayan genin farklı bir konak olan rekombinant *Escherichia coli*'ye eksprese edilmesi yoluyla üretip, saflaştırdıkları DTEaz enzimini D-fruktozdan D-allüloz üretiminde immobilize şekilde kullanarak 60 gün sonunda 20 kg saf D-allüloz ürettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca rekombinant *E. coli* tarafından üretilen enzim miktarının, *P. cichorii* ST-24'ten elde edilen enzim miktarının yaklaşık 100 katı olduğu belirlenmiştir.

Son zamanlarda D-allüloz üretiminde DTEaz enzimlerini eksprese etmek için *E. coli* yerine *Bacillus subtilis* veya çeşitli mayaların kullanımı araştırılmıştır (Chen vd., 2016; Yang vd., 2018). Yang vd., (2018) *A. tumefaciens* DAEaz genini *Kluyveromyces marxianus*'a eksprese ederek gerçekleştirdikleri araştırmada 55°C sıcaklıkta 12 saatte 750 g/L D-fruktozdan, 190 g/L D-allüloz elde etmişlerdir. Zhang vd., (2020) *Rhodospirellula baltica* SH 1 suşundan klonladıkları DTEaz

kodlayan geni, *B. subtilis*'e eksprese ederek elde ettikleri DTEaz enzimi ile D-fruktozdan %56.26 oranıyla D-allüloz üretmişlerdir. Aynı zamanda rekombinant DTEaz enzimi, elma posası hidrolizatına uygulanarak ağırlıkça %25.86 dönüşüm oranı ile D-allüloz eldesi sağlanmıştır. Rekombinant DTEaz ve DAEaz enzimleri ile D-allüloz üretiminde hammadde olarak meyve-sebze atıkları kullanılabileceği gibi şeker pancarı melası veya mısır gibi gıda maddeleri de kullanılabilmektedir (Juneja vd., 2019; Patel vd., 2016; Patel vd., 2018; Song vd., 2017a; Song vd., 2017b)

Enzimlerin immobilizasyon ile kullanılması; enzimlerin tekrar kullanımı, stabilitesi ve aktivitesi açısından serbest olarak kullanımlarına göre çok daha etkili bir yöntemdir (Dedania vd., 2017). Rekombinant *A. tumefaciens* DAEaz enziminin serbest halde kullanımı ile D-allülozun D-fruktozdan üretiminde elde edilen D-allüloz ve D-fruktoz denge oranı sırasıyla 33:67 iken, *A. tumefaciens* DAEaz enzimi titanyum dioksit yüzeyinde immobilize halde kullanıldığında bu oran 36:64 olarak belirlenmiş ve enzimin yarılanma ömrünün ise immobilize halde kullanıldığında arttığı bildirilmiştir (Dedania vd., 2020; Kim vd., 2006).

Izumoring Stratejisine göre D-allüloz doğrudan D-glikoz çözeltisine DTEaz enzimi ve D-glikoz izomeraz (DGIaz, EC 5.3.1.5) enziminin birleştirilerek uygulanması ile ara basamak ile oluşturulan D-fruktoz kullanılarak da üretilebilmektedir (Li vd., 2015). Chen vd., (2017) gerçekleştirdikleri bir çalışmada DGIaz ve *A. tumefaciens* DAEaz genlerini *E. coli* MG1665 suşuna eksprese ederek elde ettikleri enzimi 40°C sıcaklıkta 24.5 g/L D-glikoz içeren selüloz hidrolizatına ve 26.4 g/L D-glikoz içeren mikroalg hidrolizatına uygulamışlar ve sırasıyla 1.42 ve 1.69 g/L konsantrasyonlarında D-allüloz üretimi gerçekleştirmişlerdir.

ALLÜLOZUN SAFLAŞTIRILMASI

Yapılan çalışmalarda D-allülozun izolasyonu ve saflaştırılması için genellikle iki farklı yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemlerden biri olan iyon değiştirici reçine matrisi ve simüle edilmiş

hareketli yatak kromatografisi kullanımı üretim verimliliği yüksek olmasına rağmen, maliyetli bir yöntem olması ve karmaşık ekipman gerektirmesi gibi dezavantajları bulunan bir teknolojidir. Li vd., (2018b) yaptıkları bir çalışmada rekombinant DAEaz enziminin katalizörlüğünde elde edilen D-fruktoz ve D-allüloz karışımını simüle edilmiş hareketli yatak kromatografisinden geçirerek %98.5 saflık oranında D-allüloz üretimi sağlamışlardır. Gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise D-allüloz ve D-fruktoz çözeltisi, glikoz oksidaz ve glikoz izomeraz enzimlerini içeren sürekli karıştırılmalı bir reaktöre alınarak D-fruktoz glukonik aside dönüştürülmüş ve anyon değişim reçinesi kullanılarak da glukonik asit uzaklaştırılmış ve %91.2 saflıkta D-allüloz elde edilmiştir (Li vd., 2018a).

D-allülozun izolasyonu ve saflaştırılması için kullanılan ikinci yöntem ise D-fruktoz ve D-allülozun karışım halinde bulunduğu sisteme maya ilavesi ile fruktozun etanole dönüştürülüp, buharlaştırılarak ortamdan uzaklaştırılmasıdır. Takeshita vd., (2000) D-allüloz ve D-fruktozdan oluşan karışımı aerobik şartlarda fırıncı mayası ile fermantasyona tabi tutarak D-fruktozun tüketimini etanol üretimi ile sağlamışlardır. Fermantasyon sonucu oluşan etanol buharlaştırma işlemi ile uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen şurup, tekrar etanole kaynatılarak D-allülozun kristal olarak ayrılması sağlanmıştır. Bu saflaştırma işleminin zaman ve maliyet bakımından önemli avantajları olmasının yanı sıra şuruptan D-allüloz üretim veriminin %85 olduğu bildirilmiştir. Bu yöntemin avantajları arasında düşük hammadde maliyeti, atık oluşumunun azaltılması, enerji tüketiminin düşürülmesi, şeker veriminin iyileştirilmesi ve iyon değişim reçinesi uygulamasına göre daha çevre dostu bir uygulama olması sayılabilir.

SONUÇ

Dünyada kısıtlı bir miktarda üretilen ve üzerinde az sayıda araştırma yapılmış olan D-allülozun ülkemizde üretimi olmayıp, üzerinde yapılan araştırmalar ise oldukça sınırlıdır. Günümüzde enzimatik yöntemlerle üretilmekte olan D-allüloz, üretiminde kullanılan enzimlerin yetersiz aktivitesi ve geri kazanımının zor olması gibi nedenlerle

üretim maliyeti yüksek, verimliliği ise oldukça düşük bir nadir şekerdir. Bu nedenlerle D-allülozun endüstriyel üretiminin geliştirilmesi için yeni fiziksel, kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik yöntemlerin araştırılması ve mevcut üretimde kullanılan yöntemlerin geliştirilerek optimize edilmesine yönelik araştırmaların yapılması önemlidir.

Bu çalışma ile; D-allülozun düşük enerji içeriğine ve vücutta olumlu fizyolojik etkilere sahip olduğu ve bu yönleriyle de yaygın şeker ve yapay tatlandırıcılara önemli bir alternatif oluşturduğu ortaya konmuştur. Bu nedenle de gıda ve ilaç endüstrisinde düşük enerji içerikleri ve olumlu fizyolojik etkileriyle yüksek bir kullanım potansiyeline sahip olan nadir şekerlerin ve özellikle de D-allülozun üretim ve kullanımına yönelik araştırmaların artırılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makale ile ilgili olarak yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yapılmasında, yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır. Makalenin hazırlanmasında başka kişi ve/veya kurumların katkısı yoktur.

KAYNAKLAR

Barkalow, D.G., Hsu, C., Haseleu, A., Stawski, B.Z. (2018). Confections containing allulose. Patent US-20180271112-A1.

Bilal, M., Iqbal, H.M.N., Hu, H., Wang, W., Zhang, X. (2018). Metabolic engineering pathways for rare sugars biosynthesis, physiological functionalities, and applications-a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 58(16), 2768–2778. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1341385>

Bilik, V., Tihlárík, K. (1973). Reactions of saccharides catalyzed by molybdate ions. IX.* Epimerization of ketohexoses. *Chemické Zvesti*, 28(1), 106–109.

- Chen, J., Zhu, Y., Fu, G., Song, Y., Jin, Z., Sun, Y., Zhang, D. (2016). High-level intra- and extracellular production of d-psicose 3-epimerase via a modified xylose-inducible expression system in *Bacillus subtilis*. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 43(11), 1577–1591. <https://doi.org/10.1007/s10295-016-1819-6>
- Chen, X., Wang, W., Xu, J., Yuan, Z., Yuan, T., Zhang, Y., Liang, C., He, M., Guo, Y. (2017). Production of D-psicose from D-glucose by co-expression of D-psicose 3-epimerase and xylose isomerase. *Enzyme Microb Technol*, 105: 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.06.003>
- Dedania, S.R., Patel, M.J., Patel, D.M., Akhiani, R.C., Patel, D.H. (2017). Immobilization on graphene oxide improves the thermal stability and bioconversion efficiency of D-psicose 3-epimerase for rare sugar production. *Enzyme Microb Technol*, 107: 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.08.003>
- Dedania, S.R., Patel, V.K., Soni, S.S., Patel, D.H. (2020). Immobilization of *Agrobacterium tumefaciens* D-psicose 3-epimerase onto titanium dioxide for bioconversion of rare sugar. *Enzyme Microb Technol*, 140: 109605. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2020.109605>
- Do, G.Y., Kwon, E.Y., Kim, Y.J., Han, Y., Kim, S.B., Kim, Y.H., Choi, M.S. (2019). Supplementation of non-dairy creamer-enriched high-fat diet with d-allulose ameliorated blood glucose and body fat accumulation in C57BL/6J mice. *Appl Sci*, 9(13): 2750. <https://doi.org/10.3390/app9132750>
- Doner, L.W. (1979). Isomerization of D-fructose by base: Liquid-chromatographic evaluation and the isolation of D-psicose. *Carbohydr Res*, 70(2): 209–216.
- FDA. (2017). GRAS Notice (GRN) No. 693. *Encyclopedia of Toxicology*, (693), 417–420. <https://doi.org/10.1016/b0-12-369400-0/00448-8>
- FDA. (2019). The declaration of allulose and calories from allulose on nutrition and supplement facts labels: guidance for industry. www.fda.gov/media/123342/download (Accessed: 10 December 2020).
- Gil-Campos, M., San José González, M.A., Díaz Martín, J.J. (2015). Use of sugars and sweeteners in children's diets. Recommendations of the Nutrition Committee of the Spanish Association of Paediatrics. *Anales de Pediatría (English Edition)*, 83(5), 353.e1-353.e7. <https://doi.org/10.1016/j.anpede.2015.10.002>
- Hadipernata, M., Ogawa, M., Hayakawa, S. (2016). Effect of D-allulose on rheological properties of chicken breast sausage. *Poult Sci*, 95(9): 2120–2128. <https://doi.org/10.3382/ps/pew143>
- Hadipernata, M., Ogawa, M., Hayakawa, S. (2017). Improved rheological properties of chicken egg frozen gels fortified by D-ketohexoses. *J Food Process Preservation*, 41(5). <https://doi.org/10.1111/jfpp.13184>
- Han, Y., Han, H. J., Kim, A.H., Choi, J.Y., Cho, S.J., Park, Y.B., Jung, U.J., Choi, M. S. (2016). D-allulose supplementation normalized the body weight and fat-pad mass in diet-induced obese mice via the regulation of lipid metabolism under isocaloric fed condition. *Mol Nutr Food Res*, 60(7): 1695–1706. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500771>
- Han, Y., Kwon, E.Y., Yu, M.K., Lee, S.J., Kim, H.J., Kim, S.B., Kim, Y.H., Choi, M.S. (2018). A preliminary study for evaluating the dose-dependent effect of D-allulose for fat mass reduction in adult humans: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrients*, 10(2): 160-174. <https://doi.org/10.3390/nu10020160>
- Hashii, K., Hasegawa, T., Idegami, N., Kadota, M., Taniguchi, M., Toyama, T., Toyonaga, D. (2015). Rare Sugar. *Discover Kagawa through English and Science*, 40.
- Hossain, A., Yamaguchi, F., Matsuo, T., Tsukamoto, I., Toyoda, Y., Ogawa, M., Nagata, Y., Tokuda, M. (2015). Rare sugar D-allulose: Potential role and therapeutic monitoring in maintaining obesity and type 2 diabetes mellitus. *Pharm Ther*, 155: 45-49.

- <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.08.004>
- Iida, T., Hayashi, N., Yamada, T., Yoshikawa, Y., Miyazato, S., Kishimoto, Y., Okuma, K., Tokuda, M., Izumori, K. (2010). Failure of D-psicose absorbed in the small intestine to metabolize into energy and its low large intestinal fermentability in humans. *Metab Clin Exp*, 59(2): 206-214. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2009.07.018>
- Ilhan, E., Pohan, P., Ogawa, M., Oztop, M. H. (2020). Role of 'D-allulose' in a starch based composite gel matrix. *Carbohydr Polym*, 228: 115373. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115373>
- Itoh, H., Okaya, H., Khan, A.R., Tajima, S., Hayakawa, S., Izumori, K. (1994). Purification and characterization of D-tagatose 3-epimerase from *Pseudomonas* sp. ST-24. *Biosci Biotechnol Biochem*, 58(12): 2168-2171. <https://doi.org/10.1271/bbb.58.2168>
- Iwasaki, Y., Sendo, M., Dezaki, K., Hira, T., Sato, T., Nakata, M., Goswami, C., Aoki, R., Arai, T., Kumari, P., Hayakawa, M., Masuda, C., Okada, T., Hara, H., Drucker, D.J., Yamada, Y., Tokuda, M., Yada, T. (2018). GLP-1 release and vagal afferent activation mediate the beneficial metabolic and chronotherapeutic effects of D-allulose. *Nat Commun*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02488-y>
- Jia, M., Mu, W., Chu, F., Zhang, X., Jiang, B., Zhou, L.L., Zhang, T. (2014). A D-psicose 3-epimerase with neutral pH optimum from *Clostridium bolteae* for D-psicose production: Cloning, expression, purification, and characterization. *Appl Microbiol Biotechnol*, 98(2): 717-725. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4924-8>
- Jiang, S., Xiao, W., Zhu, X., Yang, P., Zheng, Z., Lu, S., Jiang, S., Zhang, G., Liu, J. (2020). Review on D-Allulose: In vivo metabolism, catalytic mechanism, engineering strain construction, bio-production technology. *Front Bioeng Biotechnol*, 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00026>
- Juneja, A., Zhang, G., Jin, Y.S., Singh, V. (2019). Bioprocessing and techno-economic feasibility analysis of simultaneous production of D-psicose and ethanol using engineered yeast strain KAM-2GD. *Bioresour Technol*, 275: 27-34. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.025>
- Kim, H.J., Hyun, E.K., Kim, Y.S., Lee, Y.J., Oh, D.K. (2006). Characterization of an *Agrobacterium tumefaciens* D-psicose 3-epimerase that converts D-fructose to D-psicose. *Appl Environ Microbiol*, 72(2): 981-985. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.2.981-985.2006>
- Kim, H., Park, C., Sa, S., Case, I., Li, C., Gao, Y., Wang, H., Tian, J. (2019). A study of D-allulose-associated reproductive toxicity in rats. *Food Chem Toxicol*, 131: 110548. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.05.056>
- Kimura, T., Kanasaki, A., Hayashi, N., Yamada, T., Iida, T., Nagata, Y., Okuma, K. (2017). D-allulose enhances postprandial fat oxidation in healthy humans. *Nutrition*, 43-44: 16-20. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.06.007>
- Li, C., Zhang, C., Lin, J., Gao, L., Lin, H., Lin, J. (2018a). Enzymatic fructose removal from D-psicose bioproduction model solution and the system modeling and simulation. *J Chem Technol Biotechnol*, 93(5): 1249-1260. https://doi.org/10.11164/jjsps.3.2_349_1
- Li, C., Lin, J., Guo, Q., Zhang, C., Du, K., Lin, H., Lin, J. (2018b). D-psicose 3-epimerase secretory overexpression, immobilization, and d-psicose biotransformation, separation and crystallization. *J Chem Technol Biotechnol*, 93(2): 350-357. <https://doi.org/10.1002/jctb.5360>
- Li, S., Chen, Z., Zhang, W., Guang, C., Mu, W. (2019). Characterization of a D-tagatose 3-epimerase from *Caballeronia fortuita* and its application in rare sugar production. *Int J Biol Macromol*, 138: 536-545. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.112>
- Li, Z., Li, Y., Duan, S., Liu, J., Yuan, P., Nakanishi, H., Gao, X.D. (2015). Bioconversion of D-glucose to D-psicose with immobilized D-xylose isomerase and D-psicose 3-epimerase on *Saccharomyces cerevisiae* spores. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 42(8): 1117-1128. <https://doi.org/10.1007/s10295-015-1631-8>

- Mao, S., Cheng, X., Zhu, Z., Chen, Y., Li, C., Zhu, M., Liu, X., Lu, F., Qin, H.M. (2020). Engineering a thermostable version of D-allulose 3-epimerase from *Rhodospirillum rubrum* via site-directed mutagenesis based on B-factors analysis. *Enzyme Microb Technol*, 132: 109441. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.109441>
- Matsuo, T., Izumori, K. (2006). Effects of dietary D-psi-cose on diurnal variation in plasma glucose and insulin concentrations of rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, 70(9): 2081–2085. <https://doi.org/10.1271/bbb.60036>
- Matsuo, T., Tanaka, T., Hashiguchi, M., Izumori, K., Suzuki, H. (2002). Effects of oral acute administration and subchronic feeding of several levels of D-psi-cose in rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, 48(6): 512–516. <https://doi.org/10.3177/jnsv.48.512>
- McDonald, E.J. (1967). A new synthesis of D-psi-cose (D-ribo-hexulose). *Carbohydr Res*, 5(1): 106–108. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(67\)85014-6](https://doi.org/10.1016/0008-6215(67)85014-6)
- Mu, W., Chu, F., Xing, Q., Yu, S., Zhou, L., Jiang, B. (2011). Cloning, expression, and characterization of a D-psi-cose 3-epimerase from *Clostridium cellulolyticum* H10. *J Agric Food Chem*, 59(14): 7785–7792. <https://doi.org/10.1021/jf201356q>
- Mu, W., Hassanin, H.A.M., Zhou, L., Jiang, B. (2018). Chemistry behind rare sugars and bioprocessing. *J Agric Food Chem*, 66(51): 13343–13345. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06293>
- Mu, W., Yu, L., Zhang, W., Zhang, T., Jiang, B. (2015). Isomerases for biotransformation of D-hexoses. *Appl Microbiol Biotechnol*, 99(16): 6571–6584. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6788-6>
- Mu, W., Zhang, W., Fang, D., Zhou, L., Jiang, B., Zhang, T. (2013). Characterization of a D-psi-cose-producing enzyme, D-psi-cose 3-epimerase, from *Clostridium* sp. *Biotechnol Lett*, 35(9): 1481–1486. <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1230-6>
- Nagata, Y., Kanasaki, A., Tamaru, S., Tanaka, K. (2015). D-psi-cose, an epimer of D-fructose, favorably alters lipid metabolism in Sprague-Dawley rats. *J Agric Food Chem*, 63(12): 3168–3176. <https://doi.org/10.1021/jf502535p>
- O’Charoen, S., Hayakawa, S., Ogawa, M. (2015). Food properties of egg white protein modified by rare ketohexoses through Maillard reaction. *Int J Food Sci Technol*, 50(1): 194–202. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12607>
- Oshima, H., Kimura, I., Izumori, K. (2006). Psi-cose contents in various food products and its origin. *Food Sci Technol Res*, 12(2): 137–143. <https://doi.org/10.3136/fstr.12.137>
- Özgür, M., Uçar, A. (2019). Karbonhidrat ve Yağ Metabolizmasında D-alluloz (D-psi-koz). *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(3), 188–195. <https://doi.org/10.33631/duzcesbed.469828>
- Park, C.S., Kim, T., Hong, S.H., Shin, K.C., Kim, K.R., Oh, D. K. (2016). D-allulose production from D-fructose by permeabilized recombinant cells of *Corynebacterium glutamicum* cells expressing D-allulose 3-epimerase *Flavonifactor plautii*. *PLoS ONE*, 11(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160044>
- Patel, S.N., Sharma, M., Lata, K., Singh, U., Kumar, V., Sangwan, R.S., Singh, S.P. (2016). Improved operational stability of D-psi-cose 3-epimerase by a novel protein engineering strategy, and d-psi-cose production from fruit and vegetable residues. *Bioresour Technol*, 216: 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.053>
- Patel, S.N., Singh, V., Sharma, M., Sangwan, R.S., Singhal, N.K., Singh, S.P. (2018). Development of a thermo-stable and recyclable magnetic nanobiocatalyst for bioprocessing of fruit processing residues and D-allulose synthesis. *Bioresour Technol*, 247: 633–639. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.112>
- Qi, Z., Zhu, Z., Wang, J.W., Li, S., Guo, Q., Xu, P., Lu, F., Qin, H.M. (2017). Biochemical analysis and the preliminary crystallographic characterization of D-tagatose 3-epimerase from *Rhodobacter sphaeroides*. *Microb Cell Fact*, 16(1): 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0808-4>

- Ran, G., Tan, D., Zhao, J., Fan, F., Zhang, Q., Wu, X., Fan, P., Fang, X., Lu, X. (2019). Functionalized polyhydroxyalkanoate nano-beads as a stable biocatalyst for cost-effective production of the rare sugar D-allulose. *Bioresour Technol*, 289: 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121673>
- Shintani, T., Yamada, T., Hayashi, N., Iida, T., Nagata, Y., Ozaki, N., Toyoda, Y. (2017). Rare sugar syrup containing D-allulose but not high-fructose corn syrup maintains glucose tolerance and insulin sensitivity partly via hepatic glucokinase translocation in Wistar rats. *J Agric Food Chem*, 65(13): 2888–2894. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05627>
- Song, Y., Nguyen, Q.A., Wi, S.G., Yang, J., Bae, H.J. (2017a). Strategy for dual production of bioethanol and D-psicose as value-added products from cruciferous vegetable residue. *Bioresour Technol*, 223: 34–39. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.021>
- Song, Y., Oh, C., Bae, H.J. (2017b). Simultaneous production of bioethanol and value-added D-psicose from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *Bioresour Technol*, 244: 1068–1072. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.079>
- Takeshita, K., Suga, A., Takada, G., Izumori, K. (2000). Mass production of D-psicose from D-fructose by a continuous bioreactor system using immobilized D-tagatose 3-epimerase. *J Biosci Bioeng*, 90(4): 453–455. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(01\)80018-9](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(01)80018-9)
- Tseng, W.C., Chen, C.N., Hsu, C.T., Lee, H.C., Fang, H.Y., Wang, M.J., Wu, Y.H., Fang, T.Y. (2018). Characterization of a recombinant D-allulose 3-epimerase from *Agrobacterium* sp. ATCC 31749 and identification of an important interfacial residue. *Int J Biol Macromol*, 112(400): 767–774. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.036>
- Van Laar, A.D.E., Grootaert, C., Van Camp, J. (2020). Rare mono- and disaccharides as healthy alternative for traditional sugars and sweeteners? *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1–29. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1743966>
- Wee, M., Tan, V., Forde, C. (2018). A comparison of psychophysical dose-response behaviour across 16 sweeteners. *Nutrients*, 10(11), 1–16. <https://doi.org/10.3390/nu10111632>
- Yang, P., Zhu, X., Zheng, Z., Mu, D., Jiang, S., Luo, S., Wu, Y., Du, M. (2018). Cell regeneration and cyclic catalysis of engineered *Kluyveromyces marxianus* of a D-psicose-3-epimerase gene from *Agrobacterium tumefaciens* for D-allulose production. *World J Microbiol Biotechnol*, 34(5). <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2451-6>
- Yoshihara, A., Kozakai, T., Shintani, T., Matsutani, R., Ohtani, K., Iida, T., Akimitsu, K., Izumori, K., Gullapalli, P.K. (2017). Purification and characterization of D-allulose 3-epimerase derived from *Arthrobacter globiformis* M30, a GRAS microorganism. *J Biosci Bioeng*, 123(2): 170–176. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.09.004>
- Zeng, Y., Dou, D., Zhang, Y., Zhang, L., Sun, Y. (2015). Rare sugars and antioxidants in *Itea virginica*, *Itea oblonga* Hand.-Mazz., and *Itea yunnanensis* franch leaves. *In J Food Prop*, 18(11): 2549–2560. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.917099>
- Zhang, J., Xu, C., Chen, X., Ruan, X., Zhang, Y., Xu, H., Guo, Y. (2020). Engineered *Bacillus subtilis* harbouring gene of D-tagatose 3-epimerase for the bioconversion of D-fructose into D-psicose through fermentation. *Enzyme Microb Technol*, 136: 109531. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2020.109531>
- Zhang, L., Mu, W., Jiang, B., Zhang, T. (2009). Characterization of D-tagatose-3-epimerase from *Rhodobacter sphaeroides* that converts D-fructose into D-psicose. *Biotechnol Lett*, 31(6): 857–862. <https://doi.org/10.1007/s10529-009-9942-3>
- Zhang, W., Fang, D., Xing, Q., Zhou, L., Jiang, B., Mu, W. (2013a). Characterization of a novel metal-dependent D-psicose 3-epimerase from *Clostridium scindens* 35704. *PLoS ONE*, 8(4): 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062987>
- Zhang, W., Fang, D., Zhang, T., Zhou, L., Jiang, B., Mu, W. (2013b). Characterization of a metal-

dependent D-psicose 3-epimerase from a novel strain, *Desmospora* sp. 8437. *J Agric Food Chem*, 61(47): 11468–11476. <https://doi.org/10.1021/jf4035817>

Zhang, W., Li, H., Zhang, T., Jiang, B., Zhou, L., Mu, W. (2015). Characterization of a D-psicose 3-epimerase from *Dorea* sp. CAG317 with an acidic pH optimum and a high specific activity. *J Mol Catal B Enzym*, 120: 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2015.05.018>

Zhang, W., Zhang, T., Jiang, B., Mu, W. (2016). Biochemical characterization of a D-psicose 3-epimerase from *Treponema primitia* ZAS-1 and its application on enzymatic production of D-psicose. *J Sci Food Agric*, 96(1): 49–56. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7187>

Zhang, W., Zhang, T., Jiang, B., Mu, W. (2017). Enzymatic approaches to rare sugar production. *Biotechnol Adv*, 35(2): 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.01.004>

Zhang, W., Zhang, Y., Huang, J., Chen, Z., Zhang, T., Guang, C., Mu, W. (2018). Thermostability improvement of the D-allulose 3-epimerase from *Dorea* sp. CAG317 by site-directed mutagenesis at the interface regions. *J Agric Food Chem*, 66(22): 5593–5601. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01200>

Zhu, Y., Men, Y., Bai, W., Li, X., Zhang, L., Sun, Y., Ma, Y. (2012). Overexpression of D-psicose 3-epimerase from *Ruminococcus* sp. in *Escherichia coli* and its potential application in D-psicose production. *Biotechnol Lett*, 34(10): 1901–1906. <https://doi.org/10.1007/s10529-012-0986-4>

Zhu, Z., Li, C., Liu, X., Gao, D., Wang, X., Tanokura, M., Qin, H.M., Lu, F. (2019). Biochemical characterization and biocatalytic application of a novel D-tagatose 3-epimerase from: *Sinorhizobium* sp. *RSC Advances*, 9(6): 2919–2927. <https://doi.org/10.1039/c8ra10029b>

ALIÇ: BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN TERMOSONİKASYON İLE EKSTRAKSİYONU VE FİZİKO-KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Nihal Güzel*

Hitit Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Çorum, Türkiye

Geliş / Received: 25.04.2021; Kabul / Accepted: 22.06.2021; Online baskı / Published online: 02.07.2021

Güzel, N. (2021). Alıç: Biyoaktif bileşenlerin termosonikasyon ile ekstraksiyonu ve fiziko-kimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi. GIDA (2021) 46 (4) 939-948 doi: 10.15237/gida.GD21077

Güzel, N. (2021). Hawthorn: Extraction of bioactive compounds by thermosonication and evaluation of physico-chemical properties. GIDA (2021) 46 (4) 939-948 doi: 10.15237/gida.GD21077

ÖZ

Meyvelerin fizikokimyasal özellikleri üzerine genotip farklılıklarının yanısıra yetiştiği bölgeye göre değişen iklim ve toprak koşulları da önemli derecede etkili olmaktadır. Bu çalışma ile Çorum yöresinde doğal olarak yetişen 7 alıç örneğinin bazı morfolojik özellikleri (en: 14.5-20.2 mm, boy: 15.6-25.2 mm, meyve ağırlığı: 2.1-8.0 g, meyve eti:çekirdek oranı: 3.3-7.9, CIE renk değerleri (L*: 48.2-74.6, a*: 7.5-44.9 ve b*:30.3-59.5) ile pH (3.6-4.0), toplam asitlik (%0.9-1.7), kuru madde (%20.8-27.9), suda çözünür kuru madde miktarları (12.6-17.7°Bx) gibi fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir. Alıç örneklerinin toplam fenolik madde (155.2-490.3 mg GAE/100 g), toplam flavonoid (78.7-272.6 mg CE/100 g), proantosiyanın miktarları (64.2-132.3 mg CE/100 g) ve antioksidan kapasiteleri (14.6-44.9 µmol TEAC/g) termosonikasyon ile ekstrakte edildikten sonra spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Araştırılan özellikler açısından önemli bir kaynak olduğu belirlenen alıçların, organik üretim pazarına sunulması, gıda katkısı veya galenik olarak değerlendirilmesinin ülke ekonomisine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca elde edilen verilerin genetik çeşitliliğin korunması açısından da önemli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Alıç, flavonoid, termosonikasyon, ekstraksiyon, antioksidan aktivite

HAWTHORN: EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS BY THERMOSONICATION AND EVALUATION OF PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES

ABSTRACT

The climate and soil condition as well as genetic diversity affect the physicochemical properties of fruits. In this study, 7 wild Hawthorn samples were obtained from different locations of the Çorum province and some physical properties (diameter: 14.5-20.2 mm, length:15.6-25.2 mm, fruit weight: 2.1-8.0 g, flesh:seed ratio: 3.3-7.9), CIE colour values (L*: 48.2-74.6, a*: 7.5-44.9 ve b*:30.3-59.5) and physicochemical properties pH (3.6-4.0), acidity (0.9-1.7%) dry matter (20.8-27.9%), soluble solids (12.6-17.7°Bx) were determined. Total phenolics (155.2-490.3 mg GAE/100 g), total flavonoid (78.7-272.6 mg CE/100 g), proanthocyanidin contents (64.2-132.3 mg CE/100 g) and antioxidant capacity (14.6-44.9 µmol TEAC/g) extracted by thermosonication and measured by spectrophotometrically. These fruits are good source of aforementioned properties. The native fruit population might have

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: nihalguzel@hitit.edu.tr

☎: +90 [364] 227 4536-1222

☎: +90 [364] 227 4535

Nihal Güzel; ORCID no: 0000-0002-2387-9009

an economic potential as value added product such as organic production, food additive, or medicinal purposes. Also, results might be useful to preserve genetic diversity.

Keywords: Hawthorn, flavonoid, thermosonication, extraction, antioxidant activity.

GİRİŞ

Günümüzde oksidatif strese bağlı oluşan akut ve kronik hastalıklara yakalanma riskinin azaltılması veya önlenmesinde antioksidanlarca zengin bir diyetle beslenmenin önemi vurgulanmaktadır (Celep vd., 2012). Meyveler içeriklerindeki fenolik bileşenler ve askorbik asit gibi biyoaktif bileşenler nedeniyle önemli antioksidan kaynakları olarak nitelendirilmektedirler (Pantelidis vd., 2007). Son zamanlarda ise gıda sektörü yeni antioksidan kaynakları arayışına girmiş ve daha az bilinen, direk tüketimi yaygın olmayan ama kendine has flavorları ve içerdiği nutrasötiklerle sağlık açısından dikkat çeken meyveler tercih edilmeye başlanmıştır (Hassanpour vd., 2011). Nitekim antik çağlardan beri galenik olarak pek çok hastalığın tedavisinde kullanılan alıç, son zamanlarda içerdiği biyoaktif bileşenler ve artan sağlık bilincinin etkisiyle yaygın tüketim için yeniden önem kazanmıştır. Bunun yanı sıra, kozmetik amaçlar ve buruk tadı sağlamada doğal tatlandırıcı olarak kullanım potansiyeli de bulunmaktadır (Dinda vd., 2016). Meyvelerdeki buruk tat, tanenler olarak sınıflandırılan suda çözünen ikincil bitki metabolitlerinden kaynaklanmaktadır (Özdemir vd., 2020). Tanenlerin, serbest radikalleri süpürücü etkileri, metal bağlayıcı etkileri, lipid peroksidasyonları dahil hücreyi oksidatif strese karşı koruma etkilerinin bulunması nedeniyle önemli derecede antioksidan etkiye sahip bileşenler olarak değerlendirilmektedir. Tanenler antioksidan etkilerine ilaveten antikarsinojen, antibakteriyel, antiviral ve iltihap önleyici etkilere sahip olmaları nedeniyle de önemli bileşikler olarak değerlendirilmektedir (Chung vd., 1998).

Tanenler, kondense tanenler (proantosiyanidinler), hidrolize tanenler ve tanen türevi bileşikler kapsamaktadır (Beecher, 2003). Hidrolize olabilen tanenler elajik asit (elaji tanenler) ve gallik asit (gallo tanenler) esterleridir (Yang ve Liu, 2014). Kondense tanenlerin başlıca yapı taşı (+)-kateşin ve (-)-epikateşin olan monomerik flavan-3-ol ünitelerinden oluşmaktadır (Ling vd., 2005). Monomerik

üniteleri birleştiren bağlar, acılık ve burukluk gibi iki duyuşal özellik üzerine etkili olmaktadır (Peleg vd., 1999). Proantosiyanidinler hidroksilasyon düzenlerine göre çeşitli alt gruplara ayrılmaktadır. Proantosiyanidin grupları içerisinde en yaygın olarak bulunan grup ise prosiyanidinlerdir (Xie vd., 2005). Prosiyanidinler, genellikle C4→C8 ve/veya C4→C6 bağları ile bir araya gelen (+)-kateşin ve/veya (-)-epikateşin ünitelerinden oluşan oligomer veya polimerlerdir (Gu vd., 2002). Alıcın sağlık üzerine olumlu etkileri içerdiği biyoaktif bileşenlerden, özellikle baskın fenolik grubu olarak belirlenen proantosiyanidinlerden kaynaklanmaktadır. Alıçlarda, prosiyanidinlerin dışında bulunan diğer biyoaktif bileşenler ise flavanol glikozitler, antosiyaninler ve fenolik asitlerdir (Liu vd., 2010; Liu vd., 2011).

Son yirmi yılda kanser tedavileri için kullanılmakta olan ilaçların %60'ından fazlası ve bulaşıcı hastalıklar için kullanılan ilaçların %75'i doğal kaynaklıdır (Dubey vd., 2004). Doğal kaynakların etkin bir şekilde kullanımına olan ilginin giderek arttığı ve alıcın gıda olarak kullanımının yanı sıra sağlık sektöründeki hammadde potansiyeli göz önüne alındığında, alıç meyvesinden etkin bir şekilde faydalanılmadığı düşünülmektedir. Meyve ve sebzelerin fizikokimyasal özellikleri çeşide, yetiştiği bölgeye ve hasat sonrası işlemlere bağlı olarak değişebilmektedir. Yapılan bu çalışmada, Çorum ilinde doğal olarak yetişen alıç meyvelerinin boyut ve renk gibi morfometrik özelliklerinin yanı sıra kuru madde miktarı, suda çözünür kuru madde miktarı, pH, toplam asitlik, toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid içerikleri, proantosiyanidin miktarları ve antioksidan kapasiteleri gibi önemli pek çok fizikokimyasal özelliği belirlenmiştir. Bu çalışma, Çorum ilinde doğal olarak yetişen bu değerli meyvenin fizikokimyasal özellikleri detaylıca ortaya konularak, ülkemiz öz kaynaklarının daha verimli değerlendirilebilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışma kapsamında, Çorum'da doğal olarak yetişen 7 farklı kaynaktan temin edilen alıç örnekleri tesadüfi olarak seçilmiştir. 2'şer kg meyve toplanarak gerekli ön işlemler uygulandıktan sonra bir kısım örnek fiziksel analizler için ayrılırken bir kısım örnek ise kimyasal analizler için çekirdekleri çıkartılarak homojenizatörde pulp haline getirildikten sonra -20°C'de muhafaza edilmiştir. Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup kateşin, troloks, gallik asit, ABTS, Folin-Ciocalteu's fenol çözeltisi gibi tüm fenolik standart ve araçları Sigma (St. Louis, MO, USA), diğer tüm kimyasallar Merck (Darmstadt, Germany) firmalarından sağlanmıştır.

Yöntem

Fiziksel analizler

Fiziksel analizlerin yürütülmesinde her bir tekerrür için rastgele 100'er adet meyve seçilerek ölçümler yapılmıştır (Demir ve Kalyoncu 2003). Alıçların en ve boyları 0.01 mm hassasiyetle dijital kumpas yardımıyla ölçülerek belirlenmiştir. Meyve eti ve çekirdek oranları ise 100g meyvenin çekirdekleri çıkartıldıktan sonra meyve eti ve çekirdek miktarının tartılması ve birbirine oranlanmasıyla hesaplanmıştır. Örneklerin reflektans renk değerlerinin belirlenmesi için Minolta CM-3600d model renk ölçüm cihazı kullanılmıştır. Spektrofotometre, beyaz seramik plakaya karşı her kullanımdan önce standardize edilmiştir. Örneklerin renklerinin ölçümünde CIE L*a*b* sistemi kullanılarak L* (100, beyaz; 0, siyah), a* (+, kırmızı; -, yeşil), b* (+, sarı; -, mavi) değerleri belirlenmiştir.

Kimyasal Analizler

Alıç örneklerinin kuru madde (KM) içerikleri AOAC (2005) tarafından önerilen yöntemle göre yapılmıştır. Suda çözünür kuru madde (SÇKM) içerikleri Abbe refraktometresi (Atago, Japonya) ile belirlenmiştir. Toplam asitlik (TA) ve pH değerleri pH metre (Adwa AD1000 pH/mV & Temperature Meter) yardımıyla belirlenmiştir. Toplam asitliğin belirlenmesinde AOAC 2000 (# 942.15) tarafından önerilen yöntem kullanılarak sonuçlar malik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

Biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu

Pulp halindeki alıç örnekleri %70'lik (v/v) metanol: su karışımından oluşan ekstraksiyon çözeltisiyle 1:20 oranında seyreltilerek 60±2°C'de 35 dakika süresince ultrases (Elmasonic P, Elma Schmidbauer GmbH, Gottlieb-Daimler, Singen, Germany, 37 kHz) yardımıyla ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon koşulları farklı sıcaklık (20, 60°C) metanol konsantrasyonları (0-100%) ve frekanslarda (37, 80 kHz) yapılan ön denemeler sonucu belirlenmiştir. Ekstraktlar 4°C'de 8000 g de 10 dakika santrifüjlenmiştir (Sigma 3K30, Germany) daha sonra filtre edilerek biyoaktif bileşen analizlerine hazır hale getirilmiştir.

Toplam fenolik bileşiklerin tayini

Örneklerin toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi amacıyla Singleton vd. (1999) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu yöntemi minor düzeyde modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla 50 µL ekstrakt alınarak üzerine 2.2 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu's fenol çözeltisi eklenmiş, karıştırılan ve 5 dak bekletilen örnekler 1.6 mL 2 M Na₂CO₃ ilave edilmiştir. İyiye karıştırılan örnekler karanlıkta 1 saat bekletildikten sonra absorbans değerleri spektrofotometrik olarak 760 nm dalga boyunda ölçülmüştür (Shimadzu UV-1800, Japonya). Örneklerde bulunan toplam fenolik madde miktarı, daha önce farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltilerinin absorbans değerlerinden elde edilen standart eğri (R²=0.9981) yardımıyla hesaplanmış, sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak verilmiştir.

Toplam flavonoid tayini

Alıç örneklerindeki toplam flavonoid analizi Zhishen vd. (1999) tarafından önerilen yöntemle göre kolorimetrik olarak spektrofotometre (510 nm) yapılan ölçüm ile belirlenmiştir. Bu amaçla 500 µL ekstrakt alınarak, üzerine 500 µL saf su ve 100 µL %5'lik NaNO₃ eklenmiş ve karıştırılarak 6 dak. beklenmiş, ardından 100 µL %10'luk AlCl₃ eklenmiştir. Tekrar karıştırma ve 6 dak bekleme sonrasında 1 mL 1.0 M NaOH eklenmiş ve hacim saf su ile 2.5 mL'ye tamamlanmıştır. Örneklerde bulunan toplam flavonoid miktarı, daha önce farklı konsantrasyonlarda hazırlanan kateşin çözeltilerinin absorbans değerlerinden elde edilen

standart eğri ($R^2=0.999$) yardımıyla hesaplanmış, sonuçlar kateşin eşdeğeri (CE) olarak verilmiştir.

Antioksidan aktivite tayini

Örneklerin antoksidan kapasite içerikleri, ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)] yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Arts vd., 2001). ABTS yönteminin temeli, stabil olarak oluşturulan ABTS⁺ radikal katyonunun antioksidan madde tarafından sönmülendirilmesi sonucunda 734 nm dalga boyunda gerçekleşen absorpsiyon (mavi-yeşil renk) azalmasının (% inhibisyon) ölçülmesidir. Uygun şekilde seyreltilmiş ekstraktlardan 20 µL örnek, 980 µL seyreltilmiş ABTS⁺ radikal çözeltisi ile karıştırılmış ve 734 nm dalgaboyunda 6 dak sonunda absorpsiyon değeri ölçülmüştür. Reaksiyon sonucu harcanan ABTS⁺ miktarı sentetik bir antioksidan olan troloks ($R^2=0.9965$) eşdeğeri (TEAC) olarak hesaplanmış ve µmol/g olarak verilmiştir.

Proantosiyanin (Kondense Tanen) Tayini

Kondense tanen miktarı vanilin yöntemiyle spektrofotometrik olarak 500 nm de yapılan ölçümlerle belirlenmiştir (Tanner ve Brunner, 1979). Sonuçlar kateşin standart eğrisine (50-200 mg/L) göre hesaplanmıştır.

İstatistiksel analiz

Alıç örneklerine uygulanan tüm analizler 2 tekerrürlü ve 2 paralel olarak yürütülmüştür. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmelerinde SPSS 20.0 paket programından yararlanılmıştır.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Çorum'un farklı noktalarından temin edilmiş alıç örneklerinin morfolojik ölçümleri ve reflektans renk özelliklerine ilişkin elde edilen sonuçlar Çizelge 1'de verilmektedir. Yapılan ölçümler sonucunda alıç örneklerinin morfolojik ölçümlerinde belirlenen en yüksek değerler 20.2 mm (en) ve 25.2 mm (boy) dir. Meyve ağırlığı ise geniş bir aralıkta (2.1-8.0 g) değişmekte olup meyve et:çekirdek oranı ortalama 5.6 olarak hesaplanmıştır. Özcan vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada alıç örneklerinin en, boy ve ağırlık ölçümleri sırasıyla 19.34 ± 0.18 mm,

14.39 ± 0.12 mm ve 3.03 ± 0.06 g olarak bulunmuştur. Yapılan diğer bir çalışmada ise alıç örneklerinin olgunlaşmaları süresince morfolojik ölçümleri yapılmış, en ve boylarında %20 oranında artış görülmüştür. Olgunlaşma sonrası ise örneklerin enlerinin 22.5mm'den 28.8 mm'ye ve boylarının ise 21.7 mm'den 26.1 mm'ye değiştiği belirlenmiştir. Meyve ağırlığının ise 5.7'den 14.9'a arttığı belirlenmiştir (Li vd., 2015).

Çalışmamızda alıç örneklerinin renk ölçümleri de yapılarak L* (100, beyaz; 0, siyah), a* (+, kırmızı; -, yeşil) ve b* (+, sarı; -, mavi) değerleri belirlenmiştir. L* değerinin 48.2 ile 74.6 arasında değiştiği belirlenirken a* değerinin 7.5-44.9, b* değerinin 30.3-59.5 arasında değiştiği belirlenmiştir. Alıç meyvelerinin olgunlaşması sürecinde renklerdeki değişim Li vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada incelenmiş, olgunlaşma sonunda L* değeri 54.65, a* değeri 17.25 ve b* değeri ise 21.54 olarak belirlenmiştir. Fiziksel görünüş tüketici beğenisinin olduğu ilk basamak olduğundan meyvenin rengi kalitenin belirlenmesinde ve ürünün pazar değerinde önemli parametrelerden birisi olarak değerlendirilmektedir.

Örneklerin suda çözünür kuru madde miktarları, kuru madde miktarları, toplam asitlik ve pH değerleri Çizelge 2'de sunulmuştur. Alıç örneklerinin suda çözünür kuru madde miktarları, kuru madde miktarları, pH ve toplam asitlik değerleri ise sırasıyla 12.6-17.7 °Bx, %20.8-27.9, 3.6-4.0, 0.9-1.7 g/100g aralığında değişmektedir. Farklı alıç genotipleri ile yapılan başka bir çalışmada da benzer sonuçlara ulaşılmış, alıç örneklerinin pH değerleri 3.2-4.2 aralığında, asitlikleri malik asit cinsinden %0.9-1.9 aralığında, SÇKM miktarları ise %16.3-21.8 aralığında bulunmuştur (Bahrı-Sahloul vd. 2009). Li vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada alıç örneklerinin % ortalama nem, suda çözünür kuru madde ve asitlik değerleri sırasıyla 72.8 ± 0.4 , 11.65 ± 0.27 ve 2.93 ± 0.08 olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar literatür verileriyle kıyaslandığında, alıç örneklerinin briks, pH ve toplam asitlik değerleri genel olarak literatür ile uyumlu bulunmuştur. Ülkemizin sahip olduğu çeşitli iklim ve toprak özelliği nedeniyle oldukça geniş ve zengin bir floraya sahip olduğu

Alıçlarda (*Crataegus* spp.) fizikokimyasal özelliklerin değerlendirilmesi

bilinmektedir. İlâveten genetik çeşitlilik ve hasat sonrası işlemlerde meyvelerin hem fiziksel hem kimyasal özellikleri üzerine etkili olabilmektedir (Hassanpour vd., 2011).

Çizelge 1. Alıç örneklerinin morfolojik ölçümleri ve renk özellikleri
Table 1. Morphological measurements and colour properties of Hawthorn

Örnek Sample	En Width (mm)	Boy Length (mm)	Meyve Ağırlığı Fruit Weight (g)	Et: Çekirdek Flesh:seed ratio	CIE* renk değerleri Colour values		
					L*	a*	b*
A1	16.5±0.2 ^d	20.7±0.4 ^{cd}	4.1±0.2 ^b	4.3±0.0 ^c	73.1±2.3	7.5±1.8	49.6±2.2
A2	18.5±0.2 ^b	22.2±0.1 ^b	4.8±0.1 ^b	7.9±0.1 ^a	66.2±2.3	14.4±2.3	50.5±2.4
A3	16.1±0.2 ^d	20.5±0.1 ^d	4.4±0.2 ^b	6.6±0.0 ^b	70.4±3.0	21.5±6.1	59.5±2.4
A4	17.0±0.2 ^{cd}	21.8±0.0 ^{bcd}	4.9±0.0 ^b	4.5±0.0 ^c	48.2±2.4	44.9±2.3	30.3±1.5
A5	20.2±0.2 ^a	25.2±0.4 ^a	8.0±0.3 ^a	6.4±0.3 ^b	71.6±3.5	19.2±4.5	57.5±2.5
A6	14.5±0.2 ^e	15.6±0.2 ^e	2.1±0.0 ^c	3.3±0.0 ^d	74.6±2.8	12.4±5.6	53.1±2.8
A7	17.9±0.2 ^{bc}	22.1±0.6 ^{bc}	5.0±0.2 ^b	6.0±0.3 ^b	67.5±2.8	13.5±6.4	57.5±3.3
En düşük Min.	14.5	15.6	2.1	3.3	48.2	7.5	30.3
En yüksek Max.	20.2	25.2	8.0	7.9	74.6	44.9	59.5
Ortalama Mean	17.2	21.2	4.8	5.6	67.4	19.1	51.1

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. (Values are expressed in mean ± standard error.)

^{a-e} aynı kolonda farklı değerler çeşitler arasındaki farkın önemli olduğunu gösterir (P < 0.05). (^{a-e} Values with different letters within a row indicate significant difference between processes.)

Çizelge 2. Alıç örneklerinin suda çözünür kuru madde, kuru madde, pH, toplam asitlik değerleri
Table 2. Soluble solid, dry matter, pH, total acidity of Hawthorn samples

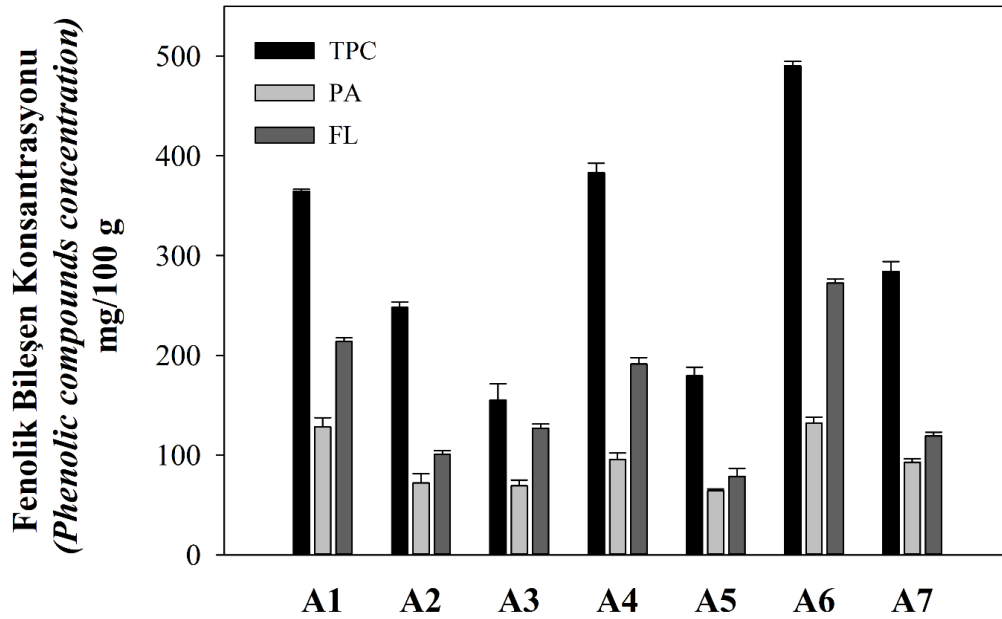
Örnek kodu Sample code	Suda çözünür kuru madde Soluble solid (%Bx)	Kuru madde Dry matter (%)	pH	TA (%)
A1	17.0±0.2 ^a	27.9±0.1 ^a	3.9±0.1 ^{ab}	1.4±0.0 ^b
A2	12.6±0.0 ^c	20.8±0.1 ^c	3.6±0.0 ^b	1.0±0.0 ^e
A3	15.3±0.5 ^{ab}	23.6±0.1 ^c	4.0±0.0 ^a	1.0±0.0 ^e
A4	14.3±0.2 ^{bc}	23.5±0.0 ^c	3.9±0.0 ^{ab}	1.2±0.0 ^{cd}
A5	17.7±0.2 ^a	27.1±0.2 ^b	4.0±0.0 ^a	1.3±0.0 ^c
A6	14.0±0.0 ^{bc}	26.3±0.2 ^b	4.0±0.0 ^a	1.6±0.5 ^a
A7	13.0±1.2 ^{bc}	22.4±0.1 ^d	4.0±0.0 ^a	1.2±0.0 ^d
En düşük Min.	12.6	20.8	3.6	0.9
En yüksek Max.	17.7	27.9	4.0	1.7
Ortalama Mean	14.8	24.5	3.9	1.3

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. (Values are expressed in mean ± standard error.)

^{a-e} aynı kolonda farklı değerler çeşitler arasındaki farkın önemli olduğunu gösterir (P < 0.05). (^{a-e} Values with different letters within a row indicate significant difference between processes.)

Fenolik maddeler biyoaktif özelliğe sahip temel bileşenlerdir. Alıç örneklerinin toplam fenolik madde miktarları ise 100 g taze meyve baz alındığında 155.2 ile 490.3 mg gallik asit eşdeğeri olarak bulunmuştur (Şekil 1). Hem sarı hem kırmızı renkli alıç genotiplerinin değerlendirildiği bir çalışmada, kırmızı renkli alıç sularının fenolik miktarlarının (779.4-810.7mg/100 g FW) sarı renklilere kıyasla (498.5-530.3 mg/100 g FW) daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Bahrı-Sahloul vd., 2009). Edwards vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada ise alıçlarda toplam fenolik madde miktarlarının meyvede çeşitten çeşide değişmekle birlikte oldukça geniş bir aralıkta (1.85-248.8 mg/g) değiştiği belirlenmiştir. Materyal olarak

seçilen alıçlar çoğunlukla sarı renkli olmakla birlikte sonuçlar literatürle uyumlu bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar kültüre alınmamış genotiplerin fenolik bileşenler açısından iyi birer kaynak olduğunu göstermektedir. Zhang vd. (2001) tarafından yapılan çalışmada alıçların fenolik bileşiminin ağırlıklı olarak epikateşin (178 mg/100 g DW) ve klorejenik asitten (65 mg/100 g) oluştuğu belirlenmiştir. Meyvelerin matrisinde yer alan fenolik bileşenlerin kompozisyonları ve biyoyararlılıkları farklı olsa da fenolik maddeler en önemli biyoaktif bileşenler olarak değerlendirilmektedir.



TPC: Toplam fenolik miktarı (*total phenolic content*), mg GAE/100 g; **PA:** Proantosyanidin miktarı (*proanthocyanidin content*), mg CE/100 g; **FL:** Toplam Flavonoid miktarı (*total flavonoid content*), mg CE/ 100 g

Şekil 1. Alıç örneklerinin fenolik bileşen konsantrasyonları
Figure 1. Phenolic compounds concentration of Hawthorn

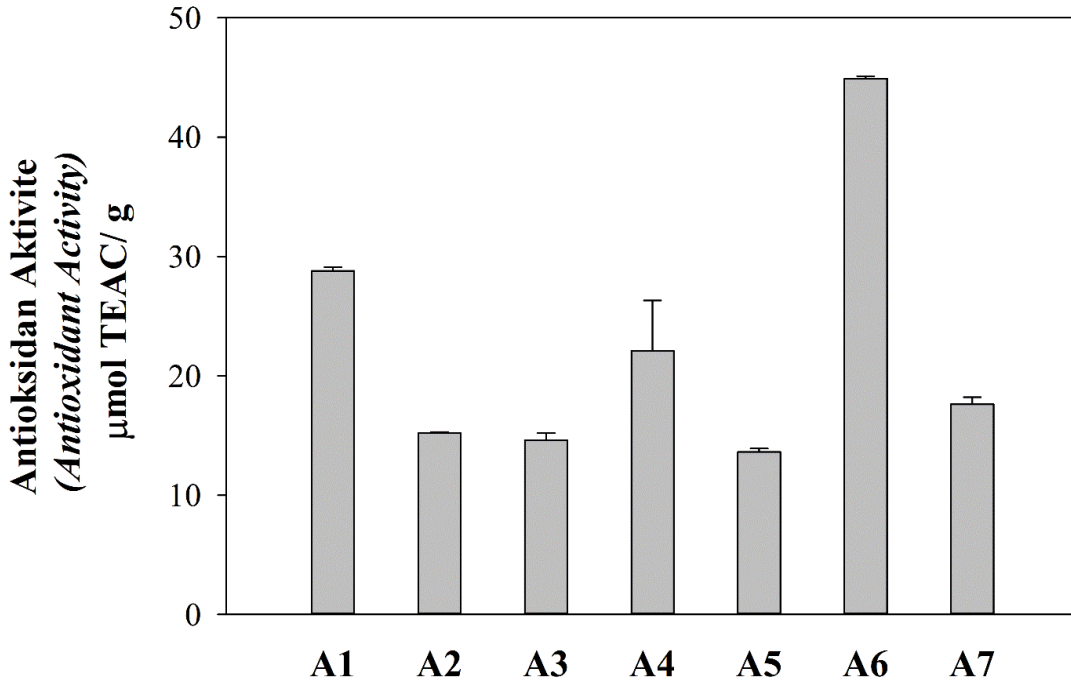
Fenolik maddelerin biyoaktif özellikleri bileşenlerin sahip oldukları çeşitli pozisyonlardaki hidroksil grupları nedeniyle farklılık göstermektedir. Flavonoidler bu özellikleri ile fenolikler içerisinde önemli biyoaktif bileşenler

olarak nitelendirilmektedirler (Celep vd., 2012). Alıç örneklerinde toplam flavonoid konsantrasyonu 78.2 ile 272.6 mg/100 g FW aralığında kateşin eşdeğeri olarak belirlenmiştir (Şekil 1). Ebrahizadeh ve Bahramian (2009) alıç

örneklerinin toplam flavonoid miktarını 10.56-23.98 mg/g kuersetin eşderi olarak bulmuştur. Edwards vd. (2012) tarafından derlenen çalışmada ise alıç örneklerinin toplam flavonoid içeriklerinin meyvenin 1 gramında 4.46 ile 147.3 mg arasında, çiçekte 0.45-1026.6 mg/g aralığında, yapraklarında ise 1.10 ile 62.0 mg/g düzeyinde olduğu rapor edilmiştir. Flavanonidler bitkileri çevresel strese karşı ve patojenlere karşı korumada etkili olmakla birlikte renkleri üzerine önemli etkileri olan fenolik gruplardır (Kent vd., 2020). Falavan-3-ol oligomer ve polimerleri olan proantosiyantinler alıçlarda yaygın olarak bulunan flavonoidlerdir. Çalışmamızda alıçların proantosiyantin miktarlarının 64.2-132.2 mg CE/100 g arasında değiştiği belirlenmiştir (Şekil 1). Liu vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada ise alıçlarda toplam proantosiyantin miktarı 2.5-36.7 mg/g DW düzeyinde belirlenmiştir. Sonuç olarak, alıçlarda genetik çeşitlilik ve endüstriyel kalitenin belirlenmesi açılardan proantosiyantin ve toplam

flavonoid miktarının önemli parametreler olduğu görülmüştür.

Alıç meyvelerinin antioksidan kapasiteleri ABTS yöntemiyle belirlenmiş olup troloks eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Şekil 2). Alıç örneklerinde antioksidan kapasiteleri en az 14.6 ± 0.6 en çok 44.9 ± 0.2 $\mu\text{mol TEAC/g}$ troloks eşdeğeri olarak belirlenmiştir. Ruiz-Rodriguez vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada da benzer sonuçlara ulaşılmış, alıçların antioksidan aktiviteleri 16.8 ile 61.2 $\mu\text{mol TEAC/g}$ olarak bulunmuştur. ABTS yöntemi antioksidan kapasitenin belirlenmesinde sıklıkla kullanılan bir yöntem olmakla birlikte araştırmacılar FRAP yöntemiyle de antioksidan aktiviteyi belirlemişlerdir. Samec ve Piljac-Zegarac (2011) tarafından yapılan çalışmada alıçların antioksidan aktiviteleri FRAP (6.33 ± 0.10 mmol $\text{Fe}^{2+}/100\text{g FW}$) ve ABTS (7.27 ± 0.04 mmol $\text{TEAC}/100\text{g FW}$) yöntemiyle belirlenmiştir.



Şekil 2. Alıç örneklerinin antioksidan aktiviteleri

Figure 2. Antioxidant activity of Hanthorn

Çalışmamızda ayrıca araştırılan çeşitli parametreler arasındaki ilişkiyi belirlemek için Pearson korelasyon katsayıları hesaplanmış, sonuçlar

korelasyon matrisi şeklinde sunulmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Alıç örneklerinin çeşitli özellikleri açısından korelasyon matrisi
Table 3. Correlation matrix between some quality parameters of Hawthorn samples

Toplam fenolik madde (TPC)	Toplam flavonoid (FL)	Proantosiyenin (PA)	Antioksidan aktivite (AOA)	L*	a*	b*	
TPC	1	0,913**	0,903**	0,905**	-0,417	0,430	-0,370
FL		1	0,926**	0,945**	-0,405	0,333	-0,222
PA			1	0,907**	-0,180	0,243	-0,005
AOA				1	-0,185	0,086	-0,087
L*					1	-0,905*	0,860*
a*						1	-0,744*
b*							1

** korelasyon 0,01 düzeyinde anlamlıdır (correlation is significant at the 0.01 level)

* korelasyon 0,05 düzeyinde anlamlıdır (correlation is significant at the 0.05 level)

Çizelge 3'deki veriler değerlendirildiğinde alıç örneklerinin antioksidan kapasitesi ile toplam fenolik madde miktarı ($r=0.905$), toplam flavonoid konsantrasyonu ($r=0.945$) ve proantosiyenin miktarları ($r=0.907$) arasında pozitif yönlü ve çok güçlü korelasyon olduğu görülmektedir ($P < 0.01$). İlave olarak alıçların flavonoid içerikleri ile meyve renginin parlaklık oranını belirlemek için kullanılan L* değeri ($r=-0,405$) ve sarılık oranını belirleyen (+) b* değeri ($r=0,333$) arasında orta derecede korelasyon belirlenmiş olmakla birlikte aralarındaki ilişki istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$). İklim ve çevresel faktörlerin gıdalarda bileşim üzerine etkili faktörler olduğu bilinmektedir. Bu anlamda gerçekleştirilen araştırma ile, Çorum yöresinde yabancı olarak yetişmekte olan alıçların hem genetik çeşitliliğinin devam edebilmesi hem de kalite parametrelerinin ortaya konması noktasında önemli parametreler elde edilmiştir. Yapılan çalışmadan elde edilen verilerin alıçların organik üretim, gıda, sağlık ve

kozmetik sektörleri için katkı üretimi gibi ekonomik potansiyeli yüksek ürünlere dönüştürülerek öz kaynaklarımızın daha iyi değerlendirilmesine katkı sağlayacağı umulmaktadır.

TEŞEKKÜR

19003.17.001 numaralı proje kapsamında vermiş oldukları maddi destekten dolayı Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

KAYNAKLAR

AOAC. (2000). Official Methods of Analysis, 17th edn, Titratable acidity of fruit products, 942.15. Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg.

- AOAC. (2005). AOAC, C. A. Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International.
- Arts, M.J.T.J., Haenen, G.R.M.M., Voss, H.P., Bast, A. (2001). Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. *Food Chem Toxicol*, 39, 787-791.
- Bahri-Sahloul, R., Ammar, S., Grec, S., Harzallah-Skhiri, F. (2009). Chemical characterisation of *Crataegus azarolus* L. fruit from 14 genotypes found in Tunisia. *J Horti Sci and Biotechnol*, 84(1), 23-28.
- Beecher, G. R. (2003). Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J Nutr*, 133(10), 3248S-3254S.
- Celep, E., Aydın, A., Yesilada, E. (2012). A comparative study on the in vitro antioxidant potentials of three edible fruits: Cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel. *Food Chem Toxicol*, 50(9), 3329-3335.
- Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W., Lin, Y. (1998). Tannins and human health: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 38(6), 421-464.
- Demir, F., Kalyoncu, I. H. (2003). Some nutritional, pomological and physical properties of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *J Food Eng*, 60(3), 335-341.
- Dinda, B., Kyriakopoulos, A. M., Dinda, S., Zoumpourlis, V., Thomaidis, N. S., Velegraki, A., ... Dinda, M. (2016). *Cornus mas* L. (Cornelian cherry), an important European and Asian traditional food and medicine: Ethnomedicine, phytochemistry and pharmacology for its commercial utilization in drug industry. *J Ethnopharmacol*, 193, 670-690.
- Dubey, N.K., Kumar, R., Tripathi, P. (2004). Global promotion of herbal medicine: India's opportunity. *Curr Sci*, 86, 37-41.
- Ebrahimzadeh, M. A., Bahramian, F. (2009). Antioxidant Activity of *Crataegus pentagyna* Subsp. *elburensis* Fruits Extracts. *P J B S*, 12(5), 413-419.
- Edwards, J. E., Brown, P.N., Talent, N., Dickinson, T.A., Shipley, P.R. (2012). A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*, 79, 5-26.
- Gu, L., Kelm, M., Hammerstone, J.F., Beecher, G., Cunningham, D., Vannozzi, S. and Prior, R.L. (2002). Fractionation of polymeric procyanidins from lowbush blueberry and quantification of procyanidins in selected foods with an optimized normal-phase HPLC-MS fluorescent detection method. *J Agric Food Chem*, 50, 4852-4860.
- Hassanpour, H., Yousef, H., Jafar, H., Mohammad, A. (2011). Antioxidant capacity and phytochemical properties of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. *Sci Horti*, 129(3), 459-463.
- Kent, K., Charlton, K., O'Sullivan, T., Oddy, W. H. (2020). Estimated intake and major food sources of flavonoids among Australian adolescents. *Eur J Nutr*, 1-16.
- Li, W. Q., Hu, Q. P., Xu, J. G. (2015). Changes in physicochemical characteristics and free amino acids of hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) fruits during maturation. *Food Chem*, 175, 50-56.
- Ling, Z.Q., Xie, B.J., Yang, E.L. (2005). Isolation, characterization, and determination of antioxidative activity of oligomeric procyanidins from the seedpod of *Nelumbo nucifera* Gaertn. *J Agric Food Chem*, 53, 2441-2445.
- Liu, P., Kallio, H., Lü, D., Yang, B. (2011). Quantitative analysis of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chem*, 127, 1370-1377.
- Liu, P., Yin, B., Kallio, H. (2010). Characterization of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge. Var. major) fruits by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chem*, 121 (4), 1188-1197.
- Özdemir, A. E., Candir, E., Toplu, C., Yıldız, E. R. C. A. N. (2020). Effect of Hot Water Treatment on Astringency Removal in Persimmon Cultivars. *Int J Fruit Sci*, 1-13.
- Özcan, M., Hacısferoğulları, H., Marakoğlu, T., Arslan, D. (2005). Hawthorn (*Crataegus* spp.)

- fruit: some physical and chemical properties. *J Food Eng*, 69(4), 409-413.
- Pantelidis, G. E., Vasilakakis, M., Manganaris, G. A., Diamantidis, G. R. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chem*, 102(3), 777-783.
- Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P. and Noble, A.C. (1999). Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *J Sci Food Agric*, 79, 1123- 1128.
- Ruiz-Rodríguez, B. M., de ANCOS, B., Sánchez-Moreno, C., Fernández-Ruiz, V., de Cortes Sánchez-Mata, M., Cámara, M., Tardío, J. (2014). Wild blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) fruits as valuable sources of antioxidants. *Fruits*, 69(1), 61-73.
- Šamec, D., Piljac-Žegarac, J. (2011). Postharvest stability of antioxidant compounds in hawthorn and cornelian cherries at room and refrigerator temperatures—Comparison with blackberries, white and red grapes. *Sci Horti*, 131, 15-21.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, 299, 152-178.
- Tanner, H., Brunner, H. R. (1979). *Getraenke Analytik*. D-7170. Schwaebisch Hall: Germany: Verlag Heller Chemie-und Verwaltungsgesellschaft mbH.
- Xie, D.Y., Dixon, R.A. (2005). Proanthocyanidin biosynthesis—still more questions than answers?. *Phytochemistry*, 66, 2127- 2144.
- Yang, B., Liu, P. (2014). Composition and biological activities of hydrolyzable tannins of fruits of *Phyllanthus emblica*. *J Agric Food Chem*, 62(3), 529-541.
- Zhang, Z., Chang, Q., Zhu, M., Huang, Y., Ho, W. K., Chen, Z. Y. (2001). Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *J Nutr Biochem*, 12(3), 144-152.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, 64(4), 555-559.

ÇANAKKALE BÖLGESİNDEN ALINAN MİDYE VE DENİZ SUYU ÖRNEKLERİNİN MİKROBİYOLOJİK KALİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Melike Nur Tosun¹, Gizem Taylan¹, Nükhet N. Zorba^{2*}

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Çanakkale

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çanakkale

Geliş / Received: 26.04.2021; Kabul / Accepted: 13.06.2021; Online baskı / Published online: 02.07.2021

Tosun, M.N., Taylan, G., Zorba, N.N. (2021). Çanakkale bölgesinden alınan midye ve deniz suyu örneklerinin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. GIDA (2021) 46 (4) 949-958 doi: 10.15237/gida.GD21080

Tosun, M.N., Taylan, G., Zorba, N.N. (2021). Determination of the microbiological quality of mussels and seawater samples received from Çanakkale region. GIDA (2021) 46 (4) 949-958 doi: 10.15237/gida.GD21080

ÖZ

Bu çalışmada Çanakkale bölgesinde belirlenen 9 farklı istasyondan toplanan 536 midye örneğinin ve her istasyondan alınan deniz suyunun mikrobiyolojik kalitesi belirlenmiştir. Midye örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri yükünün en yüksek Merkez İskele istasyonunda (3.56 log kob/g) olduğu belirlenmiştir. En yüksek *E. coli* varlığı ise Gelibolu istasyonunda (1.99 log kob/g) saptanmıştır. Midyelerin mikrobiyel yüklerinin toplandıkları istasyonlar arasında istatistiksel anlamda farklı olmadığı ($P>0.05$) görülmüştür. Midyelerin toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ile toplandıkları deniz suyunun toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı arasında pozitif yönde korelasyon tespit edilmiştir ($P<0.05$). Gelibolu ve Lapseki istasyonlarındaki mikrobiyel yükün diğer istasyonlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Genel olarak değerlendirildiğinde Gelibolu ve Lapseki bölgesi haricinde Çanakkale boğazının farklı noktalarından alınan midyelerin mikrobiyel kalitesinin yasal sınırlar içerisinde olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Midye, *Mytilus galloprovincialis*, deniz suyu

DETERMINATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF MUSSELS AND SEAWATER SAMPLES RECEIVED FROM ÇANAKKALE REGION

ABSTRACT

In this study, the microbiological quality of 536 mussel samples collected from 9 different stations in Çanakkale region and the sea water taken from each station were determined. It was determined that the highest total aerobic mesophilic bacterial count of mussel samples was at the Merkez İskele station (3.56 log cfu/g). However the highest *E. coli* presence was detected at Gelibolu station (1.99 log cfu/g). It was determined that the microbial loads of mussels were not statistically different between the stations where they were collected ($P>0.05$). A positive correlation was found between the total bacterial count of mussels and the total bacterial count of seawater they were collected ($P<0.05$). It was observed that the microbial load at Gelibolu and Lapseki stations was higher than other stations. In general, it was determined that mussels taken from different points of Hellespont, Çanakkale except Gelibolu and Lapseki region was within the legal limits.

Keywords: Mussel, *Mytilus galloprovincialis*, seawater

** Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ dnukhet@comu.edu.tr

☎ (+90) 0286 218 0018-20053

Melike Nur Tosun; ORCID no: 0000-0002-6451-7354

Gizem Taylan; ORCID no: 0000-0003-2146-8254

Nükhet N. Zorba; ORCID no:0000-0001-6851-6474

GİRİŞ

Deniz ürünleri yüksek oranda doymamış yağ asitleri, proteinler, vitaminler gibi sahip oldukları zengin besin içerikleri nedeni ile değerli bir besin kaynağıdır. Balık ürünlerinden sonra en çok tüketilen deniz ürünü midyedir (Güngörür ve Bostan, 2019).

Midye (*Mytilus galloprovincialis*) *Mytilae* familyasına ait Akdeniz ülkelerinde yetişen bir yumuşakça türüdür (Bingol vd., 2008). Yetiştiriciliğinin kolay olması, hızlı büyüme oranı ve yüksek yem verimliliği ile dünya genelinde önem taşıyan ticari bir kabuklu deniz ürünü olan midye, özellikle Akdeniz ülkelerinde yıl boyunca tüketilmektedir (Bejaoui vd., 2021). Midyeler denizlerde nöbetçi türler olarak anılmaktadır. Beslenmeleri sırasında çok miktarda su filtre eden midye gibi çift kabuklu yumuşakçalar, dokularında birçok mikroorganizmayı ve çevresel kirleticiyi yoğunlaştırırlar (Güngörür, ve Bostan, 2019; Hamiroune vd., 2020). Mikrobiyotaları, yaşadıkları ortamın göstergesidir (Matozzo vd., 2018). Bu sebeple birçok patojenin rezervuarı olarak bilinmektedirler (Güngörür, Mehmet ve Bostan, 2019; Hamiroune vd., 2020). Yaşam sürelerinde çift kabukluların dokularında biriktirdikleri patojenler, bu ürünlerin tüketimi ile insanlarda pek çok hastalığa sebep olabilir. Mikrobiyel kontaminasyonlarla ilgili olarak risk, bu kabuklu deniz ürünlerinin çiğ veya nispeten az pişmiş olarak tüketilmesi ile artmaktadır (Hamiroune vd., 2020).

İnsan ve/veya hayvan atıkları ile kirlenmiş sulardan kaynaklanan en önemli enterik patojenler arasında *Salmonella* spp. ve *Escherichia coli*'nin patojenik türleri yer almaktadır (Calixto vd., 2012). Deniz ve deniz ürünlerinde olası patojenik mikroorganizma varlığının belirlenmesi için standart ve düşük maliyetli yöntemlerin bulunmamasından dolayı mikrobiyel kontaminasyonu belirlemek için *E. coli* gibi termotolerant koliformlar ve *Enterococcus* spp. indikatör mikroorganizma olarak kullanılmaktadır (Dos Santos vd., 2018). Günümüzde midyeler üzerine yapılan pek çok çalışma midyelerde bulunan bu bakterilerin belirlenmesi üzerine odaklanmaktadır (Daczowska-Kozen vd., 2010;

Musella vd., 2020). Son birkaç yılda, yapılan çalışmalarda bu indikatör mikroorganizma yaklaşımı, özellikle çiftlikte yetiştirilen kabuklu deniz hayvanlarının kalite kontrolü için potansiyel bir araç olarak önerilmeye ve kullanılmaya başlanmıştır (Matozzo vd., 2018).

Araştırmamızda kullanılan midye türü olan *Mytilus galloprovincialis* denizlerde gruplar halinde kayalıklara tutunarak büyüyen, Türkiye’de, Doğu Akdeniz kıyıları hariç Ege Denizi, Marmara Denizi, Çanakkale ve İstanbul Boğazları ile Karadeniz’de doğal yataklarda bol miktarda bulunan çift kabuklu yumuşakçalardandır. Akdeniz midyesi olarak adlandırılan *M. galloprovincialis*’ler “kirlilik göstergesi” olarak kabul edilmektedir. Buldukları ortamdaki suyu filtre ederek beslendikleri için fekal patojenleri, bakterileri, toksin, ağır metal ve radyoaktif maddeleri bünyelerinde yoğunlaştırarak almaktadırlar (Kristan vd., 2014). En önemli gıda kaynaklı enfeksiyon ve zehirlenmelerden bazıları çiğ veya hafif pişmiş deniz ürünleri ve balıklar yolu ile iletilmektedir (Jayme vd., 2016). Midye ve istiridye gibi çift kabuklu yumuşakçalar gıda kaynaklı hastalıklarda önemli bir yere sahiptirler.

Çalışmamızda Çanakkale bölgesindeki midyelerin ve toplandıkları deniz sularının mikrobiyolojik kalitesi ve birbiriyle ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Midye ve deniz suyu örneklerinin toplanması: Çanakkale boğazında belirlenen 9 farklı istasyondaki doğal ortamlarından (Şekil 1) Haziran 2020-Mart 2021 arasında dalarak elle toplanan 536 adet midye steril torbalarda ve aynı istasyonlardan alınan 1.5 L deniz suyu örnekleri ise midyelerin toplandığı alandan plastik şişelerde alınmıştır. Örnekler aseptik olarak buz çantalarında soğuk koşullar altında laboratuvara getirilmiş ve 24 saat içinde analize alınmıştır. Örneklerin alındıkları gün için deniz suyu sıcaklığı ölçülmüştür.



Şekil 1. Midye ve deniz suyu örneklerinin alındıkları istasyonlar.

Figure 1. Stations where mussel and sea water samples are collected.

Örneklerin hazırlanması:

Midyelerin kabukları fırça yardımı ile temizlenmiş ve %70'lik etil alkole daldırılıp çıkarılmıştır. Ardından steril bıçaklar yardımı ile midyelerin kabukları açılmış ve etleri steril bir behere ayrılmıştır.

10 g midye 90 mL steril %0.5'lik peptonlu su içerisinde stomacher cihazında (Interscience BagMixer® 400 P, Fransa) homojenize edilmiştir (Demirel, 1998). Elde edilen 10^{-1} 'lik dilüsyondan desimal dilüsyonlar hazırlanarak toplam mezofilik aerobik bakteri, toplam koliform, *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp., küf-maya yüklerini belirlemek üzere ekimler yapılmıştır. Her örnekten toplanan midye miktarına göre en az 5 paralel örnekleme yapılmıştır.

Deniz suyu örnekleri laboratuvara 1.5 L'lik temiz içme suyu pet şişeleri ile getirilmiş, analize alınmadan önce alt üst edilerek çökme engellenmeye çalışılmıştır. Deniz suyu örneklerinden 10 mL alınıp 90 mL steril %0.5'lik

peptonlu su içerisine aktararak desimal dilüsyonlar hazırlanmış ve toplam mezofilik aerobik bakteri, toplam koliform, *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp., küf-maya yüklerini belirlemek üzere ekimleri yapılmıştır. Her örnekten 2 paralel ekim gerçekleştirilmiştir. Deniz suyu örneklerinde bu analizlere ek olarak 100 mL ayrılarak *Enterococcus* spp. yükü belirlenmiştir.

Mikrobiyolojik analizler

Midye ve deniz suyu örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri yüklerinin belirlenmesi amacıyla hazırlanan dilüsyonlardan, Plate Count Agar (PCA, Merck, Almanya) besiyerine ekimler gerçekleştirilmiş ve petriler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Busta vd., 1984, Anon., 2005). Toplam koliform ve *E. coli* sayısının saptanmasında Chromocult Tryptone Bile X-glucuronide (TBX, Merck, Almanya) Agar kullanılmış ve petriler 44°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir (Kılınç vd., 2018). *S. aureus* yükünün belirlenmesi için yumurta sarısı ve potasyum

telürit içeren Baird Parker Agar (BPA, Merck, Almanya) besiyerine ekim yapılmış ve 37°C'de 24-48 saat inkübasyon sonunda temiz zon oluşturan 1mm çaplı siyah tipik koloniler sayılmıştır (Kılınç vd., 2018). *Bacillus* spp. yükünün saptanması amacıyla HiCrome Bacillus Agar (HiMedia, Hindistan) besiyerine ekim yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübasyon sonunda koloniler sayılmıştır (Aruwa ve Akinyosoye, 2015). Örneklerde mayaküf yükünün belirlenmesi amacıyla hazırlanan dilüsyonlardan Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC, Merck, Almanya) besiyerine ekim yapılmış, petriler 25°C'de 5-7 gün inkübe edilmiştir (Tosun vd., 2018). *Enterobacteriaceae* sayısının belirlenmesi amacıyla Violet Red Bile Dextrose (VRBD, Merck, Almanya) besiyerine çift tabaka yöntemine göre ekim yapılmış, petriler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Kışla ve Üzgün, 2008). Deniz suyunda *Enterococcus* spp. yükünün belirlenmesi amacıyla membran filtrasyon tekniği kullanılmıştır. 100 mL deniz suyu 0.45 µm por çaplı selüloz asetat (EMD Millipore Corporation, ABD) filtreden geçirilmiş ve filtre Slanetz-Bartley *Enterococcus* selective agar (Merck, Almanya) besiyeri üzerine yerleştirilmiştir. 37°C'de 24 saatlik inkübasyon sonunda filtre üzerindeki koloniler sayılmıştır (Kalinowska vd., 2021).

İstatistiksel analizler

Midyelerin ve deniz suyu örneklerinin mikrobiyolojik yüklerinin toplandıkları istasyonlara göre değişkenliği SPSS (23.0) paket programında One Way ANOVA analizi ile değerlendirilmiştir. Post-Hoc Tukey testi ile doğrulanmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada Çanakkale Boğazı'nın farklı noktalarında yer alan istasyonlardan toplanan midyelerin mikrobiyolojik yükleri Çizelge 1 ve deniz suyu örneklerinin mikrobiyel yükleri Çizelge 2'de gösterilmiştir. Midye örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri yükünün <1.00-3.56 log kob/g arasında değiştiği, en yüksek yükün Merkez İskele istasyonunda olduğu belirlenmiştir. Suluca ve Sarıçay istasyonlarından alınan midye ve deniz suyu örneklerinin mikrobiyel yükünün tespit seviyesinin altında olduğu görülmüştür. Bu

sonuçların, bu bölgelerde tatlı su çıkışlarının yakın olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Şener vd., (2013)'in aynı bölgede yaptığı çalışmada ise toplam mezofilik aerobik bakteri yükü ortalama 5.4×10^5 kob/g olarak belirlenmiştir. Araştırmacıların belirlediği mikrobiyel yükün bu çalışmada belirlenen sayılardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Başka bir çalışmada Yılmaz vd., (2005) Marmara Denizi'nin Gelibolu Yarımadası tarafından toplanan kara midyelerinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısını 2.1×10^4 kob/g olarak belirlemiştir. Bizim çalışmamızda ise Gelibolu istasyonunda toplam mezofilik aerobik bakteri yükü Merkez İskele istasyonundan sonra en yüksek yüke sahip olup ortalama 3,47 log kob/g düzeyindedir. Aynı bölgeden toplanan örneklerde farklı mikrobiyel yüke sahip midyelerin bulunmasında örnek alınan yıl, mevsim ve o tarihlerde o bölgede olabilecek kirlilik değişimleri önemli bir etkidir. Demirel (1999) İzmir kıyılarından üç istasyonda topladıkları kara midyelerinin toplam yükünün 2.1×10^3 ile 2.4×10^6 kob/g arasında olduğunu belirlemişlerdir. Buna karşın Kaçar (2011) aynı bölgedeki midyelerdeki toplam yükün 1.7×10^3 - 6.7×10^4 kob/g arasında olduğunu belirlemiştir. İzmir körfezinden alınan midyelerdeki sonuçların bu çalışmada belirlenen toplam mezofilik aerobik bakteri yükünden oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Gıdalar için Uluslararası Mikrobiyolojik Spesifikasyonlar Komisyonu (ICMSF) çift kabuklu yumuşakçalarda toplam mezofilik aerobik bakteri limitini 5×10^5 kob/g olarak belirtmiştir. Bu standarda göre çalışmamızdaki tüm istasyonlardan alınan midyeler toplam mezofilik aerobik bakteri yükü açısından limitler dâhilindedir.

Toplam koliform, fekal koliform, *E. coli* ve *Enterococcus* gibi indikatör bakteriler, su kalitesinin değerlendirilmesi ve suyun mikrobiyel kirliliğinin tahmininde risk değerlendirmesi için kullanılmaktadır (Papastergiou vd., 2009). Su ürünlerinde bulunan fekal koliform grubu bakterilerin başlıca bulaşma kaynakları suya karışan atık sular, hatalı foseptik sistemler, tarımsal alanlardan ve yüzey sularından akıntılardır (Kacar, 2011). Fekal bakteriler ile kontamine olmuş su ve bu su ile kontamine olmuş

yiyecek içecek tüketimi ciddi sağlık sorunlarına (menenjit, salmonellozis, dizanteri) neden olan tüm dünyada önem taşıyan bir konudur (Bighiu vd., 2019).

Yaptığımız çalışmada analize alınan midye örneklerinin %50'sinde koliform bakteri saptanmış olup, en yüksek değer Gelibolu istasyonunda 3.11 log kob/g olarak belirlenmiştir. En yüksek *E. coli* varlığı ise yine Gelibolu istasyonunda, toplam midye örneklerinin % 27.7'sinde saptanmış ve 1.99 log kob/g düzeyinde bulunmuştur. Lapseki istasyonunda ise *E. coli* yükü 1.46 log kob/g düzeyinde bulunmuştur. Diğer istasyonların hiçbirinde *E.coli*'ye rastlanılmamıştır. Körfez İşbirliği Konseyi (Gulf Cooperation Council, GCC) Standardizasyon kuruluşu (GSO) tarafından midyelerde bulunmasına izin verilen *E. coli* limiti 2.3×10^2 ile 7.0×10^2 kob/g aralığındadır (GSO, 2015). Gelibolu istasyonundaki *E. coli* varlığı bu limitler aralığındayken, Lapseki istasyonu *E. coli* yükü açısından daha iyi durumdadır. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (Anonim, 2011)' ne göre ise, *E. coli* midyelerde bulunmamalıdır. Bu standarda göre her iki istasyondan da alınan midyeler tüketime uygun değildir. Şener vd., (2013) Çanakkale bölgesinden topladıkları midyelerde *E. coli* yükünü oldukça yüksek (2.6×10^5 kob/g) düzeylerde saptamışlardır. Yılmaz vd., (2005) Marmara Denizi Gelibolu Bölgesinden aldıkları midyelerde koliform grubu bakteri sayısını 2.9×10^2 kob/g, *E. coli* sayısını 7.8×10^1 kob/g olarak tespit etmişlerdir. Bu değerler çalışmamızda Gelibolu'da tespit edilen yükten 1 log daha azdır. Çolakoğlu vd., (2010) Marmara denizinin Şevketiye ve Kemer bölgelerinden topladıkları beyaz kum midyelerinin *E. coli* ve fekal koliform yükünün yasal sınırların altında olduğunu ifade etmişlerdir. Lhafi ve Kühne, (2007) ise, Almanya'nın Wadden Denizi'nden topladıkları 90 midye örneği üzerinde çalışmışlar ve örneklerin %4.4'ünde *E. coli*'ye rastlamışlardır. Bu değerlerin ülkelerindeki standartların altında kaldığını ifade etmişlerdir.

Sinop'ta yapılan bir çalışmada ise midye örneklerindeki fekal koliform ve fekal *Streptococcus* sayılarının bazı istasyonlarda yasal sınırların

üzerinde olduğu belirtilmiştir (Berber ve Avşar, 2014). 2007-2012 yılları arasında Norveç'te toplanan çift kabuklularda *E. coli* ve *Enterococcus* prevalansındaki zaman eğilimi araştırılmış ve *Enterococcus* ve *E. coli* tespiti arasında zayıf korelasyon bulunmuştur (Lunestad vd., 2016). Araştırmacılar, numune alma aralıklarında, aynı zamanda çiftlik hayvanları veya insan kaynaklı dışkıya olası maruziyet hakkındaki genel bilgileri, yağış, yerin topografyası, gel-git ve su akıntı modellerinin de değerlendirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Kaçar (2011) İzmir körfezindeki istasyonlardan topladığı midyelerdeki fekal koliform sayısının 2.3×10^1 EMS/g ile 2.4×10^3 EMS/g arasında olduğunu, ayrıca bazı örneklerde *Salmonella* spp. tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Çanakkale boğazında yapılan bu çalışmada ise alınan midye örneklerinde *Enterobacteriaceae* yüklerinin $<1.00-3.56$ log kob/g arasında olduğu en yüksek yükün Gelibolu istasyonunda belirlendiği görülmüştür. *Enterobacteriaceae* sayıları, fekal koliform, *E. coli* ve fekal *Streptococcus* sayıları ile birlikte fekal kaynaklı bakteriyel kirlenmenin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla *Salmonella* ile aynı kaynaktan gelen bu mikroorganizmaların varlığı, *Salmonella* gibi fekal patojenlerin riskini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda en yüksek küf yükü (1.56 log kob/g) Çardak istasyonundan alınan midyelerde belirlenmiştir. En yüksek maya sayısı ise (3.61 log kob/g) Merkez İskele istasyondan elde edilmiştir. Merkez iskeleye yakın bölgeden kanalizasyon çıkışı olmasının yanı sıra bu bölgede kıyı balıkçılığı olması nedeniyle insan hareketliliği bulunmaktadır. Ayrıca balıkları çekmek amacıyla denize ekmek vb. atıldığı da gözlenmiştir. Dolayısıyla, bu bölgedeki maya sayısının yüksek olmasının, belirtilen nedenlere bağlı olduğu düşünülmüştür. Tosun vd., (2018) Marmara denizinden topladıkları midyelerde toplam küf-maya sayısını 6.30 log kob/g olarak belirlemişken, bizim çalışmamızda en yüksek toplam küf-maya sayısı 4.16 log kob/g olarak daha düşük düzeyde belirlenmiştir.

Gıdalarda yüksek oranda *B. cereus* varlığı, gıda zehirlenmesine sebep olan toksinlerin sentezi sebebiyle tüketici için risk oluşturmaktadır (Kışla ve Üzgün, 2008). Midye örneklerinde *Bacillus* spp. yükü (3.64 log kob/g) en fazla olan istasyon Gelibolu olarak belirlenmiştir. Sarıçay ve Suluca dışındaki tüm istasyonlardan *Bacillus* spp. izole edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan besiyeri kromojenik bir besiyeri olup, *Bacillus cereus* grubu bakteriler mavi merkezli beyaz kenarlı koloni oluşturmaktadır. Yapılan ekimlerde sarı ve yeşil karışık koloniler tespit edilmiş olup, mavi koloni oluşturan *B. cereus*'a rastlanılmamıştır.

Gıdaların işlenmesi sırasında bulaşma potansiyeli olan *S. aureus* genellikle midye dolmada aranmıştır (Ates vd., 2011; Kılınç vd., 2018; Güngörür, ve Bostan, 2019). Çiğ midyede *S. aureus* araştıran çalışmalar sınırlıdır. Ancak hem çiğ tüketilebilen hem de zayıf ısı işlem gören midyelerin *S. aureus* yükleri, işleme sırasında da artış riski olduğu göz önünde bulundurulduğunda, hem gıda güvenliği hem de halk sağlığı açısından oldukça önemlidir. Çalışmamızda analize alınan istasyonlar arasında *Staphylococcus* spp. saptanan bölgeler Gelibolu (0.81 log kob/g) ve Lapseki (0.83 log kob/g) olmuştur. Ancak bunların koagülaz pozitif *S. aureus* olmadıkları tespit edilmiştir. Diğer istasyonlardan ise *Staphylococcus* spp. izole edilmemiştir. Yılmaz vd., (2005) Marmara Denizi Gelibolu Bölgesindeki kara midyelerinde *S. aureus* sayısını 3.1×10^2 kob/g olarak tespit etmişlerdir. Şener vd., (2013) Çanakale boğazından aldıkları midyelerdeki *S. aureus* sayısını 2.2×10^5 kob/g olarak belirlemişlerdir. Bu düzeyler bizim çalışmamızdaki sonuçlardan oldukça yüksektir.

Çanakale boğazının farklı noktalarından alınan örneklerin mikrobiyel yükleri arasında farklılık gözlenmiş olsa da bu farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığı saptanmıştır ($P > 0.05$). Benzer şekilde Akar (2009), İzmir körfezinde ve kıyı sularında midyelerde fekal koliform yüklerinin istasyonlara göre farklılaşmadığını ifade etmiştir.

Midye örneklerinin toplandığı bölgelerden alınan deniz suyu örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayılarının 0.57-3.78 log kob/mL arasında değiştiği belirlenmiştir. Midyelerin toplam

mezofilik aerobik bakteri yükleri ile toplandıkları deniz suyundaki toplam mezofilik aerobik bakteri yükleri arasındaki ilişki önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Araştırılan diğer bakteriyel yükler açısından ise önemli bir ilişki bulunmamıştır ($P > 0.05$). Analize alınan istasyonlar arasında deniz suyunda toplam mezofilik aerobik bakteri yükü bakımından en kirli istasyon sırasıyla Gelibolu (3.78 log kob/mL), Lapseki (2.27 log kob/mL) ve Kilitbahir (2.13 log kob/mL) istasyonları olmuştur. Yüzme Suyu Kalitesi Yönetmeliği (Anon., 2019)'ne göre, kıyı sularındaki *E. coli* yükü 2.5-5.0 kob/mL arasında ise mükemmel, iyi kalitede ve yeterli olarak sınıflandırılmıştır. Bizim çalışmamızda Lapseki bölgesinde *E. coli* yükü 0.41 log kob/mL bulunduğundan yetersiz olarak değerlendirilmiştir. Diğer istasyonlardan *E. coli* izole edilmemiştir. *Enterococcus* spp. ise sadece Lapseki ve Merkezi istasyonlarında sırasıyla 1.49 log kob/100mL ve 1.19 log kob/100mL olarak tespit edilmiştir. Lapseki istasyonundan alınan su örneğindeki *Enterococcus* yükünün kıyı suları yönetmeliğinde belirlenen değerlerden yüksek olduğu görülmüştür. Benzer şekilde Sinop'ta yapılan bir çalışmada (Berber ve Avşar, 2014), deniz suyu örneklerindeki fekal koliform ve fekal *Streptococcus* sayılarının, yasal sınır değerlerden yüksek olduğu belirtilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler, bu çalışmadaki deniz suyu örneklerindeki *Enterococcus* spp. yüklerinin toplandıkları bölgeye göre değişmediğini göstermiştir ($P > 0.05$). Ayrıca deniz suyu örneklerinin *E. coli* yükleri ile *Enterococcus* spp. yükleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($P: 0.020$). Deniz suyu örneklerinde *Bacillus* spp. sayılarının Gelibolu ve merkez ve Lapseki istasyonlarında yüksek olduğu görülmüş, bu durum bu istasyonlardan alınan midye örneklerindeki *Bacillus* spp. sayılarının yüksekliğinin nedeni olarak belirlenmiştir.

Midye ve deniz suyunun mikrobiyolojik kalitesi

Çizelge 1. Midye örneklerinin ortalama mikrobiyel yükleri (log kob/g)
Table 1. Average microbial loads of mussel samples (log cfu/g)

	Toplam mezofilik aerobik bakteriler Total mesophilic aerobic bacteria	Küf/maya Mold/ Yeast	Toplam koliform Total coliform	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp
Gelibolu	3.47±0.29	0.23±0.23/ 2.04±0.27	3.11±0.31	1.99±0.51	3.56±0.06	3.64±0.09	0.81±0.35
Lapseki	3.07±0.25	1.47±0.21/ 2.00±0.17	1.99±0.49	1.46±0.54	2.97±0.08	2.50±0.58	0.83±0.42
Merkez İskele	3.56±0.22	0.55±0.55/ 3.61±0.25	1.25±0.61	TE	2.29±0.60	3.51±0.24	TE
Sarıçay	TE	TE	TE	TE	0.36±0.36	TE	TE
Kilitbahir	1.59±0.03	0.52±0.52/ TE	TE	TE	0.65±0.65	1.69±0.68	TE
Çardak	0.82±0.82	1.56±0.17/ 0.65±0.65	TE	TE	2.47±0.03	0.82±0.82	TE
Suluca	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Çamburnu	0.73±0.43	0.52±0.52/ TE	TE	TE	0.65±0.65	1.69±0.68	TE
Kepez	2.36±0.18	TE	1.71±0.48	TE	2.67±0.16	2.87±0.22	TE

TE: Tespit edilmedi. Sonuçlar Ortalama ± Standart Hata olarak hesaplanmış ve logaritmaları alınmıştır.
ND: Not Determined. Values are given as Mean ± Standard Error and logarithms are calculated.

Çizelge 2. Deniz suyu örneklerinin ortalama mikrobiyel yükleri (log kob/g)
Table 2. Average microbial loads of seawater samples (log cfu/g)

	Toplam mezofilik aerobik bakteriler Total mesophilic aerobic bacterial	Küf/maya Mold/ Yeast	Toplam koliform Total coliform	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp	<i>Enterococcus</i> spp
Gelibolu	3,78±0.83	TE	TE	TE	3.69±0.82	4.04±0.12	TE	TE
Lapseki	2.27±0.28	0.47±0.47	0.67±0.67	0.41±0.41	2.07±1.17	2.51±1.01	1.27±0.79	1.49±0.84
Merkez	1.01±1.01	TE	TE	TE	TE	3.18±0.04	TE	1,19±0.05
Sarıçay	0.57±0.57	TE	TE	TE	0.96±0.96	TE	1,94±0.02	TE
Kilitbahir	2.13±0.01	TE	2.27±0.01	TE	TE	TE	2.16±0.03	TE
Çardak	1.39±0.01	TE	TE	TE	0.87±0.01	TE	TE	TE
Suluca	2.09±0.01	TE	TE	TE	TE	1.53±0.01	TE	TE
Çamburnu	1,39±0.01	TE	TE	TE	1.87±0.01	TE	TE	TE
Kepez	1,54±1.54	TE	1.40±1.40	TE	1.63±1.63	1.68±1.68	TE	TE

TE: Tespit edilmedi. Sonuçlar Ortalama ± Standart Hata olarak hesaplanmış ve logaritmaları alınmıştır.
TE: Not Determined. Values are given as Mean ± Standard Error and logarithms are calculated.

SONUÇ

Analize alınan istasyonlar arasında istatistiksel bir anlamlılık saptanmamasına karşın, istasyonlar tek başına değerlendirildiğinde hem Gelibolu hem Lapseki istasyonunun diğer istasyonlara göre daha yüksek mikrobiyel yükte olduğu görülmüştür. Bu bölgedeki köprü inşaatı dolayısıyla yaşanan hareketliliğin mikrobiyel yüke de yansdığı düşünülmüştür. Türk gıda kodeksinde verilen mikrobiyolojik kriterlere göre her iki istasyondaki *E. coli* yükü standarda uymamaktadır. Ancak bu bölgede daha önceki yıllarda alınan midye örneklerine göre daha düşük bir mikrobiyel yük tespit edilmiş olmasının altyapı çalışmalarında yapılan iyileştirmelerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak deniz suyunun mikrobiyel kalitesinin düzenli aralıklarla test edilmesi ve yeterli kalitedeki sulardan avlanan midyelerin ısıl işlemden geçilerek tüketilmesi önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından FBA-2019-3105 nolu proje ile desteklenmiştir. Çalışmada yer alan Gizem Taylan ve Melike Nur Tosun'a 100/2000 burs programında burs veren Yükseköğretim Kurulu Başkanlığı'na, midyelerin toplanmasında desteklerini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Nesrin ÇAKICI ve Öğr. Gör. Hasan ÇAKICI'ya ve Egemen ÖZCAN'a teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Makaledeki yazarların diğer kişi ve/veya kurumlar ile arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZARLARIN KATKISI

Nükhet Nilüfer ZORBA araştırmanın planlamasını yapmış, Melike Nur Tosun ve Gizem Taylan analizleri ve istatistiksel değerlendirmeyi yapmışlardır. Tüm yazarlar makale yazımına katkıda bulunarak, makalenin son halini okuyarak onaylamıştır.

KAYNAKLAR

Akar, S. (2009). İzmir İç Körfezi'nde, Kıyı Sularında Ve Kara Midyelerde (*Mytilus Galloprovincialis* Lamarck, 1819) Fekal Koliform

Bakterilerin İzlenmesi. 9 Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 71s.

Anonim. (2005). Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed: A. K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 358 sayfa

Anonim. (2011). Türk gıda kodeksi, mikrobiyolojik kriterler tebliği T.C. Resmi Gazete No. 28157. Ankara

Anonim. (2019) Yüzme suyu kalitesi yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete No.308999, Ankara.

Aruwa, C., Akinyosoye, F. (2015). Microbiological assessment of ready-to-eat foods (RTEs) for the presence *Bacillus* species. *J Adv Biol Biotechnol*, 3(4), 145–152, doi: 10.9734/jabb/2015/17407

Ates, M., Ozkizilcik, A., Tabakoglu, C. (2011). Microbiological analysis of stuffed mussels sold in the streets. *Indian J Microbiol*, 51(3), 350–354, doi: 10.1007/s12088-011-0174-6

Bejaoui, S., Ghribi, F., Chetoui, I., Aouini, F., Bouaziz, M., Houas-Gharsallah, I., Soudani, N., El Cafsi, M. (2021). Effect of storage temperature and time on the fatty acids and nutritional quality of the commercial mussel (*Mytilus galloprovincialis*). *J Food Sci Technol*, doi: 10.1007/s13197-021-05008-5

Berber, I., Avşar, C. (2014). Investigating some microbial pollution parameters of seawater and mussels (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck 1819) of Sinop Black Sea Coastal Zone, Turkey. *Sains Malaysiana*, 43(12), 1835–1842 , doi: 10.17576/jsm-2014-4312-04

Bighiu, M. A., Norman Haldén, A., Goedkoop, W., Ottoson, J. (2019). Assessing microbial contamination and antibiotic resistant bacteria using zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). *Sci Total Environ*, 650, 2141–2149, doi:10.1016/j.scitotenv.2018.09.314

Bingol, E. B., Colak, H., Hampikyan, H., Muratoglu, K. (2008). The microbiological quality of stuffed mussels (Midye Dolma) sold in Istanbul. *Br Food J*, 110(11), 1079–1087, doi: 10.1108/00070700810917992

- Busta, F. F., Peterson, E. H., Adams, D. M., Jhonson, M.G. (1984). Ch. 2 Colony count methods, compendium of methods for the microbiological examination of foods. Marvin L. Speck (Ed.), APHA, Washington.
- Calixto, F. A. A., da Mesquita, E. D. F. M., Franco, R. M., Rubião, C. A., dos Santos, N. M., Souza, M. C. L., & da Silva, L. E. (2012). Evaluation of total and faecal coliforms and *Salmonella* spp. in irradiated mussels from Brazil. *J Agric Sci Technol*, 2, 511–519.
- Çolakoğlu, F. A., Ormanci, H. B., Künili, İ. E., Çolakoğlu, S. (2010). Chemical and microbiological quality of the *Chamelea gallina* from the southern coast of the Marmara Sea in Turkey. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 16(Suppl A), 153-158, doi: 10.9775/kvfd.2010.2654
- Daczowska-Kozon, E.G., Dabworski, W., Bernardczyk-Drag, A., Szymczak, B., (2010). Safety aspects of seafood. Environmental Effects on Seafood Availability, Safety, and Quality. CRC Press, Florida (USA), s129.
- Demirel, N. N. (1998). Bazı su ürünlerinde *V. vulnificus* ve diğer bazı *Vibrio* türlerinin bulunma sıklığı. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, s86.
- Dos Santos, F. S., Neves, R. A. F., de Carvalho, W. F., Krepesky, N., & Crapez, M. A. C. (2018). Evaluation of the immune responses of the brown mussel *Perna perna* as indicators of fecal pollution. *Fish Shellfish Immunol*, 80(June), 115–123, doi: 10.1016/j.fsi.2018.05.061
- Güngörür, M. N., Bostan, K. (2019). İstanbul'da satışa sunulan midye dolmaların mikrobiyolojik kalitesi. *Aydın gastronomy*, 3(1), 55–63.
- GSO, (2015). Gıda maddeleri için mikrobiyolojik kriterler, GCC Standardizasyon Kuruluşu, GSO 1016/2015 (E).
- Hamiroune, M., Saoudi, A., Khaled, K., Foughalia, A. (2020). Bacteriological study of the farmed mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and its impact on public health, *Agricultura*, 4(3), 158–167.
- ICMSF. (1986). Microorganisms in foods. 2. sampling for microbiological analysis: principles and specific applications, 2nd ed. University of Toronto Press, Buffalo, NY.
- Jayme, M. M. A., Silva, M. M., Sales, A., Nunes, M. C., Freitas-Almeida, A. C., Araújo, F. V. (2016). Survey of pathogens isolated from mussels *Perna Perna* collected in Rocky shore and fishmarket of Niterói, RJ, and their respective resistance profile to antimicrobial drugs. *J Food Qual*, 39(4), 383–390, doi: 10.1111/jfq.12204
- Kacar, A. (2011). Some microbial characteristics of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in coastal city area. *Environ Sci Pollut Res*, 18(8), 1384–1389, doi: 10.1007/s11356-011-0487-3
- Kalinowska, A., Jankowska, K., Fudala-Ksiazek, S., Pierpaoli, M., Luczkiewicz, A. (2021). The microbial community, its biochemical potential, and the antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. in Arctic lakes under natural and anthropogenic impact (West Spitsbergen). *Sci Total Environ*, 763, 142998, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142998
- Kılınç, B., Şen Yılmaz, B., Gören, B. (2018). İzmir'in farklı bölgelerinde satışa sunulan midye dolmaların mikrobiyolojik kalite kontrolü. *Süleyman Demirel Üniv Eğirdir Su Ür Fak Derg*, 14(4), 276–290, doi: 10.22392/egirdir.403570
- Kışla, D., Üzgün, Y. (2008). Microbiological evaluation of stuffed mussels. *J Food Prot*, 71(3), 616–620, doi: 10.4315/0362-028X-71.3.616
- Kristan, U., Kanduc, T., Osterc, O., Slejkovec, Z., Ramsak, A., & Stibilj, V. (2014). Assessment of pollution level using *Mytilus galloprovincialis* as a bioindicator species: The case of the Gulf of Trieste. *Mar Pollut Bull*, 89,455-463.
- Lhafi, S. K., Kühne, M. (2007). Occurrence of *Vibrio* spp. in blue mussels (*Mytilus edulis*) from the German Wadden Sea, *Int J Food Microbiol*, 116(2), 297-300, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.01.007
- Lunestad, B. T., Frantzen, S., Svanevik, C. S., Roiha, I. S., Duinker, A. (2016). Time trends in the prevalence of *Escherichia coli* and enterococci in bivalves harvested in Norway during 2007-

2012. *Food Control*, 60, 289–295, doi: 10.1016/j.foodcont.2015.08.001
- Matozzo, V., Ercolini, C., Serracca, L., Battistini, R., Rossini, I., Granato, G., Quagliari, E., Perolo, A., Finos, L., Arcangeli, G., Bertotto, D., Radaelli, G., Chollet, B., Arzul, I., Quaglio, F. (2018). Assessing the health status of farmed mussels (*Mytilus galloprovincialis*) through histological, microbiological and biomarker analyses. *J Invertebr Pathol*, 153(February), 165–179, doi: 10.1016/j.jip.2018.02.018
- Musella, M., Wathsala, R., Tavella, T., Rampelli, S., Barone, M., Palladino, G., Biagi, E., Brigidi, P., Turroni, S., Franzellitti, S., Candela, M. (2020). Tissue-scale microbiota of the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and its relationship with the environment. *Sci Total Environ*, 717, 137209, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.137209
- Papastergiou, P., Mouchtouri, V., Karanika, M., Kostara, E., Kolokythopoulou, F., Mpitsolas, N., Papaioannou, A., Hadjichristodoulou, C. (2009). Analysis of seawater microbiological quality data in Greece from 1997 to 2006: association of risk factors with bacterial indicators, *J Water Health*, doi: 10.2166/wh.2009.135
- Şener, A., Demir, N., Çakıcı, N., Kaya, H., Bakar, C. (2012). Çanakkale Boğazi'ndan avlanan kara midyelerinin (*Mytilus galloprovincialis*) mikrobiyolojik incelemesi. *Nobel Medicus*, 26(9-2), 69-73.
- Tosun, S. Y., Uçok Alakavuk, D., Ulusoy, S. (2018). Quality changes of thermal pasteurized mussels (*Mytilus galloprovincialis*) during refrigerated storage at 4±1°C. *Aquat Sci Eng*, 33(4), 117–123, doi: 10.26650/ase2018428669
- Yılmaz, I., Bilgin, B., Öktem, B. (2005). Occurrence of *Vibrio* and other pathogenic bacteria in *Mytilus galloprovincialis* and *Venus gallina* harvested from the Marmara Sea. *Turkish J Vet Animal Sci*, 29(2), 409–415.



ÇEMEN OTU TOHUMUNDAN FENOLİK BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU İÇİN OPTİMİZASYON ÇALIŞMASI

Sedanur Daştan, İzzet Türker, Hilal İşleroğlu*

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Tokat,
Türkiye

Geliş / Received: 14.04.2021; Kabul / Accepted: 07.06.2021; Online baskı / Published online: 02.07.2021

Daştan, S., Türker, İ., İşleroğlu, H. (2021). Çemen otu tohumundan fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için optimizasyon çalışması. *GIDA* (2021) 46 (4) 959-970 doi: 10.15237/gida.GD21071.

Daştan, S., Türker, İ., İşleroğlu, H. (2021). An optimization study on the extraction of phenolic compounds from fenugreek seeds. *GIDA* (2021) 46 (4) 959-970 doi: 10.15237/gida.GD21071.

ÖZ

Bu çalışmada, çemen otu (*Trigonella foenum-graecum* L.) tohumundan saf su kullanılarak farklı sıcaklıklarda mekanik karıştırma ile fenolik ekstraktlar elde edilmiştir. Ekstraktların toplam fenolik madde (TFM), toplam flavonoid (TFL) ve antioksidan kapasiteleri (AK) üzerine ekstraksiyon sıcaklığı (30-80°C), ekstraksiyon süresi (10-120 dakika) ve karıştırma hızının (3600-20000 rpm) etkileri incelenmiştir. TFM, TFL ve AK'nin en yüksek değerlere ulaşabilmesi için optimum işlem koşulları Merkezi Kompozit Tasarım kullanılarak 'desirability' fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenmiştir. Optimizasyon sonuçlarına göre, 45°C ekstraksiyon sıcaklığı, 65 dakika ekstraksiyon süresi ve 20000 rpm karıştırma hızında ekstraktların TFM içeriği 137.37±1.87 mg gallik asit/g kuru örnek, TFL içeriği 86.96±1.44 mg kuersetin/g kuru örnek ve AK'si 18.11±0.55 mM Trolox/g kuru örnek olarak belirlenmiştir. Çemen otu tohumu ekstraktlarının, yüksek fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitesi ile farklı gıda formülasyonlarında kullanım potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Çemen otu tohumu, mekanik karıştırma, toplam fenolik madde, toplam flavonoid, antioksidan kapasite, optimizasyon

AN OPTIMIZATION STUDY ON THE EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM FENUGREEK SEEDS

ABSTRACT

In this study, phenolic compounds (PCs) were extracted from fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum* L.) by mechanical agitation using pure water at different temperatures. The effects of the extraction temperature, extraction time, and agitation rate on the total PCs (TPCs), total flavonoids (TFLs), and antioxidant capacities (ACs) of the extracts were investigated. Optimum conditions for which TPCs, TFLs, and ACs reached their highest value were determined using the desirability function of the central composite design. Optimization results at 45°C extraction temperature, 65 min extraction time, and 20000 rpm agitation rate showed that TPCs were 137.37 ± 1.87 mg gallic acid/g dry sample, TFLs were 86.96 ± 1.44 mg quercetin/g dry sample, and ACs were 18.11±0.55

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: hilal.isleroglu@gop.edu.tr

☎:(+90) 356 252 1616/2888

☎:(+90) 356 252 1729

Sedanur Daştan; ORCID no: 0000-0003-1393-5270

İzzet Türker; ORCID no: 0000-0003-0107-1962

Hilal İşleroğlu; ORCID no: 0000-0002-4338-9242

mM Trolox/g dry sample. The fenugreek seed extracts having high amounts of phenolic compounds and high antioxidant capacity are believed to have the potential for use in different food formulations.

Keywords: Fenugreek seeds, mechanical agitation, total phenolic compounds, total flavonoid, antioxidant capacity, optimization

GİRİŞ

Çemen otu tohumu sert köşeli, pürüzlü ve esmer kırmızı görünüme sahip *Trigonella foenum-graecum* L. (Leguminosae) bitkisinin içerisinde yer alan bir tohumdur. Kokusuz olan tohumunun öğütülmüş hali 3-Hydroxy-4,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon bileşiği sayesinde kuvvetli bir kokuya sahiptir (Baytop, 1984). Çemen otu tohumu fenolik maddeler, diyet lifi, protein, yağ, azotlu bileşikler, çeşitli mineraller ve vitaminler bakımından oldukça zengin bileşime sahip bir üründür. Zengin bileşiminden dolayı çemen otu tohumunun insan sağlığı üzerinde önemli ve olumlu etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Srinivasan, 2006; Dixit vd., 2005).

Çemen otu tohumunun ekstraksiyonu sonucu elde edilen fenolik ekstraktların önemli oranda antioksidan madde içerikleri bilinmektedir. Çemen otu tohumunda vitesin, trisin, narinjenin, kuersetin ve luteolin gibi flavonoidlerin varlığı yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir (Khorshidian vd., 2016). Aynı zamanda yapılan çalışmalar ile çemen otu tohumu fenolik ekstraktlarının, askorbik asit, glutatyon, β-karoten, alfa tokoferol gibi antioksidan etkiye sahip molekülleri içerdiği de bulgulanmıştır (Kenny vd., 2013; Yadav ve Chowdhury, 2017).

Zengin bileşime sahip çemen otu tohumu, uluslararası ticarete gıda sanayinde kullanılmak üzere lezzet verici ve doğal antibakteriyel ürün olarak kendine yer bulmaktadır. Bunlara ek olarak birçok ürünün formülasyonunda kullanım potansiyeline sahiptir. Ayrıca pastırma yapımında kullanılan kaplamanın da temel bileşenlerinden biridir. Çemen otu tohumundan sağlık alanında ise tahriş giderici, bağırsak yumuşatıcı, gaz giderici, sindirimi kolaylaştırıcı, süt artırıcı olarak yararlanılmaktadır (Abdelgani vd., 1999; Dixit vd., 2005; Gökçe ve Efe, 2016).

Fenolik maddeler, bitkilerde aromatik aminoasit metabolizması sırasında sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitlerdir ve

flavonoidler, lignanlar, stilbenler ve tanenler olarak sınıflandırılmaktadır (Atak ve Uslu, 2018). Fenolik maddeler tat ve koku oluşumundaki etkileri, renk oluşumu ve değişimine katılmaları, antimikrobiyal ve antioksidatif etki göstermeleri, enzim inhibisyonuna neden olmaları sebebiyle oldukça önemli gıda bileşenleri olarak değerlendirilirler (Hakkinen, 2000; Tenderis, 2010; Atak ve Uslu, 2018). Fenolik maddelerin alt gruplarından biri olan flavonoidlerin ise tüketildiklerinde özellikle kanser ve kalp rahatsızlıklarının yayılma hızlarını azalttıkları bilinmektedir (Ignat vd., 2011; Birman, 2012). Sağlık açısından etkileri düşünüldüğünde, doğal ürünlerde bulunan fenolik bileşikler gibi biyoaktif bileşenlerin yüksek verimde ekstraksiyonu üzerine birçok araştırma yapılmaktadır. Çemen otu tohumunun bileşimi göz önünde bulundurulduğunda ise çemen otu tohumundan elde edilecek sulu ekstraktların fenolik bileşik açısından zengin olacağı ve bu ekstraktların farklı gıdalarda kullanılabilceği düşünülmektedir. Dünyada ve Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan çemen otu tohumundan fenolik madde ekstraksiyonu ile ilgili literatürde çalışmalar bulunmaktadır (Belguith-Hadriche vd., 2013; Kenny vd., 2013; Al-Juhaimi vd., 2016). Ancak yapılan literatür araştırmasında, çemen otu tohumlarından fenolik ekstrakt elde edilebilmesi amacıyla farklı sıcaklıklarda karıştırma işleminin uygulandığı ve işlem parametrelerinin ekstraktta bulunan fenolik maddelerin miktarı üzerine etkilerinin incelenerek optimizasyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Fenolik maddeler gibi biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyon koşullarından önemli oranda etkilendiği yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Ekstraksiyon verimini en fazla etkileyen parametreler çözgen çeşidi, çözgen konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve karıştırma hızı olarak bildirilmiştir (Goli vd., 2005; Belguith-Hadriche vd., 2013; Ballard vd., 2009; Zuorro vd., 2016). Literatürde, ekstraksiyon sıcaklığının artması ile fenolik

maddelerin ekstraksiyon veriminin arttığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Benmeziane vd., 2014; Dorta vd., 2012). Yang vd. (2009), gardenya meyvesinden fenolik madde ekstraksiyonunda ekstraksiyon sıcaklığındaki artışın fenolik madde ekstraksiyonuna doğrusal olarak etki ettiğini bildirerek yaptıkları çalışmada optimum ekstraksiyon sıcaklığını 73°C olarak tespit etmişlerdir. Mokrani ve Madani (2016), şeftali ile ilgili yaptıkları ekstraksiyon çalışmasında ise farklı ekstraksiyon sıcaklıklarının fenolik madde ekstraksiyonunu önemli ölçüde etkilediğini belirtmişlerdir. Sıcaklığın artması ile birlikte toplam fenolik madde veriminin düştüğünü, bununla birlikte sıcaklığın artışına bağlı olarak toplam flavonoid veriminin arttığını gözlemlemişlerdir. Sıcaklık, bitki dokusunun yumuşamasına ve fenol-protein ve fenol-polisakarit etkileşimlerin zayıflamasına ve böylece daha fazla polifenolün çözücüye geçmesine neden olabilmektedir. Benzer şekilde genellikle glikozit yapıda olan ve bitki dokularında bulunan flavonoidlerin, ekstraksiyon sıcaklığının belirli bir düzeye kadar artırılması ile ekstraksiyon verimlerinin arttığı bildirilmiştir (Mokrani ve Madani 2016). Bazı çalışmalarda ise sıcaklık artışının belli bir noktadan sonra fenolik maddeler üzerinde olumsuz etki yaparak azaltma eğilimine neden olduğu sonucuna varılmıştır (Silva vd., 2007; Sun vd., 2011; Yim vd., 2011; Ballard vd., 2009).

Bu çalışmanın amacı, çemen otu tohumunda bulunan fenolik maddelerin mekanik karıştırma işlemi ile farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstraksiyonunun sağlanması ve en yüksek fenolik madde ekstraksiyonunun sağlandığı optimum işlem koşullarının tespit edilmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada Tokat ilinde yetiştirilmiş çemen otu (*Trigonella foenum-graecum* L.) bitkisinin tohum kısımları kullanılmıştır. Tohumlar bir blender (Sinbo SHB 3020, Türkiye) yardımı ile toz hale getirilmiş ve 630 µm gözenek çapına sahip elek kullanılarak elek altında kalan toz örnekler toplanmıştır. Kullanıma hazır hale getirilen toz tohum örnekleri analizler yapıncaya kadar oda sıcaklığında karanlık bir ortamda depolanmıştır.

Ekstraksiyon işlemi ve Optimizasyon

Toz forma getirilmiş çemen otu tohumu örneklerinden fenolik maddelerin ekstraksiyonu amacı ile çözügen olarak yalnızca saf su kullanılmıştır. Yapılan ön denemeler ile toz örnek/saf su karışım oranı 0.5 g/50 mL olarak belirlenmiş ve tüm koşullarda sabit tutulmuştur. Ekstraksiyon işlemi için mekanik bir homojenizatör (IKA-Works, Ultra Turrax T-18 Basic, Almanya) kullanılmış ve farklı karıştırma hızları (3600, 11200 ve 20000 rpm) ve sıcaklıklarda (30, 55 ve 80°C) ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. En yüksek toplam fenolik madde (TFM), toplam flavonoid (TFL) ve antioksidan kapasite (AK) değerlerini sağlayacak olan ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu 'Merkezi Kompozit Tasarım (Central Composite Design)' kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan deneysel tasarım Çizelge 1'de gösterilmiştir. Ekstraksiyon işlemlerinde ekstraksiyon yöntemine özgü işlem değişkenlerinin TFM, TFL ve AK üzerine etkisi incelenerek en yüksek değerlere sahip ekstrakt eldesini sağlayacak ekstraksiyon işlemi 'desirability' fonksiyon yaklaşımına göre optimize edilmiştir. Oluşturulan matematiksel modellere göre ekstraksiyon verimi için modeldeki anlamlı terimler varyans analizi ile belirlenmiştir. Ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen yanıtların regresyon analizi için Eşitlik (1)'de verilen model kullanılmıştır.

$$\begin{aligned} \text{TFM, TFL ve AK} = & \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \\ & \sum_{i=1}^k \beta_i X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} X_{ij} \quad k=1, 2 \end{aligned} \quad (1)$$

Eşitlikte β_0 sabit katsayıyı, β_i i'inci gözlemin katsayısını, β_{ij} i'inci gözlemin j'inci katsayısını, k bağımsız değişken sayısını, X_i i'inci bağımsız değişkeni, X_{ij} ise i'inci gözlemin j'inci bağımsız değişkenini ifade etmektedir.

Ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirildikten sonra örneklerin analizlerde kullanılabilir hale getirilebilmesi için elde edilen süspansiyonlara öncelikle 6000 rpm ve 5 dakika süre ile santrifüj işlemi uygulanmıştır (Hettich EBA 21, Almanya).

Sonrasında süpernatant faz kaba filtre kâğıdı ile süzülerek toplanmış ve analizler süpernatant fazlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Toplam fenolik madde tayini

Örneklerin TFM miktarları Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir. Folin-Ciocalteu çözeltisi, Na₂CO₃ ve örnekleri içeren karışımlar 25 dakika süre ile oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildikten sonra 3800 rpm ve 10 dakika süre ile santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Süpernatant fazların 725 nm dalga boyunda absorbanları okunarak (P&G Instruments T80+, Birleşik Krallık) TFM miktarları gallik asit (Sigma-Aldrich, Almanya) ekivalanı (mg gallik asit /g kuru örnek) cinsinden ifade edilmiştir (Claus vd., 2015).

Toplam Flavonoid tayini

Örneklerin TFL miktarı alüminyum klorür yöntemi kullanarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Örneklerin absorban değerleri 510 nm'de okunarak TFL miktarları kuersetin (BLD Pharmatech Ltd., Çin) ekivalanı (mg kuersetin/g kuru örnek) cinsinden hesaplanmıştır (Gaafar ve Salama, 2013).

Antioksidan kapasite tayini

Örneklerin antioksidan kapasitesi 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal söndürücü kapasite yöntemi ile belirlenmiştir. DPPH (Sigma-Aldrich, Almanya) çözeltisi ile karıştırılan örnekler 30 dakika süre ile oda sıcaklığında karanlıkta bekletilerek 515 nm dalga boyunda absorbanları okunmuştur. Antioksidan kapasite trolox (Sigma-Aldrich, Almanya) cinsinden (mM Trolox/g kuru örnek) ifade edilmiştir (Brand-Williams vd., 1995).

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS 22.0 ve Design Expert 7.0 paket programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tahminlenen değerler ile deneysel veriler arasında fark olup olmadığını belirlemeye yönelik tek örnek t-testi ve örnekler arasındaki Pearson katsayılarının hesaplanması SPSS 22.0 paket programı kullanılarak, işlem değişkenlerinin TFM, TFL ve AK üzerine etkisini belirlemede uygulanan regresyon analizi, istatistiksel analizler, izohips grafikleri, yanıt yüzey grafikleri ve optimizasyon işlemleri Design Expert

7.0 (Stat-Ease Inc., ABD) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Deneysel tasarımda belirlenen tüm koşullar için uygulanan ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir. Elde edilen ekstraktların TFM değerleri 21.01-136.33 mg gallik asit/g kuru örnek, TFL değerleri 12.31-88.26 mg kuersetin/g kuru örnek ve AK değerleri 2.69-17.67 mM Trolox/g kuru örnek aralığında belirlenmiştir. Çemen otu tohumu ile yapılan ekstraksiyon çalışmaları incelendiğinde, metanol, etil asetat ve etanol gibi organik çözümler kullanılarak 78.1-85.9 mg gallik asit/g kuru örnek TFM içeren ekstraktlar elde edildiği görülmüştür (Belguith-Hadriche vd., 2013; Kenny vd., 2013). Ayrıca, literatürde çemen otu tohumunun TFL içeriğini yalnızca saf su kullanarak belirleyen bir çalışmada TFL değeri 17.49 mg kuersetin/g kuru örnek olarak tespit edilmiştir ve çemen otu tohumunda TFM içeriğinin yaklaşık %37'sinin TFL olduğu bildirilmiştir (Dixit vd., 2005). Farklı bir çalışmada, çemen otu tohumunun yetiştiği bölgenin iklim koşullarına bağlı olarak 100 mg/g kuru örnek düzeyine kadar flavonoid içerebileceği belirtilmiştir (Gupta ve Nair, 1999). Bu çalışmada ise 55°C ekstraksiyon sıcaklığı, 65 dakika ekstraksiyon süresi ve 20000 rpm karıştırma hızında 88.26 mg kuersetin/g kuru örnek düzeyinde TFL elde edilmiştir. Tüm koşullarda örneklerin TFL içeriği TFM içeriğinin ortalama olarak yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır.

Elde edilen sonuçlara göre, 80°C'de yapılan ekstraksiyon işlemlerinde TFM, TFL ve AK değerlerinin, 30 ve 55°C'de gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerine kıyasla daha düşük olduğu bulgulanmıştır (Çizelge 1). Bu durumun yüksek sıcaklığın bazı flavonoidler üzerine olumsuz etkisinden ileri geldiği düşünülmektedir. Benzer şekilde Silva vd. (2007), *Inga edulis* yapraklarından fenolik madde ekstraksiyonu gerçekleştirdikleri çalışmada flavonoid veriminin olumsuz etkilenmediği en yüksek ekstraksiyon sıcaklığını 62.5°C olarak belirlemişlerdir.

Çizelge 1 incelendiğinde, genel olarak 10 dakikalık ekstraksiyon işleminin TFM, TFL ve AK değerlerinin en yüksek seviyede elde edilmesi için

yeterli olmadığı görülmektedir. Buna karşın, yüksek karıştırma hızında 10 dakikalık ekstraksiyon işlemi ile TFM, TFL ve AK değerlerinde artış olduğu gözlenmiştir. Yüksek karıştırma hızlarında sağlanan mekanik etki ile fenolik bileşenlerin hücre çeperinden çıkması daha kolay olabilmekte ve böylece daha yüksek TFM içeriğine sahip ekstraktlar elde edilebilmektedir. Çizelge 1'de en yüksek TFM, TFL ve AK değerlerinin en yüksek karıştırma hızında (20000 rpm), 30-55°C ekstraksiyon sıcaklıklarında ve 65 dakikalık ekstraksiyon süresinde elde edildiği görülmektedir. Ekstraktların fenolik madde içeriğine etki eden parametrelerden ekstraksiyon süresi, optimizasyon işlemleri için büyük önem taşır. Elde edilen sonuçlara göre, 30 ve 55°C'de gerçekleşen 120 dakikalık ekstraksiyon işleminin 65 dakikalık ekstraksiyon işlemine oranla TFM, TFL ve AK değerlerini düşürücü yönde etkisi olduğu tespit edilmiştir. Karıştırma hızının artması ile çözgen damlacıklarının boyutu küçülür ve katı faz ile çözgen arasındaki temas yüzeyi artış gösterir. Ayrıca, yüksek hızda mekanik karıştırma işlemi hücre yapısını bozan mekanik bir işlem olarak tanımlanır ve hücre içinde bulunan, mekanik etki olmaksızın çözüme geçmesi mümkün olmayan hücre bileşenlerinin (bazı fenolik maddeler vb.) geçişini kolaylaştırır (Zhu vd., 2016; Javaldi, 2020). Bu doğrultuda, çalışmada uygulanan 20000 rpm karıştırma hızında en yüksek TFM, TFL ve AK değerleri elde edilmiştir. Yapılan çalışmada, TFM-TFL ve TFM-AK değerleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmektedir ve korelasyon katsayıları sırasıyla 0.997 ve 0.995 olarak hesaplanmıştır ($P < 0.05$).

Gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda işlem değişkenlerinin TFM, TFL ve AK değerleri üzerine etkisi varyans analizi (ANOVA) çizelgesi ile verilmiştir (Çizelge 2). Her üç analiz için oluşturulan kuadratik modeller istatistiksel olarak %99 seviyesinde anlamlıdır ($P < 0.01$) ve model uygunsuzluğu %95 güven seviyesinde istatistiksel olarak anlamsızdır ($P > 0.05$) (Çizelge 2). Oluşturulan modellerin deneysel verileri yüksek doğruluk ile açıklayabilmesi için gereken kriterlerden biri, model uygunsuzluğu verilerinin istatistiksel olarak önemsiz bulunmasıdır (Myers

ve Montgomery, 1995) ve yapılan çalışmada model uygunsuzluğu verilerinin istatistiksel olarak önemsiz olması ($P > 0.05$), TFM, TFL ve AK için oluşturulan ikinci dereceden polinomial modellerin başarısını ortaya koymaktadır.

Sonuçlara göre, TFM, TFL ve AK için oluşturulan modellerde her bir işlem değişkeninin doğrusal ve kuadratik etkileri %99 seviyesinde anlamlıdır ($P < 0.01$) (Çizelge 2). Buna karşın ekstraksiyon sıcaklığı-karıştırma hızı interaksiyonunun TFM, TFL ve AK modelleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir etkisi bulunmamaktadır ($P > 0.05$) (Çizelge 2).

Model uygunsuzluğu değerlerine ek olarak, modelin deneysel verileri ne ölçüde karşıladığı R^2 , düzeltilmiş R^2 (Düz- R^2), yeterli tahminleme, tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı (PRESS) ve varyasyon katsayısı C.V. (%) ile belirlenmiştir (Çizelge 3). Oluşturulan modellerin tümü için varyasyonun oldukça önemli bir kısmı model tarafından açıklanabilmektedir ($R^2 > 0.99$). Buna karşın modele eklenebilecek yeni terimlerin her zaman R^2 değerini artırma eğiliminde olması nedeniyle, model uygunluğunun ifadesinde Düz- R^2 değerlerinin kullanılması önerilir (Myers ve Montgomery, 1995). Sonuçlara göre, TFM, TFL ve AK için oluşturulan modellerde R^2 ve Düz- R^2 değerleri birbirine oldukça yakın olarak belirlenmiştir (Çizelge 3) ve bu durum modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir.

Ekstraksiyon işlemleri için oluşturulan ve optimizasyon çalışmasında regresyon analizi ile elde edilen ikinci dereceden polinomial modeller TFM için Eşitlik (2), TFL için Eşitlik (3) ve AK için Eşitlik (4) ile verilmiştir (20000 rpm karıştırma hızı için). Ek olarak, en yüksek değerlerin sağlandığı 20000 rpm karıştırma hızı sabit tutularak ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresi parametrelerinin TFM, TFL ve AK üzerine etkisini gösteren 3D Yanıt Yüzey Grafikleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Ayrıca, deneysel veriler ile modellerden tahminlenen veriler arasındaki ilişki Şekil 2'de verilmiştir.

$$\text{TFM (mg gallik asit/g kuru örnek)} = +18.94+4.08X_1+0.86X_2+3.98\times 10^{-3}X_1X_2-0.05X_1^2-7.47\times 10^{-3}X_2^2 \quad (2)$$

$$\text{TFL (mg kuersetin/g kuru örnek)} = +10.69+2.67X_1+0.55X_2+2.72\times 10^{-3}X_1X_2-0.03X_1^2-4.85\times 10^{-3}X_2^2 \quad (3)$$

$$\text{AK (mM Trolox/g kuru örnek)} = +2.75+0.52X_1+0.11X_2+5.18\times 10^{-4}X_1X_2-6.30\times 10^{-3}X_1^2-9.97\times 10^{-4}X_2^2 \quad (4)$$

Çizelge 1. Deneysel tasarım ve elde edilen toplam fenolik madde, toplam flavonoid ve antioksidan kapasite değerleri

Table 1. Experimental design and obtained total phenolic compounds, total flavonoid and antioxidant capacity values

Deneme No.	Ekstraksiyon	Ekstraksiyon	Karıştırma Hızı (rpm) (X ₃) <i>Agitation Rate</i> (rpm) (X ₃)	TFM	TFL	AK
	Sıcaklığı (°C) (X ₁) <i>Extraction</i> <i>Temperature</i> (°C) (X ₁)	Süresi (dak) (X ₂) <i>Extraction</i> <i>Time</i> (min) (X ₂)		(mg gallik asit/g kuru örnek) <i>TPC</i> (mg gallik acid/g dry sample)	(mg kuersetin/g kuru örnek) <i>TFL</i> (mg queretin/g dry sample)	(mM Trolox/g kuru örnek) <i>AC</i> (mM Trolox/g dry sample)
	1	55 (0)		65 (0)	20000	134.88
2	30 (-1)	65 (0)	20000	130.05	83.31	16.91
3	55 (0)	65 (0)	11200	126.92	81.16	16.45
4	30 (-1)	120 (+1)	3600	96.04	61.90	12.56
5	55 (0)	65 (0)	3600	115.94	74.29	15.01
6	55 (0)	65 (0)	11200	128.61	82.44	16.70
7	55 (0)	65 (0)	20000	133.07	85.35	17.32
8	30 (-1)	10 (-1)	3600	81.93	52.29	10.67
9	55 (0)	10 (-1)	3600	80.00	51.30	10.36
10	55 (0)	65 (0)	11200	125.23	80.28	16.24
11	80 (+1)	65 (0)	11200	66.24	42.52	8.88
12	30 (-1)	120 (+1)	11200	103.15	66.26	13.38
13	80 (+1)	120 (+1)	20000	63.95	40.89	8.26
14	55 (0)	10 (-1)	11200	92.06	58.99	11.69
15	80 (+1)	65 (0)	3600	60.58	37.80	7.86
16	55 (0)	65 (0)	3600	114.73	73.53	14.86
17	55 (0)	65 (0)	3600	116.06	74.64	15.17
18	80 (+1)	10 (-1)	20000	40.55	25.93	5.50
19	55 (0)	120 (+1)	20000	116.66	74.81	15.12
20	55 (0)	65 (0)	3600	110.51	70.97	14.55
21	30 (-1)	10 (-1)	20000	105.45	67.31	13.89
22	55 (0)	65 (0)	20000	136.33	87.44	17.57
23	55 (0)	120 (+1)	11200	112.20	71.56	14.55
24	80 (+1)	120 (+1)	11200	65.88	42.63	8.47
25	80 (+1)	120 (+1)	3600	56.96	36.23	7.45
26	30 (-1)	65 (0)	11200	122.69	78.66	15.94
27	30 (-1)	65 (0)	3600	105.69	67.66	13.89
28	55 (0)	10 (-1)	20000	102.43	65.10	13.33
29	30 (-1)	120 (+1)	20000	104.00	65.27	13.53
30	80 (+1)	10 (-1)	3600	21.01	12.31	2.49
31	55 (0)	65 (0)	20000	135.36	86.51	17.67
32	80 (+1)	10 (-1)	11200	32.83	19.59	4.12
33	80 (+1)	65 (0)	20000	73.72	47.58	9.70
34	55 (0)	65 (0)	11200	125.11	80.92	16.45
35	30 (-1)	10 (-1)	11200	89.04	56.77	11.38
36	55 (0)	120 (+1)	3600	104.72	67.71	13.63
37	55 (0)	65 (0)	11200	124.38	79.18	16.19
38	55 (0)	65 (0)	3600	113.05	72.72	14.66
39	55 (0)	65 (0)	20000	135.12	88.26	17.47

TFM: Toplam Fenolik Madde, TFL: Toplam Flavonoid, AK: Antioksidan Kapasite

TPC: Total Phenolic Compounds, TFL: Total Flavonoid, AC: Antioxidant Capacity

Çizelge 2. Lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerinin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Table 2. ANOVA table representing the effect of linear, quadratic and interaction terms

Varyasyon Kaynağı Source	SD DF	Kareler Toplamı Sum of Squares			F Değeri F Value			P - Değeri P - Value		
		TFM	TFL	AK	TFM	TFL	AK	TFM	TFL	AK
		TPC	TFL	AC	TPC	TFL	AC	TPC	TFL	AC
Model Model	11	35245.9	14823.6	599.4	567.4	492.9	747.9	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
X ₁	1	11567.5	4800.0	196.2	2048.3	1755.6	2692.9	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
X ₂	1	1765.7	769.2	30.8	312.7	281.3	422.0	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
X ₃	2	2133.0	878.2	36.3	188.9	160.6	249.1	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
X ₁ X ₂	1	358.8	167.8	6.1	63.5	61.4	83.4	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
X ₁ X ₃	2	23.0	3.3	0.3	2.0	0.6	1.9	0.1507	0.5582	0.1657
X ₂ X ₃	2	139.7	70.7	3.4	12.4	12.9	23.3	0.0002	0.0001	< 0.0001
X ₁ ²	1	7846.3	3315.3	128.5	1389.4	1212.5	1764.1	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
X ₂ ²	1	4228.5	1785.2	75.5	748.8	652.9	1035.8	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Kalıntı Residual	27	152.5	73.8	2.0						
Model Model										
Uygunsuzluğu Lack of Fit	15	113.6	54.3	1.5	2.3	2.22	2.4	0.0723	0.0849	0.0641
Saf Hata Pure Error	12	38.9	19.5	0.5						
Toplam Total	38	35398.4	14897.5	601.3						

X₁: Ekstraksiyon sıcaklığı (°C), X₂: Ekstraksiyon süresi (dak), X₃: Karıştırma hızı (rpm), TFM: Toplam fenolik madde, TFL: Toplam Flavonoid, AK: Antioksidan kapasite, SD: Serbestlik derecesi

X₁: Extraction temperature (°C), X₂: Extraction time (min), X₃: Agitation rate (rpm), TPC: Total phenolic compounds, TFL: Total flavonoid, AC: Antioxidant capacity, DF: Degrees of freedom

Çizelge 3. Ekstraksiyon modeli için elde edilen istatistiksel parametreler

Table 3. Statistical parameters for the extraction model

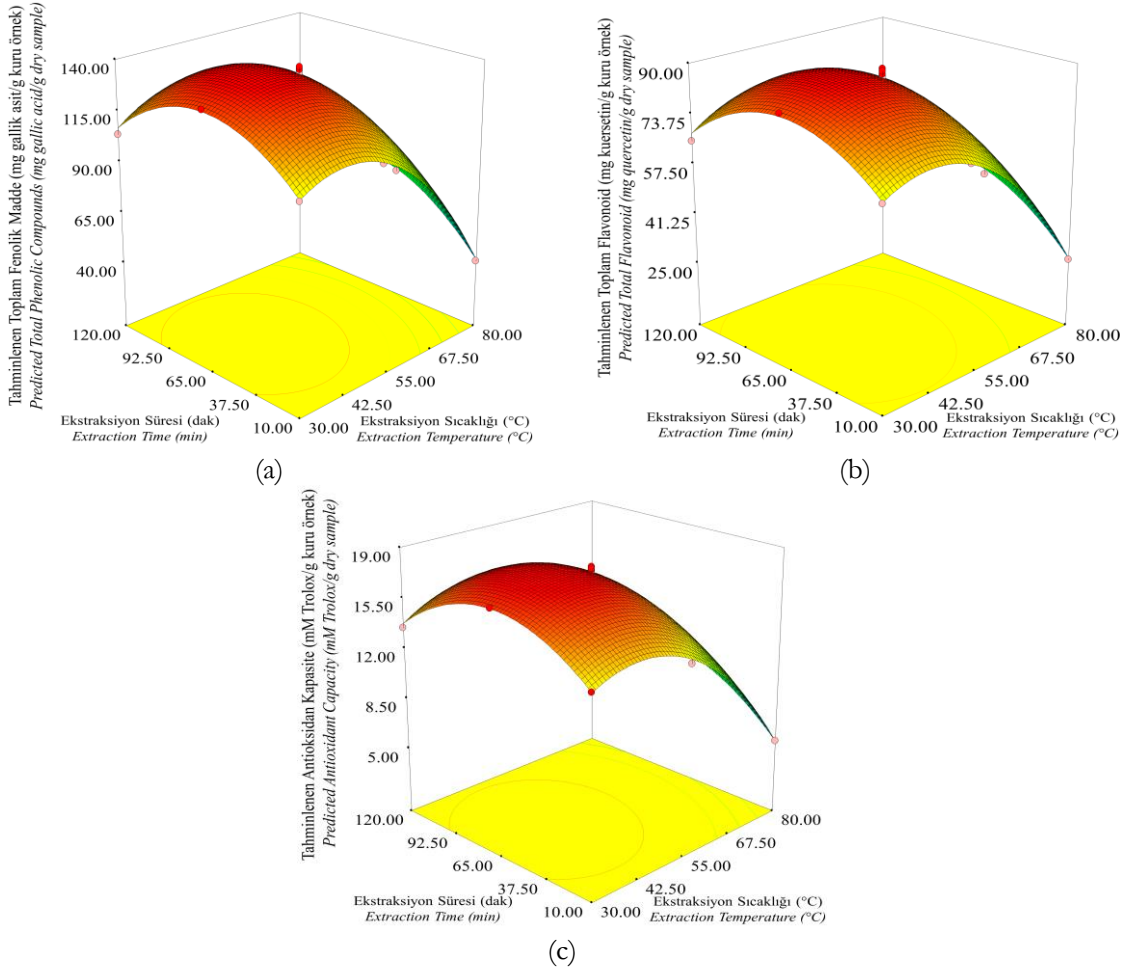
Parametre Parameter	TFM TPC	TFL TFL	AK AC
R ²	0.9957	0.9950	0.9967
Düz-R ² Adj- R ²	0.9939	0.9930	0.9954
Yeterli Tahminleme Adequate Precision	86.108	80.930	99.744
PRESS	397.55	189.54	5.11
C.V. (%)	2.37	2.58	2.07

TFM: Toplam fenolik madde, TFL: Toplam Flavonoid, AK: Antioksidan kapasite, Düz-R²: Düzeltilmiş R², PRESS: Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı, C.V. (%): Varyasyon katsayısı

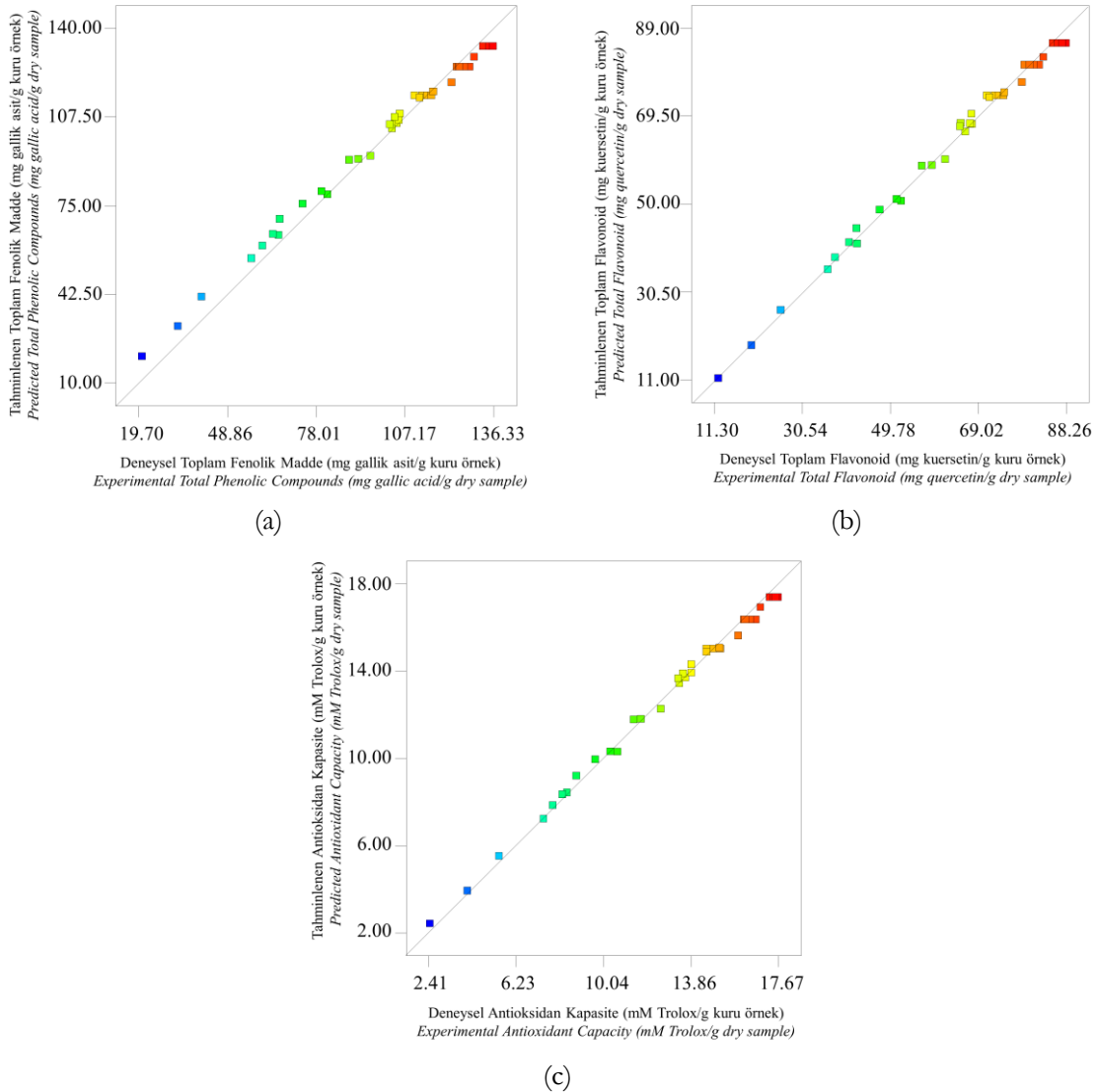
TPC: Total phenolic compounds, TFL: Total flavonoid, AC: Antioxidant capacity, Adj- R²: Adjusted R², PRESS: Predicted residual error sum of squares, C.V. (%): Coefficient of Variation

Şekil 1’de ekstraksiyon sıcaklığının artması ile birlikte TFM, TFL ve AK değerlerinin azaldığı görülmektedir. TFM içeriğinin azalmasına paralel olarak TFL ve AK değerleri de azalmıştır. Böylelikle TFL ve AK üzerine sıcaklığın etkisi, TFM için elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermiştir. Bu doğrultuda TFM, TFL ve AK için en yüksek değerlerin elde edildiği noktalar

birbirine oldukça yakındır. Şekil 2’de ise TFM, TFL ve AK için elde edilen deneysel veriler ile oluşturulan polinomiyal modellerden tahminlenen veriler kıyaslanmış ve verilerin 45° doğrusu üzerinde toplandığı görülmüştür. Bu durum, oluşturulan üç farklı modelin de uygunluğunu desteklemektedir.



Şekil 1. 20000 rpm karıştırma hızında ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresinin etkisini gösteren 3D Yanıt Yüzey Grafikleri: (a) toplam fenolik madde (b) toplam flavonoid (c) antioksidan kapasite
Figure 1. 3D Response Surface Graphs showing the effects of temperature and time at 20000 rpm of agitation rate: (a) total phenolic compounds, (b) total flavonoid, (c) antioxidant capacity



Şekil 2. Deneysel veriler ile tahminlenen veriler arasındaki ilişki: (a) toplam fenolik madde (b) toplam flavonoid (c) antioksidan kapasite
 Figure 2. The relationship between experimental and estimated values: (a) total phenolic compounds, (b) total flavonoid, (c) antioxidant capacity

3D Yanıt Yüzey Grafiğinde gösterildiği gibi, yanıt olarak seçilen TFM, TFL ve AK değerlerinin tümünün en yüksek oranda sağlanabileceği koşul için nümerik optimizasyon çalışması yapılmıştır. Design Expert 7.0 paket programı kullanılarak 'desirability' fonksiyonu yaklaşımına göre optimum noktayı veren ve birbirine yakın 11 adet çözüm belirlenmiştir. Elde edilen bu çözümlerden 45°C ekstraksiyon sıcaklığı, 65 dakika ekstraksiyon süresi ve 20000 rpm karıştırma hızı

ekstraksiyon işlemi için optimum işlem koşulları olarak belirlenmiştir. Bu noktada TFM, TFL ve AK değerleri sırası ile 139.04 mg gallik asit/g kuru örnek, 89.09 mg kuersetin/g kuru örnek ve 18.11 mM Trolox/g kuru örnek olarak tahminlenmiştir. TFM, TFL ve AK için üç tekrarlı gerçekleştirilen optimum nokta doğrulama denemelerine göre değerler sırası ile 137.37 ± 1.87 mg gallik asit/g kuru örnek, 86.96 ± 1.44 mg kuersetin/g kuru örnek ve 18.11 ± 0.55 mM Trolox/g kuru örnek

olarak tespit edilmiştir. Tahminlenen ve deneysel veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı ise tek örnek t-testi ile tespit edilmiş, değerler arasında istatistiksel bir fark bulunmadığı görülmüştür ($P > 0.05$).

Bu çalışma ile çemen otu tohumundan mekanik karıştırma işlemi ile fenolik ekstraktlar elde edilmiş, işlem koşullarının (ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızı) ekstraksiyona etkisi belirlenerek bu parametrelerin en yüksek TFM, TFL ve AK değerlerinin elde edildiği noktada optimizasyonu sağlanmıştır. Sonuçlara göre seçilen işlem değişkenleri ekstraktların TFM, TFL ve AK değerlerini önemli oranda etkilemişlerdir. Çemen otu tohumundan elde edilen ekstraktların yüksek fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi ile gıda endüstrisi için önemli bir doğal antioksidan kaynağı olabileceği düşünülmektedir. Çözgen olarak yalnızca saf su kullanılarak üretilen ve karmaşık sistemler gerektirmeyen bu ekstraktların üretimi ve optimizasyonu, ilerleyen zamanlarda ürünün model gıdalarda kullanılmasına fayda sağlayabilecektir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu makale ile ilgili çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

Sedanur DAŞTAN ve İzzet TÜRKER analizlerin gerçekleştirilmesi, sonuçların istatistiksel analizi ve makalenin yazım aşamalarında; Hilal İŞLEROĞLU fikir, tasarım, yöntem, danışmanlık ve makalenin yazım aşamalarında katkı sağlamıştır. Makalenin son hali tüm yazarlar tarafından okunarak onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje No: 2020/125) tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Abdelgani, M.E., Elsheikh, E.A.E, Mukhtar, N.O. (1999). The effect of rhizobium inoculation and chemical fertilization on seed quality of

fenugreek. *Food Chem*, 64(3): 289-293, doi: 10.1016/S0308-8146(98)00098-3.

Al-Juhaimi, F., Adiamo, O.Q., Ghafoor, K., Babiker, E.E. (2016). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed. *CyTA-J Food*, 14(3): 369-374, doi: 10.1080/19476337.2015.1110202.

Atak, E., Uslu, M.E. (2018). Fenolik bileşikler, ekstraksiyon metotları ve analiz yöntemleri. *MCBÜ Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimleri Dergisi*, 27(3): 40-48.

Ballard, T.S., Mallıkarjunan, P., Zhou, K., O'Keefe, S.F. (2009). Optimizing the extraction of phenolic antioxidants from peanut skins using response surface methodology. *J Agric Food Chem*, 57(8): 3064-3072, doi: 10.1021/jf8030925.

Baytop, T. (1984). Türkiye'de bitkiler ile tedavi. *İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları* No: 3255, İstanbul.

Belguith-Hadriche, O., Bouaziz, M., Jamoussi, K., Simmonds, M. S., El Feki, A., Makni-Ayedi, F. (2013). Comparative study on hypocholesterolemic and antioxidant activities of various extracts of fenugreek seeds. *Food Chem*, 138(2-3): 1448-1453, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.003.

Benmeziane, F., Djamai, R., Cadot, Y., Seridi, R. (2014). Optimization of extraction parameters of phenolic compounds from Algerian fresh table grapes, (*Vitis Vinifera*). *Int Food Res J*, 21(3): 1025-1029.

Birman, H. (2012). Bioactivities of plant flavonoids and the possible action mechanisms. *J Ist Faculty Med*, 75(3): 46-49.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C.L.W.T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol*, 28(1): 25-30, doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

Claus, T., Maruyama, S.A., Palombini, S.V., Montanher, P.F., Bonafé, E.G., Junior, O.D.O.S., Matsushita, M., Visentainer, J.V. (2015). Chemical characterization and use of artichoke parts for protection from oxidative stress in canola oil.

- LWT-Food Sci Technol*, 61(2): 346-351, 10.1016/j.lwt.2014.12.050.
- Dixit, P., Ghaskadbi, S., Mohan, H., Devasagayam, T.P. (2005). Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. *Phytother Res*, 19(11): 977-983, doi: 10.1002/ptr.1769.
- Dorta, E., Lobo, M. G., Gonzalez, M. (2012). Reutilization of mango byproducts: study of the effect of extraction solvent and temperature on their antioxidant properties. *J Food Sci*, 77(1): C80-C88, doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02477.x.
- Gaafar, A.A., Salama, Z.A. (2013). Phenolic compounds from artichoke (*Cynara scolymus* L.) by-products and their antimicrobial activities. *J Biol Agric Healthcare*, 3(12): 1-6.
- Goli, A.H., Barzegar, M., Sahari, M.A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chem*, 92(3): 521-525, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.08.020.
- Gökçe, Z., Efe, L. (2016). Çemen (*Trigonella foenum-graecum* L.) bitkisinin kullanım alanları ve tıbbi önemi. *Neşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5: 355-363, doi: 10.17100/nevbittek.210988.
- Gupta, R., Nair, S. (1999). Antioxidant flavonoids in common Indian diet. *South Asian Journal of Preventive Cardiology*, 3: 83-94.
- Hakkinen, S. (2000). Flavonols and fenolic acids in berries and berry products. Doctoral Thesis. Kuopio University Publications D. Medical Sciences. 90 p.
- Ignat, I., Volf, I., Popa, V.I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem*, 126(4): 1821-1835, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.026.
- Kenny, O., Smyth, T. J., Hewage, C. M., Brunton, N. P. (2013). Antioxidant properties and quantitative UPLC-MS analysis of phenolic compounds from extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and bitter melon (*Momordica charantia*) fruit. *Food Chem*, 141(4): 4295-4302, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.07.016.
- Khorshidian, N., Yousefi Asli, M., Arab, M., Adeli Mirzaie, A., Mortazavian, A. M. (2016). Fenugreek: potential applications as a functional food and nutraceutical. *Nutr Food Sci Res*, 3(1): 5-16.
- Mokrani, A., Madani, K. (2016). Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Sep Purif Technol*, 162: 68-76, doi: 10.1016/j.seppur.2016.01.043.
- Myers, R.H., Montgomery, D.C. (eds.) (1995). *Response Surface Methodology, Process and Product Optimization Using Designed Experiments*, 2nd ed. John Wiley and Sons, New York, USA, 700 p.
- Silva, E.M., Rogez, H., Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* Leaves using response surface methodology. *Sep Purif Technol*, 55(3): 381-387, doi: 10.1016/j.seppur.2007.01.008.
- Srinivasan, K. (2006). Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A review of health beneficial physiological effects. *Food Rev Int*, 22(2): 203-224, doi: 10.1080/87559120600586315.
- Sun, Y., Xu, W., Zhang, W., Hu, Q., Zeng, X. (2011). Optimizing the extraction of phenolic antioxidants from kudingcha made from *Ilex kudingcha* C.J. Tseng by using response surface methodology. *Sep Purif Technol*, 78(3): 311-320, doi: 10.1016/j.seppur.2011.01.038.
- Tenderis, B. (2010). Üzüm çekirdeğinden fenolik madde ekstraksiyonu (Yüksek Lisans Tezi), Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, 1-62.
- Yadav, R., Chowdhury, P. (2017). Screening the Antioxidant activity of *Trigonella Foenum graecum* seeds. *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, 2(1): 65-70.
- Yang, B., Lu, X., Gao, Y. (2009). Extraction optimization of bioactive compounds (crocin, geniposide and total phenolic compounds) from gardenia (*gardenia jasminoides* ellis) fruits with response surface methodology. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 10(4): 610-615, doi: 10.1016/j.ifset.2009.03.003.
- Yim, H.S., Chye, F.Y., Koo, S.M., Matanjun, P., How, S.E., Ho, C.W. (2011). Optimization of

extraction time and temperature for antioxidant activity of edible wild mushroom, *Pleurotus porrigens*. *Food Bioprod Process*, 90(2): 235-242, doi: 10.1016/j.fbp.2011.04.001.

Zuorro, A., Maffei, G., Lavecchia, R. (2016). Reuse potantial of artichoke (*Cynara scolymus* L.)

waste for the recovery of phenolic compounds and bioenergy. *J Clean Prod*, 111, Part A: 279-284, doi: 10.1016/j.jclepro.2015.06.01.



CHIA TOHUMUNUN KİMYASAL, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİ

E. Bilge Sur¹, Şeniz Karabıyıklı Çiçek^{2*}

¹Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Zara Ahmet Çuhadaroğlu MYO, Gıda İşleme Bölümü Sivas, Türkiye

²Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tokat, Türkiye

Geliş / Received: 19.03.2021; Kabul / Accepted: 07.06.2021; Online baskı / Published online: 07.07.2021

Sur, E.B., Karabıyıklı-Çiçek, Ş. (2021). Chia tohumunun kimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri. *GIDA* (2021) 46 (4) 971-979 doi: 10.15237/gida. GD21055.

Sur, E.B., Karabıyıklı-Çiçek, Ş. (2021). *Chemical, antioxidant and antimicrobial properties of chia seed. GIDA* (2021) 46 (4) 971-979 doi: 10.15237/gida. GD21055.

ÖZ

Salvia hispanica L. olarak bilinen chia tohumu, *Lamiaceae* ailesine ait oval şeklinde, beyaz, gri ve çoğunlukla siyah renkte, küçük tohumlu tek yıllık otsu bir bitkidir. Zengin besin ögesi içeriği ve sağlık üzerine etkisi nedeniyle popüler bir fonksiyonel gıda olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda chia tohum yağının sahip olduğu esansiyel yağların chia ve eklendiği ürüne antimikrobiyel etki kazandırdığı görülmüştür. Bu antimikrobiyel etkinin genel olarak Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler gibi mikroorganizmalar üzerinde inhibitif ve bakteriyostatik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmalarda chiada bulunan flavonoidlerin ve tokoferolün tohumun antioksidan kapasitesinden sorumlu temel yapılar olduğu da tespit edilmiştir. Chia tohumlarının ve ekstraktının antioksidan kapasitesi üzerine yapılmış olan çalışmalarda lipit peroksidasyonunu engellediği, oksidatif strese karşı hücreyi koruduğu bulunmuştur. Bu derleme çalışmasında günümüzde kullanım alanı giderek genişleyen chia tohumunun antimikrobiyel ve antioksidan özelliklerinin derlenmesi ile fonksiyonel gıda üretimine katkısının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Chia (*Salvia hispanica*) tohumu, antimikrobiyel etki, antioksidan etki, fonksiyonel gıda

CHEMICAL, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF CHIA SEED

ABSTRACT

Chia seed, known as *Salvia hispanica* L., is an oval-shaped, one-year herbaceous plant belonging to the *Lamiaceae* family with small seeds of white, gray or black (mostly) color. It is used as a popular functional food for its health effects associated with its rich nutrient content. Studies have shown that the essential oils of chia seed oil have an antimicrobial effect on chia and the product it is added to. It has been determined that this antimicrobial effect generally exerts an inhibitory and bacteriostatic effect on microorganisms such as Gram-positive and Gram-negative bacteria. In addition, studies have found that the flavonoids and tocopherol found in Chia are the basic structures responsible for the antioxidant capacity of the seed. Studies on the antioxidant capacity of chia seeds and extract have been found to inhibit lipid peroxidation and protect the cell against oxidative stress. In this review study, it was aimed to compile the antimicrobial and antioxidant properties of chia seeds, whose area of use is gradually expanding, and to evaluate its contribution to functional food production.

Keywords: Chia (*Salvia hispanica*) seed, antimicrobial effect, antioxidant effect, functional food

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: seniz.karabiyikli@gop.edu.tr,

☎: (+90) 356 252 1616-2884

☎: (+90) 356 252 1729

E. Bilge Sur; ORCID no: 0000-0003-0500-8303

Şeniz Karabıyıklı Çiçek; ORCID no: 0000-0001-9287-9400

GİRİŞ

Salvia hispanica olarak bilinen chia, kökeni kuzey Guatamala ve güney Meksika'ya dayanan tek yıllık bir bitkidir. *Lamiaceae* ailesine ait Chia bitkisi *Salvia* olarak bilinmektedir. Bu cinsin en sık kullanılan türü *Salvia hispanica'dır* (Marcinek ve Krejpcio, 2017).

Salvia türleri genellikle Akdeniz iklim kuşağında yetiştirilebilen adaptasyon sınırları geniş, çok yıllık, keskin kokulu ve birçoğu uzun gün bitkisi olma özelliğine sahipken, *Salvia hispanica L.* tek yıllık, nötr kokulu, adaptasyon sınırları dar ve çevresel koşullara toleransı sınırlı, kısa gün bitkisidir (Orozco vd., 2014). Tropik ya da ılıman iklimlerde yetişen tek yıllık ve hermafrodit bir bitki olup, çok düşük sıcaklıklara duyarlı olduğu için de tohumun gelişim süreci için en ideal sıcaklık 16-26 °C'dir (Bochicchio vd., 2015). Tohum olgunlaşması sonbahar sonu gerçekleştiğinden ve sıcaklık değişimlerinden çok fazla etkilendiğinden ülkemizde kültürünün yapılması zorlaşmaktadır. Chia tohumunun ticari olarak üretimi Bolivia ve Paraguay'da yapılırsa da son yıllarda yaygın olarak Meksika, Avustralya ve Arjantin gibi ülkelerde de ekimi yapılmaktadır (Sosa vd., 2016). Üretim miktarı yetiştirildiği bölgeye göre farklılık göstermekle birlikte Dünyadaki yıllık üretim miktarı 150000 ton civarında değişen chia, tohum olarak ekmekte, kahvaltılık gevreklerde, hazır yemeklerde, süt ürünlerinde ve chia tohumu olarak; yağı çıkartılarak katı ve sıvı yağ olarak tüketimde ve gıda takviyelerinde; kısmen yağdan arındırılmış yüksek proteinli chia olarak fermente süt ürünlerinde, meyve sularında, aromalı içeceklerde, gıda takviyelerinde; diyet lifi olarak da meyve ve sebze sularında, gıda takviyelerinde kullanılmaktadır (Anonim, 2021).

Salvia türlerinin büyük bir kısmı dünyada yüksek antioksidan kapasitesi nedeniyle bitkisel tedaviler için kullanılırken, bazı bölgelerde kuru yaprakları çay ve baharat olarak kullanılmaktadır (Arslan ve ark. 2015). Chia tohumları gıda sanayinde; çeşitli tahıl unlarına karıştırılarak ekmek yapımında, yoğunlaştırıcı olarak yemeklerde, salatalarda, sütlü tatlılarda ve şekerlemelerde kullanılmaktadır (Lu ve Foo, 2002). Ülkemizde ise kullanımı

çoğunlukla tohum şeklinde olup, ihracatı yıllara göre değişiklik göstermekle birlikte yıllık ortalama 1200 ton civarında ihracatı yapılmaktadır (Özgüven vd., 2005).

“Süper besin” olarak adlandırılan ve günümüzde popülaritesi gittikçe artmakta olan Chia bitkisinin (*Salvia hispanica*) iklim değişiklikleri, toprak koşulları, ekim alanı, hasat yılı gibi faktörler bileşenlerinde değişikliğe neden olmakla birlikte protein, yağ, karbonhidrat, diyet posası, niasin, A vitamini, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve fosfor içeriği açısından yüksek; sodyum, demir çinko ve C vitamini içeriği açısından ise düşüktür. Chia tohumunun antimikrobiyel ve antioksidan kapasitesinden sorumlu ve temel bileşenlerinden olan esansiyel yağ asitlerinin %55-60'ını α -linolenik yağ asidi (omega-3) ve %18-20'sini linoleik yağ asidi (omega-6) oluşturmaktadır (Yurt ve Gezer, 2018).

Chia tohumunun kimyasal kompozisyonu ve besin bileşenleri

Chia tohumu birçok tohum çeşidine göre daha fazla miktarda yağ, protein, diyet posası ve α -linolenik (omega-3) yağ asidi içermektedir (Scapin vd., 2016). Chia tohumunun bileşenlerinde farklılığa sebep olabilecek birçok etken olmakla birlikte genel olarak kompozisyonu Çizelge1'deki gibidir.

Chia tohumunun protein içeriği %15-23 aralığında olup, esansiyel tüm amino asitleri yeterli miktarlarda içermektedir (Brandão vd. 2019). Ayrıca globülin (%52), albümin (%17.3), gliadin (%14.5) ve prolamin (%12.7) proteinlerini, bunun yanı sıra prolin, lösin, izolösin ve fenilalanin gibi hidrofobik özellikteki amino asitleri de bünyesinde bulundurmaktadır (Kulczyński vd., 2019).

Chia tohumunda bulunan yağ oranı %25-40 arasında değişmektedir. Bunun %68'i omega-3 çoklu doymamış yağ asidi, %19'u omega-6 çoklu doymamış yağ asidi, %6'sı tekli doymamış yağ asidi ve %16.4'ü doymuş yağ asidi formundadır (Timilsena vd., 2017; Villanueva-Bermejo vd., 2019). Chia tohumundaki önemli yağ asitlerinden omega-3 çoklu doymamış yağ asidi α -linolenik asit

(ALA), omega-6 çoklu doymamış yağ asidi linoleik asit (LA) formundadır (Bodoira vd., 2017). Bununla beraber %5-10 oranında oleik asit, %6-7 oranında palmitik asit ve %1-3 oranında stearik asit içermektedir (Segura-Campos vd., 2014; da Silva Marineli vd., 2014; Ding vd., 2018). Yapılan çalışmalar çoklu doymamış yağ asitlerinin sıcaklığın artmasıyla azaldığını, protein içeriğinin ise yükseltinin artmasıyla azaldığını göstermiştir. Ayrıca düşük rakımda yetiştirilen chia tohumu yağlarının yüksek rakımdakilere göre daha fazla doymuş yağ asidi içeriğine sahip olduğu (Ayerza, 2010), erken hasatın chia tohumunda α -linolenik asit içeriğinde %23 oranında azalışa neden olduğu, linoleik asit ve lignin seviyelerinde ise artış sağladığı belirtilmiştir (Peiretti ve Gai, 2009).

Çizelge 1. Chia tohumunun kimyasal bileşimi (USDA, 2020)

Bileşen	Miktar (100g)
Enerji (kkal)	569
Karbonhidrat (g)	40.62
Protein (g)	15.62
Yağ (g)	31.25
Diyet lif (g)	34.4
Ca (mg)	625
Fe (mg)	7.5
Mg (mg)	335
P (mg)	860
K (mg)	406
Na (mg)	16
Zn (mg)	4.5
C vitamini (mg)	15
B ₁ vitamini (mg)	0.62
B ₂ vitamini (mg)	0.2
B ₃ vitamini (mg)	8.8
A vitamini (IU)	54
E vitamini (α -tokoferol)	0.5

Chia tohumu %35 oranında karbonhidrattan oluşmaktadır ve bu içeriğin %34'ü diyet lifidir (Lee, 2009). Diyet lifi tetrasakkarit yapıda 4-metil- α -D-glukoronopiranozil ve dallı yapıya sahip β -D-ksilopronozil polisakkaritlerinden oluşmaktadır. Monosakkarit yapısı ise D-ksiloz ve D-mannoz (%16), D-arabinoz (%2), D-glikoz (%6), D-galaktoüronik asit (%3) ve glukronik asit (%12) içermektedir (Capitani vd., 2012). Diyet lifi

içeriğinin, çözünmeyen fraksiyonu yaklaşık %85-93'ü temsil ederken, çözünür fraksiyonu %7 ile %15 arasındadır (da Luz vd., 2012). Çözünür liflerin postprandial glisemiyi düşürdüğü, ayrıca hem çözünür hem de çözünmez lifin, iştahı ve/veya sonraki gıda alımını azalttığı görülmüştür (Tamargo vd., 2018).

Chia tohumu, kendi ağırlığının 27 katı kadar su tutma özelliğine sahiptir. Tohumun su teması ile kabuktaki polisakkarit yapı suyu tutarak yapısında ksiloz, glikoz ve 4-metil glukuronik asit gibi bileşenler bulunduran ve tohum etrafında jelatin kapsül gibi bir yapı oluşturmaktadır (Orona-Tamayo vd., 2017). Oluşan bu jel yapı guar gum, aljinat ve jelatinle kıyaslandığında, bu jel yapının daha iyi su ve yağ tutma kapasitesine sahip olduğu, bunun yanında emülsiyon stabilizasyonu sağlama özelliğine de sahip olduğu belirtilmektedir (Campo vd., 2017). Chia tohumu sahip olduğu bu özelliklerinden dolayı gıdalarda emülsifyer, su tutucu ve stabilizatör olarak kullanılmaktadır (Goh, 2016).

Chia tohumu içeriğinde gallik asit, kafeik asit, klorojenik asit, rozmarinik asit, myristin, kersetin ve kamferol gibi fenolik bileşikler ayrıca tokoferol, karotenoid, vitaminler ve bazı peptitler gibi antioksidan bileşikler bulundurmaktadır (Alcántara vd., 2019). Bununla birlikte iyi bir B vitamini kaynağı olup, yüksek niasin içeriğine sahiptir (Beltrán-Orozco vd., 2003).

Chia tohumunun fonksiyonel besin bileşenlerini yüksek oranda içermesi chia tohumunun kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, kanser ve obezite gibi kronik hastalıklardan korunmaya önemli ölçüde yardımcı olduğunu göstermektedir (Meyer ve Groot, 2017; Zettel ve Hitmann, 2018).

Yapılan son çalışmalar, chia tohumunun diyet posası, mineral, protein ve yağ (özellikle alfa-linolenik asit) gibi sağlıklı bileşenleri içermesinden dolayı, tüketiminin postprandial kan şekeri düşürdüğünü ve sistolik kan basıncını azalttığını, doyumluk indeksini arttırdığını göstermiştir (Jin vd., 2012). Bu nedenle de kilo kaybı için kullanılabilir bir ek gıda olmaktadır (Vuksan vd., 2017a).

Omega-3 yağ asitlerince zengin bir kaynak olan chia tohumunun günlük beslenmeye eklenmesi ile kan kolesterol düzeyinin düzenlenmesi sağlanmaktadır (Alonso-Calderón vd., 2013). Ayrıca yapılan çalışmalarda chia yağının tümör büyümesini ve metastazı azalttığı da görülmüştür.

Chia tohumundaki diyet lifinin büyük bir kısmını oluşturan çözünür posa (53.45g/100g), suyu yapısında tutarak doygunluk hissini artırıp sindirimi yavaşlatmakta, yemek sonrası kan glikozunun yavaş yükselmesini sağlayarak insülin salınımını düşürmektedir (Vuksan vd., 2017b). Chia tohumu buğdayda bulunan bir protein olan gluten içermemektedir. Bundan dolayı da çölyak hastaları tarafından güvenle tüketilebilmektedir (Doğan, 2019).

Chia Tohumunun Antioksidan Özellikleri

Serbest radikaller küçük moleküller olup, atomik veya moleküler orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron bulunduran kimyasal türlerdir (Wang vd., 2021). Çoğunlukla polifenolik yapıda olup tüm meyvelerde, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hayvansal dokularda bulunmaktadır (Baykal vd., 2002). Antioksidanlar organizmayı nörolojik hastalıklardan, iltihaplanmalardan, immün yetmezlikten, kalp hastalıklarından ve kanserden korumaktadır (Grancieri vd., 2019).

Chia tohumu ve yağları, tokoferoller, fitosteroller, karotenoidler ve polifenolik bileşikler gibi çok sayıda doğal antioksidan içermektedir (Erdoğdu ve Geçgel, 2019). Polifenolik bileşikler, chia tohumlarının antioksidan aktivitesine katkıda bulunan en önemli komplekslerdir. Serbest radikalleri temizleme, iyonları şelatlama ve hidrojen bağışlama yeteneklerine sahip oldukları iyi bilinmektedir (de Falco vd., 2017).

İkincil metabolitler arasında yer alan fenolik maddeler, doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar (Akıcı, 2018). Gallik asit, kafeik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit, myristin, kuarsetin ve kampferol gibi fenolik bileşikler içeren chia tohumunun bileşimindeki en önemli antioksidan bileşik tokoferollerdir (238-427 mg/kg) (Rahman vd., 2017). Bileşimindeki

antioksidan bileşikler kanser ve kalp krizi riskini azaltmakta, alzheimer ve parkinson hastalığı gibi bazı rahatsızlıklara karşı koruma sağlamaktadır (Hrncic vd., 2020).

Chia tohumunun antioksidan kapasitesinden sorumlu temel yapıların flavonoidler ve tokoferol olduğu Pellegrini vd. (2003)'nin yapmış oldukları çalışmada bildirilmiştir ve yüksek antioksidan kapasitesi tohumun uzun süre saklanabilmesini sağlamaktadır.

Reyes-Caudillo vd. (2008)'nin chia tohum fenoliklerinin antioksidan aktivitelerini belirledikleri çalışmada, fenolik bileşikler etanol içinde hidroklorik asit ile ekstraksiyon ve etanolla ekstraksiyon olmak üzere iki ekstraksiyon yöntemi kullanmışlar ve ABTS radikal temizleme, β -Karoten linoleik asit model sistemi (β -CLAMS) ve fosfolipid lipozomların peroksidasyonu yöntemleri ile ekstraktların %0.020, %0.050, %0.075 ve %0.01 konsantrasyonlardaki antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Kullanılan yöntemlerde antioksidan aktivitelerin konsantrasyonun artmasıyla arttığı (0.29-1.09) tespit edilmiştir.

Burger üretiminde hayvansal yağ yerine chia yağı kullanımının denendiği bir çalışmada, chia ve keten tohumu karışımından iyonik jelasyon tekniği ile hazırlanan mikropartikül eklenen burgerlerin hem çiğ hem de pişmiş örneklerinde kontrol grubuna kıyasla, sağlık açısından daha uygun PUFA/SFA (0.62) ve n-6/n-3 (1.16) oranlarına sahip olduğunu ve daha yüksek lipit oksidasyonu direnci gösterdiği rapor edilmiştir (Heck vd., 2017).

Farklı oranlarda (%5; %10; %15 ve %20) chia yağı ilave edilen dondurmalarda 60 günlük depolama boyunca omega-3 yağ asitlerinin ve oksidatif stabilitesinin değişimleri incelenmiş, chia yağı ilave edilmiş dondurmalarda omega-3 yağ asidi içeriğinin arttığı, DPPH yöntemi ile dondurmaların peroksit değerlerinin ve chia yağı konstantrasyonun artmasıyla azaldığı ve izin verilen sınırların altında (10 meq O₂/kg) olduğu tespit edilmiştir. (Ullah vd., 2017).

Chia Tohumunun Antimikrobiyel Özellikleri

Chia tohumunun bileşenlerinde farklılık sözcüğü olmakla birlikte genellikle %25-40 oranında yağ elde edilmektedir. Chia tohumunun yağ içeriğinin %55-60'ını α -linolenik (omega-3) ve %18-20'sini linoleik (omega-6) esansiyel yağ asitleri oluşturmaktadır.

Esansiyel yağların antimikrobiyel aktiviteleri çalışmaların en çok araştırılan özelliği olmuştur. Bu yağların, etki dereceleri içerdikleri etken maddelerin çeşit ve miktarına bağlı olarak farklılık göstermektedir. Sinerjik, antagonistik ve aditif etkileşimlere sahip olan esansiyel yağların beraber kullanıldıklarında tek başına kullanıldıklarından daha iyi bir etki gösterdikleri yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Bayaz, 2014).

Esansiyel yağlar Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler dahil, birçok mikroorganizma üzerinde antimikrobiyel etki göstermektedir. Bu yağlar, bakteri membranını parçalayarak membranla ilgili materyallerin hücre dışına çıkmasını sağlarken, bazılarının sahip olduğu lipofilik özellikleri sayesinde bakteri duvarını delerek hücrenin daha iç kısımlarına ulaştıkları bildirilmiştir (Ertürk vd., 2020; Güzel ve Ülger, 2020).

Esansiyel yağların doğal maddeler olarak gıdalardaki mikroorganizmaların gelişimini sınırlayan etkinliklerinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışma sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Luo ve vd. (2019)'nin yapmış olduğu çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan chia müsilaj ve jelinin, 24 günlük süre sonunda *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde yaklaşık %50 ve %40 oranında inhibisyona sebep olduğu gözlenmiştir; bu etkinin chianın sahip olduğu esansiyel yağlardan kaynaklandığı rapor edilmiştir. Bu çalışma ile, uzun süreli antimikrobiyel özelliğe sahip uçucu yağ yüklü yenilebilir filmlerin gerçekleştirilmesine de kaynak olacağı öngörülmüştür.

Bütün ve öğütülmüş chia tohumlarının *Salmonella* ve *Clostridium* cinslerinin yanı sıra *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Proteus mirabilis* gibi patojenlere karşı da antimikrobiyel etki gösterdiği; öğütülmüş

tohumların en güçlü antimikrobiyel etkisinin probiyotik mikroorganizmalardan *Lactobacillus lactis* (11 mm), *Lactobacillus acidophilus* (8 mm), *Lactobacillus bulgaricus* (5 mm), *Lactobacillus paracasei* (5 mm), *Lactobacillus rhamnosus* (5 mm) ve *Streptococcus thermophilus*'a (5 mm) karşı olduğu tespit edilmiştir (Kobus-Cisowska vd., 2019).

Chia tohumu esansiyel yağlarının gıda kaynaklı patojen küflere karşı doğal fungistatik ve/veya fungisidal etkili bileşiklere sahip olduğu Elshafie vd. (2018)'nin yaptığı çalışmada görülmektedir. Bu çalışmada değişik konsantrasyonlarda chia tohumu esansiyel yağlarının *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium expansum*, *Monilinia laxa* üzerinde yüksek inhibisyon, *Penicillium digitatum*'da orta derecede inhibisyon, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* ve *Fusarium oxysporum*'da ise hafif bir inhibisyon yarattığı gözlenmiştir.

Divyapriya vd. (2016)'nin periodental hastalıklara neden olan *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bakterilerine karşı farklı konsantrasyondaki chia ekstraktının etkisini inceledikleri çalışmada, disk difüzyon testi sonucu üç bakteri türünde sırasıyla 15mm, 16mm, 17mm'lik zon oluşumu gözlenmiştir ve bu antibakteriyel etkinin kompozisyonundaki esansiyel yağlardan kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

Chia polifenolleri ayrıca ortamdaki konsantrasyonlarına bağlı olarak farklı antimikrobiyel aktivite sergilemektedir. Düşük konsantrasyonlarda polifenoller, hücre zarındaki lipitler ve proteinlerle reaksiyona girmektedir ve böylece hücre zarı yarı geçirgen özelliğini kaybettiği için iyonlar ve diğer bileşenler hücreden sızmaktadır. Bu bileşiklerle kısa süreli temasın bir sonucu olarak, mikroorganizmalar bunlara dirençli hale gelmektedir. Ancak polifenollere veya bunların solüsyonlarına daha yüksek konsantrasyonlarda uzun süre maruz kalma, enzimler dahil olmak üzere proteinleri denatüre edip ve bakteriyel hücrelerdeki metabolizmayı bozarak bakteri ölümlerine neden olmaktadır. (Kobus-Cisowska vd., 2019). Ayrıca chianın antibakteriyel ve antifungal özelliklerinin yanında

antiviral aktiviteleri de ilgi çekmiş ve çalışmalarda rapor edilmiştir.

SONUÇ

Chia tohumunun iyi bir protein, diyet lifi, fenolik ve doymamış yağ asidi kaynağı olduğu, ülkemizde ve dünyada gün geçtikçe popüleritesinin artmakta olduğu, sağlık üzerine birçok olumlu etkisinin olduğu ve bundan dolayı “süper besin” olarak isimlendirildiği yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Fonksiyonel gıda bileşenlerini yüksek oranda sağlaması, chia tohumunun kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, kanser ve obezite gibi kronik hastalıklardan korunmada önemli ölçüde etkisi olduğunu göstermektedir.

Chia tohumu sahip olduğu zengin besin içeriği sayesinde gıda sanayi tarafından emülsifiyer ve su tutucu ajan olarak son ürün özelliklerinin iyileştirilmesinde ve glutensiz ürün geliştirilmesinde kullanımı son yıllarda yaygınlaşmıştır. Bununla birlikte chia tohumu ve yağlarının, tokoferoller, fitosteroller, karotenoidler ve polifenolik bileşikler gibi çok sayıda doğal antioksidan içermesi sebebi ile serbest radikalleri temizleme, iyonları şelatlama ve hidrojen bağışlama gibi özelliklere sahip oldukları da iyi bilinmektedir. Sahip olduğu esansiyel yağların ve fenolik bileşiklerin antimikrobiyel aktiviteleri yine yapılan çalışmalarda da görülmektedir. Chia tohumunun sahip olduğu tüm bu özellikler kullanım alanının giderek arttığını ve chia ile ilgili çalışmalar üzerinde yoğunlaşılması gerektiğini göstermektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu çalışmada herhangi bir potansiyel çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Yazarlar çalışmaya eşit oranda katkı sağlamıştır.

KAYNAKÇA

Akıcı, N. (2018). Bazı *Salvia* Türlerinin Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.

Alcântara, M.A., Brito Polari, I.L., Albuquerque Meireles, B.R.L., Alcântara de Lima, A.E., Silva

Junior, J.C., Andrade Vieira, E., Albuquerque dos Santos, N., Magalhães Cordeiro, A.M.T. (2019). Effect of the solvent composition on the profile of phenolic compounds extracted from chia seeds. *Food Chem.*, 275: 489-496.

Alonso-Calderón, A., Chávez-Bravo, E., Rivera, A., Montalvo-Paquini, C., Arroyo-Tapia, R., Monterrosas-Santamaria, M., Tapia-Hernández, A. (2013). Characterization of black chia seed (*Salvia hispanica* L.) and oil and quantification of β -sitosterol. *Int J Biol Sci.*, 2(1): 70-72.

Arslan, N., Gürbüz, B., Gümüşçü, A. (2015). “Açıklamalı Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Rehberi.” Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, 1620/572, 271-274, Ankara,

Ayerza, R., 2010. Effects of seed color and growing locations on fatty acid content and composition of two chia (*Salvia hispanica* L.) genotypes. *J Am Oil Chem Soc.*, 87(10): 1161-1165.

Bayaz M. (2014) Paper Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyel, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri. *Akademik Gıda*, 12(3) 45-53.

Baykal, Y., Gök, F., Erikçi, S. (2002). Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar. *Sendrom Aylık Tıp Dergisi*, 14 (1):94-100.

Beltrán -Orozco, M. C., Romero, M. R. (2003). La Chia, Alimento Milenario, Departamento de Graduados e Investigacion en Alimentos. ENCB, IPN, Mexico.

Bochicchio, R., Philips, TD., Lovelli, S., Labella, R., Galgano, F., Di Marisco, A., Perniola M., Amato M., (2015). Innovative crop productions for healthy food: the case of Chia (*Salvia hispanica* L.). The Sustainability of Agro-Food and Natural Resource Systems in the Mediterranean Basin. Springer Open, 29-45. Bodoira, R.M., Penci, M.C., Ribotta, P.D., Martínez, M. L. (2017). Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants, *LWT-Food Sci Tech.*, 75: 107-113.

Brandão N. A., de Lima Dutra M. B., Ana Gaspardi L. A., Campos Maira R.S. (2019). Chia (*Salvia hispanica* L.) cookies: physicochemical/microbiological attributes,

- nutritional value and sensory analysis. *J Food Meas Charact.*, 13: 1100–1110.
- Capitani, M. I., Spotorno, V., Nolasco, S. M., Tomás, M. C. (2012). Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. *LWT-Food Sci Tech.*, 45(1): 94-102.
- Campo C., dos Santos P. P., Haas Costa T. M., Paese K., Guterres S. S., de Oliveira Rios A., Hickmann F. S. (2017). Nanoencapsulation of chia seed oil with chia mucilage (*Salvia hispanica* L.) as wall material: Characterization and stability evaluation. *Food Chem.*, 234:1-9.
- de Falco, B.; Amato, M.; Lanzotti, V. (2017). Chia seeds products: An overview. *Phytochem Rev.*, 16: 745–760.
- da Silva Marineli, R., Moraes, É. A., Lenquiste, S. A., Godoy, A. T., Eberlin, M. N., Maróstica Jr, M. R. (2014). Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). *LWT- Food Sci Tech.*, 59(2): 1304-1310.
- Ding, Y., Lin, H.-W., Lin, Y.-L., Yang, D.-J., Yu, Y.-S., Chen, J.-W., Wang, S.-Y., Chen, Y.-C. (2018). Nutritional composition in the chia seed and its processing properties on restructured ham-like products. *J Food Drug Anal.*, 26 (1): 124-134.
- Divyapriya G.K., Veeresh D.J., Yavagal P. C. (2016). Evaluation of Antibacterial Efficacy of Chia (*Salvia Hispanica*) Seeds Extract Against *Porphyromonas Gingivalis*, *Fusobacterium Nucleatum* and *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*-An In-Vitro Study. *Int J Ayu Phar Res.*, 4(4):22-26.
- Doğan H. (2019). *Salvia hispanica* L. Tohumlarının Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Açısından Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Elshafie H. S., Aliberti L., Amato M., De Feo V., Camele I. (2018). Chemical composition and antimicrobial activity of chia (*Salvia hispanica* L.) essential oil. *Eur Food Res Technol.*, 244:1675–1682
- Anonim, (2021). <https://www.cbi.eu/market-information/grains-pulses-oilseeds/chia-seeds/market-potential> (Erişim tarihi: 24.01.2021).
- Erdoğan M. ve Geçgel Ü., (2019). Chia Tohumu (*Salvia hispanica* L.) ve Yağının Fizikokimyasal Özellikleri ve Gıda Sektöründe Değerlendirilmesi, *Gıda ve Yem Bilimi- Teknolojisi Dergisi*, 21: 9-17.
- Ertürk Ö., Aydın G., Çol Ayvaz M. (2020). *Laurus nobilis* L., *Silybum marianum* L., *Nigella sativa* L. ve *Prunus cerasus* L.'den Soğuk Pres Yöntemi ile İzole Edilen Esansiyel Yağ Bileşenlerinin Antimikrobiyel ve Antioksidan Aktiviteleri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(2): 487–499.
- Grancieri M., Martino H. S. D., de Mejia E. G. (2019). Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) as a Source of Proteins and Bioactive Peptides with Health Benefits: A Review. *Compr Rev Food Sci F.*, 18.
- Goh K. K. T., Matia-Merino L., Chiang J. H., Quek R., Soh S. J. B., Lentle R. G. (2016). The physico-chemical properties of chia seed polysaccharide and its microgel dispersion rheology. *Carbohydr Polym.*, 149:297–307.
- Güzel S., Ülger M., Özay Y. (2020). Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds. *Int J Sec Met.*, 7 (3): 174–180.
- Heck R.T., Vendruscolo R.G, de Araújo Etchepare M., Cichoski A.J., de Menezes C.R., Barin J.S., Campagnol P.C.B. (2017). Is it possible to produce a low-fat burger with a healthy n-6/n-3 PUFA ratio without affecting the technological and sensory properties. *Meat Sci.*, 130:16-25.
- Hrncic M. K., Ivanovski M., Cör D., Knez Ž. (2020). *Chia Seeds (Salvia Hispanica L.): An Overview: Phytochemical Profile, Isolation Methods, and Application. Molecules*, 25: 11.
- Jin, F., Nieman, D. C., Sha, W., Xie, G., Qiu, Y., Jia, W. (2012). Supplementation of milled chia seeds increases plasma ALA and EPA in postmenopausal women. *Plant Food Hum Nutr.*, 67(2): 105-110.
- Kobus-Cisowska J., Szymanowska D., Maciejewska P., Kmiecik D., Gramza-Michałowska A., Kulczyński B., Cielecka-Piontek J. (2019). In vitro screening for acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase

- inhibition and antimicrobial activity of chia seeds (*Salvia hispanica*). *Electron J Biotechn.*, 37: 1–10.
- Kulczyński, B., Kobus-Cisowska, J., Taczanowski, M., Kmiecik, D., Gramza-Michałowska, A. (2019). The Chemical Composition and Nutritional Value of Chia Seeds-Current State of Knowledge. *Nutrients*, 11: 1242.
- Lee, A. (2009). The Effects of *Salvia hispanica* L. (*Salba*) on Postprandial Glycemia and Subjective Appetite. University of Toron, Nutritional Sciences, the degree of Master's of Science. Canada.
- Lu, Y., Foo, L.Y. (2002). Polyphenolics of *Salvia*—a review. *Phytochemistry*, 59: 117–140.
- Luo M., Cao Y., Wangb W., Chenc X., Caia J., Wang L., Xiao J. (2019). Sustained-release antimicrobial gelatin film: Effect of chia mucilage on physicochemical and antimicrobial properties. *Food Hydrocoll.*, 87: 783–791.
- Marcinek, K., Krejpcio, Z. (2017). Chia seeds (*Salvia hispanica* L.): health promoting properties and therapeutic applications-a review. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 68(2):123-129.
- Meyer, B., Groot, R. (2017). Effects of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation on cardiovascular mortality: The importance of the dose of DHA. *Nutrients*, 9(12):1305.
- Orona-Tamayo, D., Valverde, M. E., Paredes-Lopez O. (2017). Chia-The New Golden Seed for the 21st Century: Nutraceutical Properties and Technological Uses. In book: Sustainable Protein Sources: 265–281.
- Orozco, R.G., Duran, P.N., Gonzalez, E.D.R., Zaracúa, V.P., Ramirez, O.P. (2014). Proyecciones de cambio climático y potencial productivo para L. en las zonas agrícolas de México. *Rev Mex Sci Agric.*, 10: 1831-1842.
- Özgülven, M., S., Sekin, B., Gürbüz, N., Şekeroğlu, F., Ayanoğlu, S., Erken, (2005). "Tütün, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretimi ve Ticareti", VI. Türkiye Ziraat Mühendisleri Teknik Kongresi Bildiri Kitabı, 1: 481-501.
- Peiretti, P. G. and Gai, F. (2009). Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. *Anim Feed Sci and Tech.*, 148(2-4): 267-275.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr.*, 33:2812-2819.
- Rahman Md. J., Camargo A. C., Shahid F. (2017). Phenolic and polyphenolic profiles of chia seeds and their in vitro biological activities. *J Func Food.*, 35: 622–634.
- Reyes-Caudillo E., Tecante A., Valdivia-Lo'pez M. A. (2008). Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, *Food Chem.*, 107: 656–663.
- Scapin, G., Schmidt, M. M., Prestes, R. C., Rosa, C. S. (2016). Phenolics compounds, flavonoids and antioxidant activity of chia seed extracts (*Salvia hispanica*) obtained by different extraction conditions *Int Food Res J.*, 23(6): 2341-2346.
- Segura-Campos, M. R., Cia-Solís, N., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero, L., Betancur-Ancona, D. (2014). Physicochemical characterization of chia (*Salvia hispanica*) seed oil from Yucatán, México. *Agr Sci.*, 5(3): 220.
- Sosa, A., Ruiz, G., Rana, J., Gordillo, G., West, H., Sharma, M., Liu X., de la Torre R. R. R. (2016). Chia Crop (*Salvia hispanica* L.): its History and Importance as a Source of Polyunsaturated Fatty Acids Omega-3 Around the World: a Review. *J Crop Res Fert.*, 1: 1- 9.
- Tamargo A., Cueva C., Laguna L., Moreno-Arribas M.V., Muñoz L. A. (2018). Understanding the impact of chia seed mucilage on human gut microbiotaby using the dynamic gastrointestinal model simgi. *J Func Foods.*, 50: 10.
- Timilsena, Y. P., Vongsvivut, J., Adhikari, R., Adhikari, B. (2017). Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. *Food Chem.*, 228: 394-402.
- Ullah, R., Nadeem, M. and Imran, M. (2017). Omega-3 fatty acids and oxidative stability of ice

cream supplemented with olein fraction of chia (*Salvia hispanica* L.) oil. *Lipids Health Dis.*,16(1): 34.

USDA, 2020. United States Department of Agriculture Research Service Food Composition Database. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/1144211/nutrients> (Erişim tarihi: 24 Ocak 2021). Villanueva-Bermejo, D., Calvo, M.V., Castro-Gómez, P., Fornari, T., Fontecha, J. (2019). Production of omega 3-rich oils from underutilized chia seeds. Comparison between supercritical fluid and pressurized liquid extraction methods. *Food Res. Int.*, 115, 400–407.

Vuksan, V., Choleva, L., Jovanovski, E., Jenkins, A. L., Au-Yeung, F., Dias, A. G., Duvnjak, L. (2017a). Comparison of flax (*Linum usitatissimum*) and Salba-chia (*Salvia hispanica* L.) seeds on postprandial glycemia and satiety in healthy individuals: a randomized, controlled, crossover study. *Eur J Clin Nutr.*, 71(2): 234.

Vuksan, V., Jenkins, A. L., Brissette, C., Choleva, L., Jovanovski, E., Gibbs, A. L., Duvnjak, L. (2017b). Salba-chia (*Salvia hispanica* L.) in the treatment of overweight and obese patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.*, 27(2): 138-146.

Wang X., Wang W., Peng M., Zheng X. Z. (2021). Free radicals for cancer theranostics. *Biomaterials.*, 266: 120474.

Yurt, M., ve Gezer, C. (2018). Chia Tohumunun (*Salvia hispanica*) Fonksiyonel Özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri. Doğu Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Gazimağusa, KKTC. GIDA 43 (3): 446-460.

Zettel V., Hitzmann B. (2018) Applications of chia (*Salvia hispanica* L.) in food products. *Trends Food Sci Tech.*, 80: 43–50.



IMPACT OF CAROB EXTRACT SUPPLEMENTATION ON CHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES OF YOGURT AND ICE CREAM

Aslı Arslan Kulcan^{1*}, Ursula Tania Zoua Assoumou², Mine Aygün², Şirin Kuzu²,
Demet Yıldız², Necihan Kaya², Ahmet Hacıoğlu², Mustafa Karhan²

¹ Department of Gastronomy and Culinary Arts, Faculty of Art and Design, Antalya AKEV University, Antalya, Turkey

² Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Akdeniz University, Antalya, Turkey

Received /Geliş: 25.02.2021; Accepted /Kabul: 25.05.2021; Published online /Online baskı: 12.07.2021

Arslan Kulcan, A., Zoua Assoumou, U.T., Aygün, M., Kuzu, Ş., Yıldız, D., Kaya, N., Hacıoğlu, A., Karhan, M. 2021. Impact of carob extract supplementation on chemical and sensory properties of yogurt and ice cream. GIDA (2021) 46 (4) 980-991 doi: 10.15237/gida.GD21043

Arslan Kulcan, A., Zoua Assoumou, U.T., Aygün, M., Kuzu, Ş., Yıldız, D., Kaya, N., Hacıoğlu, A., Karhan, M. 2021. Keçiboynuzu ekstraktı takviyesinin yoğurdun ve dondurmanın kimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi. (2021) GIDA 46 (4) 980-991 doi: 10.15237/gida.GD21043

ABSTRACT

In this study, yogurt and ice cream were enriched with carob extract, for giving them functional properties. Three different types of ice cream were produced with three formulations in terms of carob extract concentration. In the first type only carob extract in proportions of 8, 10 and 12% was added to the mixture. The second and third types were different from the first by their aromas: respectively lemon and chocolate. The yogurt samples were produced based on a set type of yogurt procedure. According to analytical data, considerable increments in D-pinitol content, total phenolic compounds content and antioxidant activity values were observed in both of yogurt and ice cream samples with increasing carob extract added ($P < 0.05$). The ice cream samples supplemented at a ratio of 8% had higher points in all examined sensory attributes. With respect to the results obtained from the yogurt samples, the one supplemented at a ratio of 10% was scored significantly higher ($P < 0.05$) on appearance, aroma and taste.

Keywords: Carob; D-pinitol; yogurt; ice cream

KEÇİBOYNUZU EKSTRAKTI TAKVİYESİNİN YOĞURDUN VE DONDURMANIN KİMYASAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZ

Bu çalışmada yoğurt ve dondurma, bu ürünlere fonksiyonel özellikler kazandırmak için keçiboynuzu ekstraktı ile zenginleştirilmiştir. Keçiboynuzu ekstraktı konsantrasyonu açısından üç formülasyonla

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: asli.kulcan@akev.edu.tr

☎: (+90) 242 444 12 64

☎: (+90) 242 777 10 41

Aslı Arslan Kulcan; ORCID ID: 0000-0002-9524-9030

Ursula Tania Zoua Assoumou; ORCID ID: 0000-0003-2528-2537

Mine Aygün; ORCID no: 0000-0002-5813-3952

Şirin Kuzu; ORCID no: 0000-0002-7286-3687

Demet Yıldız; ORCID no: 0000-0003-4771-5479

Necihan Kaya; ORCID no: 0000-0003-1528-9719

Ahmet Hacıoğlu; ORCID no: 0000-0002-3189-7418

Mustafa Karhan; ORCID no: 0000-0001-8058-3709

üç farklı tipte dondurma üretilmiştir. Birinci tipte karışıma sadece %8, 10 ve 12 oranlarında keçiboynuzu ekstraktı ilave edilmiştir. İkinci ve üçüncü tipler aromalarıyla ilkinden farklı olup sırasıyla limonlu ve çikolatalıdır. Yoğurt örnekleri, set tipi yoğurt prosedürüne göre üretilmiştir. Analitik verilere göre; eklenen keçiboynuzu ekstraktındaki artışla hem yoğurt hem de dondurma örneklerinin D-pinitol miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerlerinde önemli artışlar gözlenmiştir ($P < 0.05$). Keçiboynuzu ekstraktı ile % 8 oranında takviye edilen dondurma örneklerinin incelenen tüm duyuşal özelliklerde daha yüksek puanlara sahip olduğu görülmüştür. Yoğurt örneklerinden elde edilen sonuçlara göre, % 10 oranında takviye edilenler görünüm, aroma ve tat açısından istatistiksel olarak daha yüksek ($P < 0.05$) puan almıştır.

Anahtar kelimeler: Keçiboynuzu; D-pinitol; yoğurt; dondurma

INTRODUCTION

Recent scientific researches showed that the demand for various health promoting values of food such as Carob tree (*Cerotonia siliqua* L.) also called locust bean increased. According to the Worldwide the current world production of carob extract is more than 3.000 tons per year (Bulca, 2016).

Carob fruit that grows in Mediterranean climates with high natural sugar content is rich in E and B group vitamins; calcium, magnesium, potassium, sodium, phosphorus, iron, zinc, manganese and copper minerals. Its pods represent approximately 90% of total fruit weight of Carob trees (Karkacier et al., 1995). Furthermore, its use in foods came from ancient times and has been propagated in many countries because of its high commercial value of LBG (Locust Bean Gum). Except for the richness on carbohydrates contain (45-70% of saccharose, glucose, fructose, xylose, maltose and raffinose) carob pod has a very high amount of D-pinitol, which has an important role in the regulation of various body functions taken with food diet (Oziyci et al., 2015; Turhan, 2014). Therefore, several in vivo and in vitro studies for the reduction of some diseases by the foods they contain functional compounds that there may be effective in preventing their formation was carried out. Due to the findings that these functional compounds may be nutritional supplements it develops a tendency to intake in daily diet. There as well as 5-7% D-pinitol especially since its potential influences' insulin analog can be exploited in the treatment of many diseases of insulin associated with the basic mechanisms of the human body (Bates et al., 2000).

This functional sugar alcohol begins to gradually gain importance in world trade and the importance of carob, containing high concentrations of these compounds has increased. Even the production of high-purity expensive methods such as chromatography basically the normal selling price based on these compounds is to find buyers in the more expensive fruit in that level. Thus, alternative methods and structure to incorporate this functional compound daily diet to investigate the possibility of using a source containing these compounds are naturally quite important. This aspect needs to be done when more scientific studies on the carob fruit show that it is an important agricultural resource (Tetik et al., 2011; Turhan, 2011; Nasar- Abbas et al., 2016; López-Sánchez et al., 2018; Christou et al., 2019).

In this study, different products such as yogurt and three different types of ice cream are enriched in various proportions with carob extract. It is aimed to impart functional properties to these products consumed frequently in the daily diet. Consequently, readily carob seeds using fruits of plants of commercially valuable products with high added value, is thought to growers to obtain help strengthen economically.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The carob extract (72 °Brix) was provided from a local factory (Yenigün Food Inc., Antalya, Turkey). The skim milk powder (Pınar Dairy, Turkey), milk cream (Pınar Dairy, Turkey), sugar (Doğuş Gıda A.Ş., Turkey) carboxymethyl cellulose (Tito, Turkey) as a stabilizer, lemon concentrate (42 °Bx, Dimes A.Ş., Turkey) and chocolate drops (bitter) (Dr. Oetker Gıda San. ve

Tic. A.Ş., Turkey) were all used for ice cream production. The pasteurized yogurt milk (16 % total solids, Sek Dairy, Turkey) and starter culture (Peyma-Chr. Hansen, Denmark) were used for yogurt production.

Production methods

Three different concentrations (8, 10, 12 %) were determined by preliminary experiments carob extracts substituted for production of ice cream and yogurt samples.

The plain ice cream mixture was formulated such as that it had non-fat total milk solid of 11 %, sugar content of 18 %, fat content of 3.5 % and stabilizer content of 0.8 %. Three different types of ice cream were produced (plain, fruit, chocolate) with three formulations in terms of carob extract concentration. In first type (PI) only carob extract in proportion of 8, 10 and 12% was added to the plain ice cream mix. The second (fruit ice cream, FI) and third types (chocolate ice cream, CI) were produced like first type (with carob extract 8, 10 and 12%) by adding lemon concentrate and chocolate drops in ratio of 10 % to the plain ice cream formulation, respectively. The ingredients were stirred until all of them completely dissolved. Then the mixture was pasteurized at a temperature of 75°C for 10 minutes. Samples were kept 24 hours at a temperature of 4°C for cooling and ripening process and after that transferred to a household ice cream maker (Tefal Gelato, China) for production. Ice cream samples have been kept in the freezer at -18°C (Figure 1).

The yogurt samples were produced on the basis of set type yogurt procedure. Because the pH of the carob extract was around 5.4, the extract (8, 10, 12%) was added to milk during the heat treatment since it did not cause the increasing of acidity of the milk. The process flow chart was shown in Figure 2 for yogurt production.

Physicochemical analyses

Descriptive analyses (total dry matter, pH and titratable acidity) were obtained according to Cemeroglu (2007).

Total phenolic content (TPC) of the samples was highlighted according to the spectrophotometric Folin-Ciocalteu's method (Folin-Ciocalteu reagent and sodium carbonate were purchased from Merck (Darmstadt, Germany)). Gallic acid (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany) was used as a standard. Results were expressed as gallic acid equivalents (GAE) (mg GAE/L) and absorbance was measured by the help of a UV-visible spectrophotometer (Shimadzu UV-160A, Japan) at λ_{max} 765 nm (Spanos and Wrolstad, 1992).

The D-Pinitol content of samples, according to the external standard method were carry out by HPLC (Shimadzu, LC 20A Series). Mobile phase: Milli-Q water (isocratic), 0.6 mL / min, analytical and protective column: Nucleogel 87P (300x7.8 mm ID, 20x4.0 mm ID) and injection volume: 20 μ L, Column furnace temperature: 85°C, Detector: RID, cell temperature: 60°C (Tetik et al., 2011).

For the antioxidant assay, performed according to the method of Fernández-León et al. (2013); 50 μ L of diluted samples were pipetted into 0.95 mL of diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) solution (60 μ M) and kept at room temperature for 30 minutes in a dark place. The absorbances of samples were read, spectrophotometrically at 515 nm. Trolox (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) was used as the standard of the measurement. The antioxidant activity of samples expressed as mg Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) / kg were calculated using the curve obtained with trolox standards prepared at different concentrations.

The fortified products with carob extract were subjected to sensory analysis at their specific consumption forms and temperatures. The sensorial properties of products were evaluated according to a 5-point hedonic scale by trained panelists (10) from Akdeniz University, Department of Food Engineering. In this analysis, appearance-color, consistency (texture), aroma, flavor (1=dislike, 2=do not like, 3=neither like nor dislike, 4=like, 5=like very much) and purchasing preference (1= I would not buy, 3= I would buy) criteria are discussed for fortified ice cream and yogurt samples.

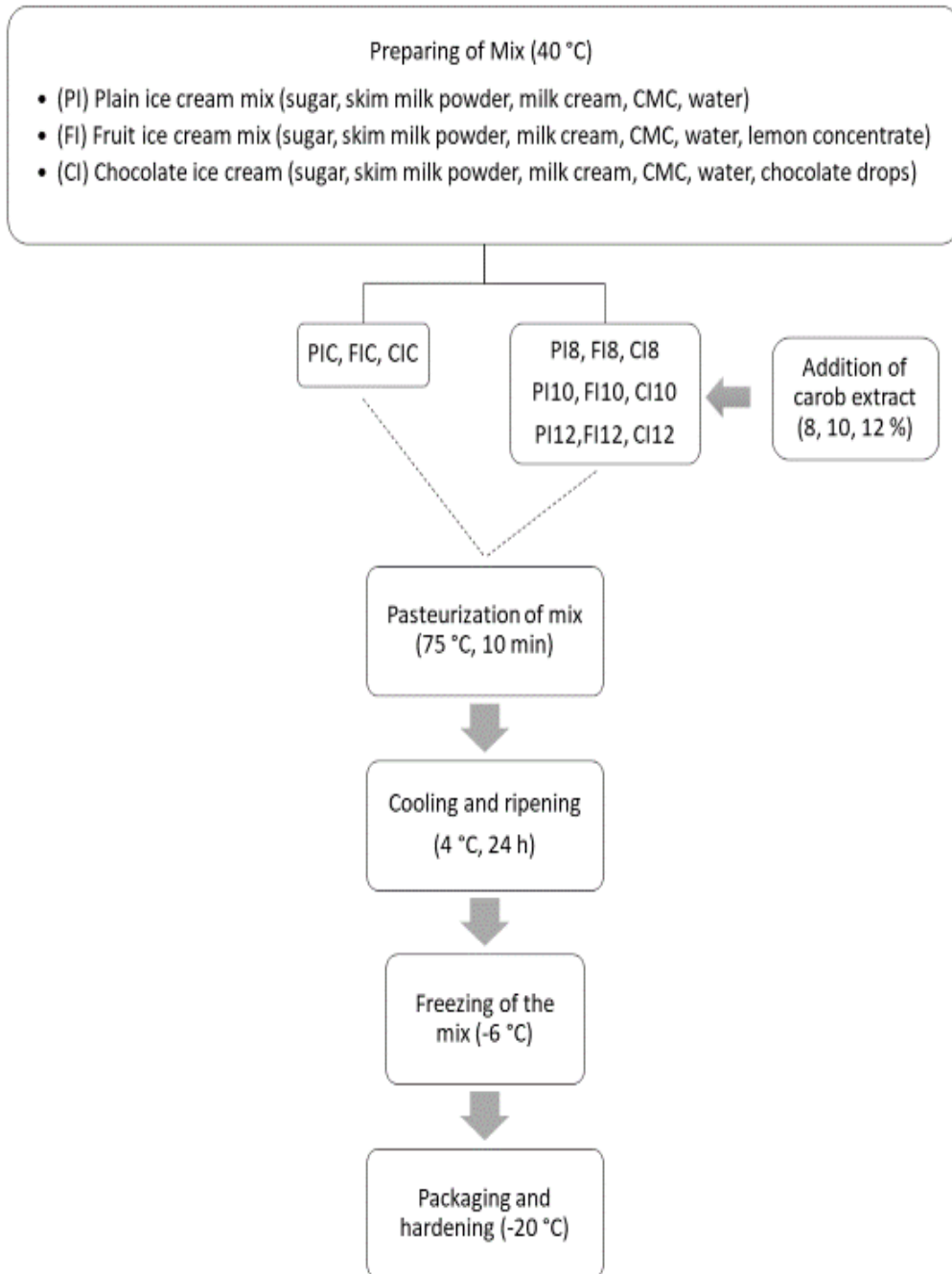


Figure 1. Flow diagram of ice cream production (control of fruit ice cream (FI), chocolate ice cream (CI) and plain ice cream (PI) were entitled as FIC, CIC and PIC, respectively)

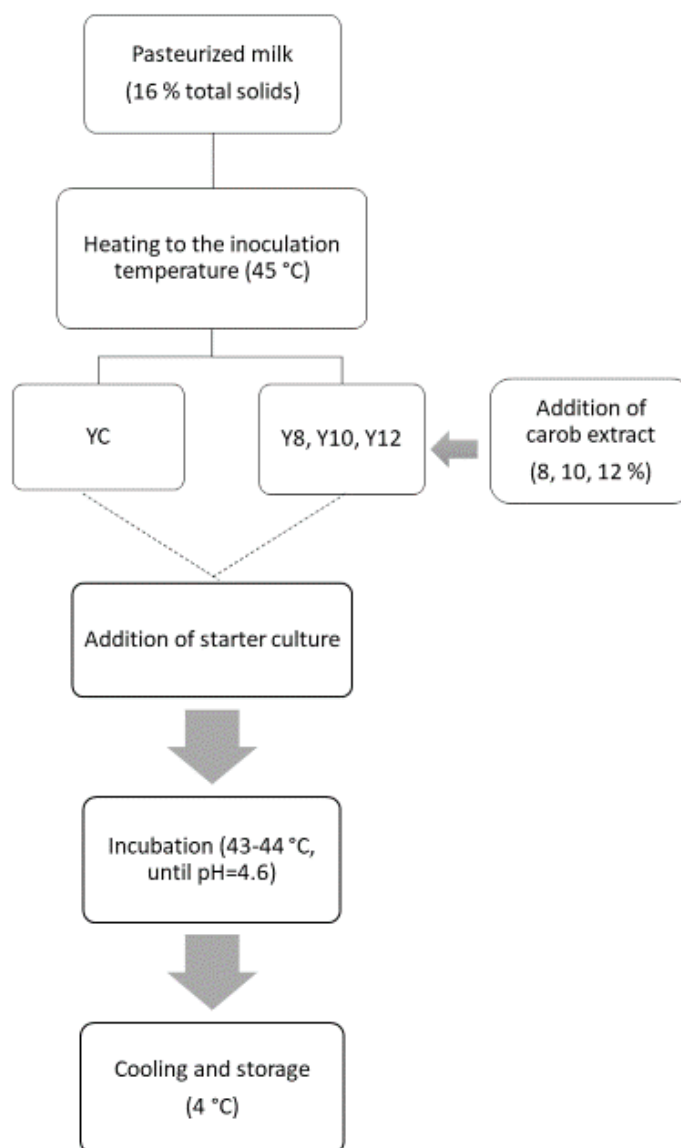


Figure 2. Flow diagram of yogurt production (control of yogurt were entitled as YC)

Statistical analysis

The obtained data were analyzed statistically by using SAS software, Version 7 (SAS Institute Inc., Cary, NC). All experiments were conducted in duplicate. The values of all parameters ($n = 4$) were presented as mean \pm standard deviation and the analysis of variance (ANOVA) test was used to evaluate the means of different treatments at a significance level of 0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

Physicochemical properties of yogurt and ice cream samples

It was observed that, total dry matter content of yogurt samples increased significantly ($P < 0.05$), with increasing amount of carob extract added. Considering the fermentation process was terminated at the same pH value (4.6) in all samples, there was no statistical difference among yogurt samples in terms of titratable acidity

content and pH value. In the study of Karaca et al. (2011), yogurt samples produced by adding various concentrations (6%, 10%, 14%) of grape, mulberry and carob molasses had pH values ranged between 4.23 and 4.50. In another study conducted by Atasoy (2009), yogurt was produced by adding carob juice concentrate in different proportions (2.5%, 5%, 7.5%, 10%). It has been stated that the pH value of yogurts varies between 4.54 and 4.92. Nasser (2020) produced yogurt by adding 0%, 5%, 10% and 20% carob extract. He determined that the pH values of the yogurts

produced varied between 4.32-4.54 after 7 days of storage. He also reported that their total acidity varied between 1.16% and 1.43%.

As a result of the analyzes performed in the yogurt samples, on the HPLC device: D-pinitol was not detected in yogurt controls since the carob was not added. At the moment of 8%, 10% and 12% of carob extract was added in the yogurt, the amount of D-pinitol increased, significantly ($P < 0.05$) (Table 1).

Table 1. Chemical properties of yogurt samples produced with different levels of carob extract.

Level of carob extract (%) (w/w)	Total solids (%)	pH	Titrateable acidity (%)	D-pinitol (g/kg)	TPC (mg GAE/kg)	Antioxidant activity (mg TEAC/kg)
0 (YC)	13.13 ± 0.04 ^D	4.64 ± 0.05 ^A	0.78 ± 0.04 ^A	ND*	643.46 ± 1.22 ^D	30.56 ± 3.56 ^D
8 (Y8)	18.22 ± 0.03 ^C	4.64 ± 0.05 ^A	0.77 ± 0.04 ^A	7.76 ± 0.19 ^A	1057.02 ± 25.54 ^C	1428.95 ± 65.79 ^C
10 (Y10)	19.63 ± 0.01 ^B	4.50 ± 0.02 ^A	0.78 ± 0.02 ^A	8.42 ± 0.14 ^B	1216.37 ± 0.01 ^B	1830.27 ± 19.74 ^B
12 (Y12)	20.715 ± 0.01 ^A	4.57 ± 0.02 ^A	0.75 ± 0.02 ^A	10.09 ± 0.29 ^C	1246.78 ± 8.51 ^A	2576.98 ± 16.44 ^A

Means with different superscripts letters in the same column differ significantly ($P < 0.05$).

*ND: Not detected.

Otherwise, the amount of phenolic substances and antioxidants was very low in the yogurt samples which were not added to the carob extract; as the proportion of carob extract in the yogurt increases, the amount of phenolic compounds (TPC) and antioxidant activity increased, significantly ($P < 0.05$). Likewise, Açıkgözoglu (2008) reported that the TPCs of yogurts prepared with addition of 15% (w/w) pomegranate juice concentrate and 15% (w/w) cherry juice concentrate were 70.51 mg GAE/150 g and 63.35 mg GAE/150 g, respectively. In another study, the effects of olive leaf extract (0, 0.1, 0.2 and 0.4%, v/w) on low-fat apricot yogurt were investigated. According to the results, the added olive leaf extract has influenced significantly ($P < 0.05$) total dry matter and pH value of low-fat apricot yogurt. The lowest phenolic content and antioxidant activity were found in control sample (Peker and Arslan, 2017). Furthermore, in their study Cervenka et al. (2019), prepared muffins by replacing wheat flour by carob powder (5, 10, 15 and 20% (w/w)) and

determined some physicochemical properties. TPC of fortified muffins significantly increased from 348.1 to 829.1 µg GAE/g DM with the increase of amount of carob powder from 5% to 20% (w/w) ($P < 0.05$) while in control they found 193.2 µg GAE/g DM. Additionally, researchers observed that control muffin sample did not exhibit antioxidant capacity in terms of DPPH assay. TEAC values of fortified muffin samples with %5, 15% and 20% (w/w) were determined as 222.9, 1099.5 and 1228.3 µg Trolox/g DM, respectively. Babiker et al. (2020) obtained cookies enriched with carob flour. They reported that the antioxidant activity values of the cookie samples varied between 2.32% (0.0% carob) and 76.75% (50% carob). It was also stated that the total phenolic substance content varied between 36.59 mg GAE/100 g (0.0% carob) and 123.61 mgGAE/100 g (100% carob). Srouf et al. (2016) obtained a carob-based milk beverage using 6 different carob powders (roasted and unroasted). It was stated that the total phenolic contents of the beverages produced with roasted and

unroasted carob powder varied between 8-16 g GAE/kg and 5-14 g GAE/kg, respectively. In addition, antioxidant activities were reported to vary between 6.9-10.8 mmol Trolox equivalent/kg and 3.5-12.2 mmol Trolox equivalent/kg, respectively.

Total solids content, pH value, titratable acidity content, D-pinitol content, TPC and antioxidant activity of ice cream samples supplemented with carob extract were shown, in Table 2.

Table 2. Chemical properties of ice cream samples produced with different levels of carob extract.

Sample	Level of carob extract (%) (w/w)	Total solids (%)	pH	Titratable acidity (%)	D-pinitol (g/kg)	TPC (mg GAE/kg)	Antioxidant activity (mg TEAC/kg)
Plain ice cream	0 (PIC)	29.815 ± 0.01 ^D	6.78 ± 0.04 ^A	0.09 ± 0.00 ^C	ND*	641.03 ± 13.38 ^D	15.37 ± 0.00 ^D
	8 (PI8)	31.47 ± 0.01 ^C	6.57 ± 0.07 ^B	0.18 ± 0.02 ^B	8.78 ± 0.18 ^A	868.49 ± 19.46 ^C	1550.65 ± 23.03 ^C
	10 (PI10)	32.11 ± 0.04 ^B	6.48 ± 0.04 ^B	0.19 ± 0.01 ^B	9.54 ± 0.28 ^B	1318.54 ± 14.60 ^B	1708.55 ± 49.34 ^B
	12 (PI12)	33.44 ± 0.07 ^A	6.47 ± 0.01 ^B	0.23 ± 0.01 ^A	10.87 ± 0.11 ^C	1864.69 ± 8.51 ^A	1932.24 ± 29.61 ^A
Lemon ice cream	0 (FIC)	33.12 ± 0.01 ^C	3.59 ± 0.01 ^C	1.61 ± 0.01 ^B	ND	645.89 ± 8.51 ^D	111.87 ± 4.34 ^D
	8 (FI8)	32.75 ± 0.04 ^D	3.70 ± 0.02 ^B	1.65 ± 0.01 ^B	8.25 ± 0.01 ^A	1077.7 ± 0.01 ^C	1682.24 ± 9.87 ^C
	10 (FI10)	34.41 ± 0.04 ^B	3.75 ± 0.04 ^B	1.72 ± 0.02 ^A	9.15 ± 0.25 ^B	1201.77 ± 2.43 ^B	1981.58 ± 13.16 ^B
	12 (FI12)	35.31 ± 0.05 ^A	3.90 ± 0.02 ^A	1.62 ± 0.03 ^B	10.31 ± 0.27 ^C	1526.54 ± 37.71 ^A	2123.03 ± 3.29 ^A
Chocolate ice cream	0 (CIC)	35.70 ± 0.03 ^A	7.24 ± 0.00 ^A	0.08 ± 0.01 ^C	ND	583.86 ± 19.46 ^D	783.58 ± 16.84 ^D
	8 (CI8)	34.12 ± 0.06 ^A	6.93 ± 0.01 ^B	0.15 ± 0.01 ^B	8.16 ± 0.19 ^A	863.62 ± 7.30 ^C	1353.29 ± 9.87 ^C
	10 (CI10)	35.53 ± 0.6 ^A	6.75 ± 0.00 ^C	0.24 ± 0.01 ^A	9.19 ± 0.20 ^B	1001.07 ± 3.65 ^B	1889.47 ± 6.58 ^B
	12 (CI12)	36.54 ± 2.45 ^A	6.75 ± 0.02 ^C	0.22 ± 0.00 ^A	10.11 ± 0.29 ^C	1125.14 ± 6.08 ^A	2567.11 ± 26.32 ^A

Means with different superscripts letters in the same column differ significantly ($P < 0.05$).

*ND: Not detected.

The total amount of dry matter increased by 8%, 10% and 12% in ice cream samples generally. Since the pH value of the carob extract is higher than the pH value of the lemon concentrate, only the pH value of FI samples are increased by increasing amount of carob extract. While in the samples CI and PI, increase in acidity and decrease in pH value were observed as the amount of carob extract increased. In a similar study, Guler-Akin (2016) investigated some physicochemical properties of probiotic yogurt ice cream supplemented with carob extract and whey powder. It was observed that in samples of carob extract and whey powder supplemented, the pH decreased, and the acidity increased while the dry matter content (%) increased slightly as the carob extract and whey powder was added. Ice creams containing carob molasses were produced by Badem (2006) using different stabilizers. It was

stated that the pH values of the ice creams produced varied between 6.30-6.37. Ice cream containing different proportions of carob pod powder was produced by El-Kholy (2015). It has been reported that the pH values of ice creams varied between 6.22-6.46.

D-pinitol could not be detected in the control samples of FI, CI and PI, whereas the amount of D-pinitol were significantly higher than in control for all kinds of fortified ice creams without regard of carob concentrate proportion. A considerable increment in D-pinitol content was observed in samples with increasing carob extract added ($P < 0.05$).

The TPC and antioxidant activity value were found to be the lowest in PIC. Due to the presence of cacao; CIC had the highest

antioxidants among all the control samples. As can be seen from the results, enrichment with increasing amount of carob extract, increased the amount of phenolic substances and antioxidants, significantly ($P < 0.05$) for each kind of ice cream examined in this study. In the same spirit, Sanguigni et al. (2017) produced an ice cream based on a mixture of dark cocoa powder with hazelnut and green tea extract, naturally very rich in antioxidants. The TPC in the latter was 1817 mg GAE/L compared to only 96 mg GAE/L in control ice cream.

Sensory analysis of yogurt and ice cream samples

According to the results of sensory evaluation yogurt sample supplemented in ratio of 10% (Y10) was scored higher in sensorial attributes such as appearance-color, aroma and flavor except for consistency. The increment of carob extract in yogurt showed a negative influence on consistency. As can be seen from the Figure 3, that the consistency (texture) of Y8 was more preferred than others. However, Y10 and Y12 were found to be close to each other in terms of appearance and color.

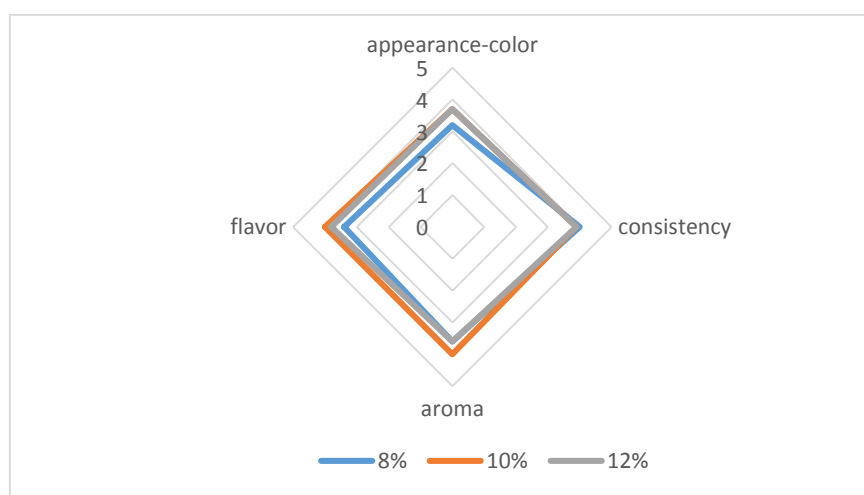


Figure 3. Results of sensory analysis of yogurt samples added by 8%, 10% and 12% of carob extract.

For the flavor analysis the Y10 was more popular because it was close to fruity yogurt flavor. Although, 8%, 10% and 12% of the carob extract was added to the yogurt samples, the aroma of the yogurt sample with 10% of carob extract was more appreciated contrary to 8% and 12%. Atasoy (2009) obtained yogurt using different proportions of carob juice concentrate. He reported that, in general, yogurts containing 7.5% -10% carob juice concentrate were mostly preferred by panelists. He also stated that yogurts containing 2.5% -5% carob juice concentrate were short of sweetness. Nasser (2020) reported that yogurts containing carob extract in different proportions (0%, 5%, 10% and 20%) generally have high acceptability in terms of sensory properties in all storage period.

Results of sensorial assessment of ice cream samples are shown in Figure 4. As understood from Figure 4a, in terms of appearance-color FI8 was found more appreciated ($P < 0.05$) whereas the FI10 and FI12 had not too much differences. However, the aroma and the consistency of FI8 and FI10 were more popular ($P < 0.05$).

As shown in Figure 4b, CI8 was better than CI10 and CI12 in terms of appearance-color and consistency ($P < 0.05$). Otherwise, the aroma characteristic of the chocolate ice cream sample with low carob extract was more preferred ($P < 0.05$). Considering the evaluation made on flavor, it was found that there was a significant difference between CI8 and C10 to CI12 ($P < 0.05$). The increase in amount of carob extracts added, negatively affects the flavor of chocolate ice cream.

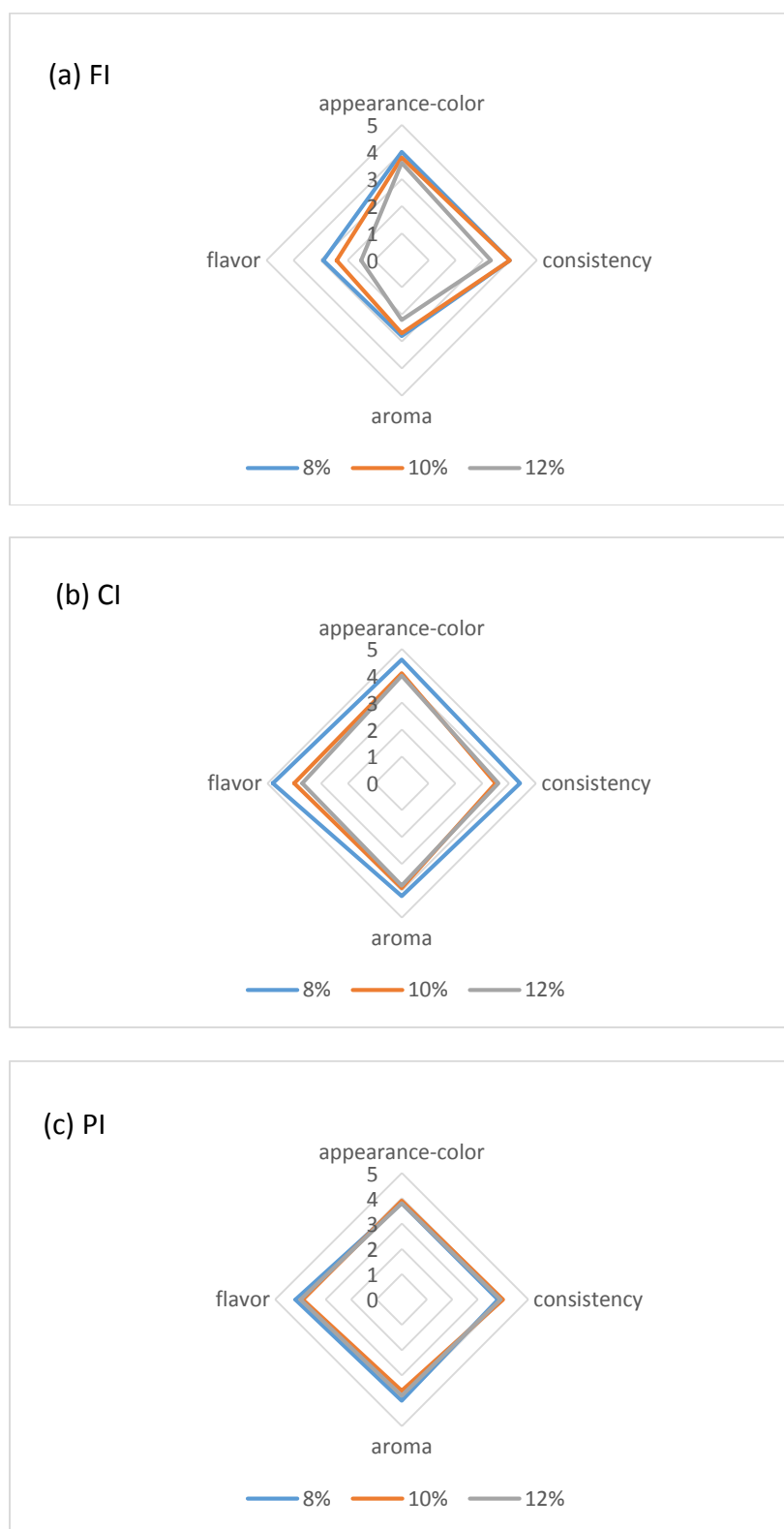


Figure 4. Results of sensory analysis of ice cream samples added by 8 %, 10 % and 12 % of carob extract; (a) fruit ice cream (FI), (b) chocolate ice cream (CI), (c) plain ice cream (PI).

The sensory analysis made on plain ice cream samples (Figure 4c), observed that there was not much differences in appearance-color and consistency between all samples. The flavor taste rankings of plain ice cream samples are PI8 PI12 and PI10. But samples which have 8% and 10% carob extract were much more appreciated. Considering the aroma evaluations, the aroma of PI8 was better ($P < 0.05$). Ice creams containing carob molasses were produced by Badem (2006) using different stabilizers. Sensory properties (color-appearance, texture-consistency and taste-

odor) of ice creams were evaluated over 7 points. It was reported that the color-appearance score varied between 5.50-6.50, the texture-consistency score varied between 4.33-6.66, and the taste-odor score varied between 4.83-6.33. Ice cream containing carob powder was produced by Sabatini et al. (2011). It has been stated that the ice cream produced has an acceptability index of over 87% in terms of all sensory properties. Thus, it has been reported that ice cream can be put on the market.

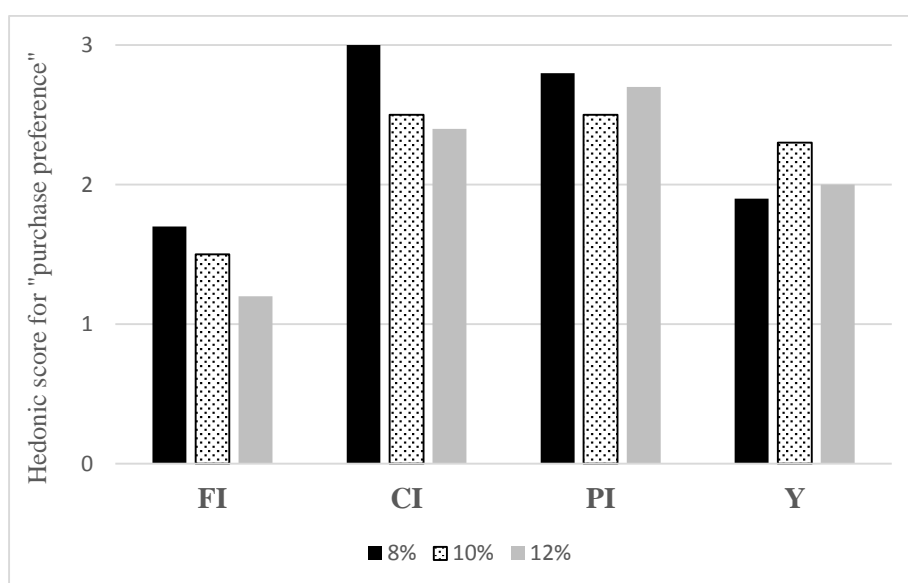


Figure 5. Hedonic scores (1: I would not buy, 2: Undecided, 3: I would buy) for preference of purchasing of fruit ice cream (FI), chocolate ice cream (CI), plain ice cream (PI) and yogurt (Y) samples fortified with carob extract.

According to the results of hedonic scores in our study, when all the analysis evaluations are taken into consideration, PI8 and PI12 are close together purchasing preference mark, while PI10 is less preferred (Figure 5). It was concluded that FI8 and CI8 can be more purchased. So, the decrease in purchasing preference was found out as the proportion of carob extract increased among fruit and chocolate ice cream samples. Considering the purchasing preferences of panelists in accordance with other criteria of yogurt, it was observed that Y10 can be the most saleable. This can be explained by the fact that the 10% carob extract yogurt is preferred by panelists

who consume both sugar-free and sugary product.

CONCLUSION

The supplementation of carob extract in yogurt and ice cream impact their physicochemical and sensory properties. When the proportion of carob extract added to the yogurt and ice cream samples increased, D-pinitol contents, total dry matter contents, amount of phenolic compounds and antioxidants values also increased. Furthermore, when we take into consideration all sensory analysis' evaluations, samples added with 8% of carob extract either yogurt or ice-cream got better results. To this effect, the use of carob to impart

functional compounds in daily diet products can be thorough, considering that: in yogurt and ice cream as the proportion of carob extract increases, the amount of D-pinitol, antioxidant value and phenolic compounds increases. Furthermore, tastes and purchasing preference was found proportionately opposed to the increase of carob extracts in the products.

FUNDING

This research was funded by TUBITAK (grant number: 1506572749).

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Yenigün Food Inc. and Dimes A.Ş. for supporting materials.

CONFLICT OF INTEREST

Authors declare no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

MK designed the research. MA, ŞK, DY, NK, and AAK performed research and carried out statistical analyzes. UTZA, AAK, AH, MK wrote the paper. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

REFERENCES

Açıkgözoğlu, A.B. (2008). Determination of some properties of yoghurts made by addition of some fruit juice concentrate. MSc thesis, Selcuk University, Konya, Turkey.

Atasoy, A.F. (2009) The effects of carob juice concentrates on the properties of yoghurt. *Int J Dairy Technol*, 62 (2): 228-233.

Babiker, E.E., Özcan, M.M., Ghafour, K., Al Juhaimi, F., Ahmed, I.A.M., Almusallam, I.A. (2020) Physico-chemical and bioactive properties, fatty acids, phenolic compounds, mineral contents, and sensory properties of cookies enriched with carob flour. *J Food Process Pres*, 44 (10): e14745

Badem, A. (2006) Effects of carrageenan, xanthan and locust bean gums which is used for the production of the carob syrup containing ice creams on the quality of ice-creams. MSc thesis, Akdeniz University, Antalya, Turkey.

Bates, S.H., Jones, R.B., Bailey, C.J. (2000). Insulin-like effect of pinitol. *Br J Pharmacol*, 130: 1944-1948.

Bulca, S. (2016). Some properties of carob pod and its use in different areas including food technology. *Sci Bull. Series F. Biotechnologies*, 20: 142-147.

Cemeroğlu, B. (2007). *Gıda Analizlerinde Genel Yöntemler*. In: *Gıda Analizleri*. Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları.

Červenka, L., Fruhbauerová, M., Velichová, H. (2019). Functional properties of muffin as affected by substituting wheat flour with carob powder. *Potravinarstvo Slovak J Food Sci*, 13(1): 212-217.

Christou, C., Poulli, E., Yiannopoulos, S., & Agapiou, A. (2019). GC-MS analysis of D-pinitol in carob: Syrup and fruit (flesh and seed). *J Chromatogr B*, 1116, 60-64.

El-Kholy, A. (2015) Impact of carob pods powder on the physical and sensory properties of ice cream. *Ismailia J Dairy Sci Technol*, 2 (1): 7-11.

Fernandez-Leon, M.F., Fernandez-Leon, A.M., Lozano, M., Ayuso, M.C., Amodio, M.L., Colelli, G., Gonzalez-Gomez, D. (2013). Retention of quality and functional values of broccoli 'Parthenon' stored in modified atmosphere packaging. *Food Control*, 31 (2): 302-313.

Guler-Akin, M.B., Goncu, B., Akin, M.S. (2016). Some properties of probiotic yoghurt ice cream supplemented with carob extract and whey powder. *Adv Microbiol*, 6(14): 1010-1020.

Karaca, O.B., Saydam, I.B., Güven, M. (2011). Physicochemical, mineral and sensory properties of set- type yoghurts produced by addition of grape, mulberry and carob molasses (Pekmez) at different ratios. *Int J Dairy Technol*, 65(1): 111-117.

Karkacier, M., Artik, N., Certel, M. (1995). The conditions for carob (*Ceratonia siliqua* L.) extraction and the clarification of the extract. *Fruit Process*, 12: 394-397.

López-Sánchez, J. I., Moreno, D. A., García-Viguer, C. (2018). D-pinitol, a highly valuable product from carob pods: Health-promoting

- effects and metabolic pathways of this natural super-food ingredient and its derivatives. *AIMS Agric Food*, 3(1): 41-63.
- Nasar- Abbas, S. M., e- Huma, Z., Vu, T. H., Khan, M. K., Esbenshade, H., Jayasena, V. (2016). Carob kibble: A bioactive- rich food ingredient. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 15(1): 63-72.
- Nasser, S. A. (2020) Effect of adding carob extract to yogurt. *J Food Dairy Sci*, 11 (7): 195-198.
- Oziyci, H.R., Turhan, I., Tetik, N., Arslan Kulcan, A., Akkoyun, T., Yatmaz, E., Germec, M., Karhan, M. (2015). Concentration of D-pinitol in carob extract by using multi-stage enrichment processes. *GIDA*, 40 (3): 125-131.
- Peker, H., Arslan, S. (2017). Effect of olive leaf extract on the quality of low-fat apricot yogurt. *J Food Process Pres*, 41(5): e13107.
- Sabatini, D.R., Silva, K.M., Picinin, M.E., Del Santo, V.R., Souza, G.B., Pereira, C.A.M. (2011). Centesimal and mineral composition of powdered carob and its use on preparation and acceptability of an ice cream. *Alim Nutr Araraquara*, 22 (1): 129-136.
- Sanguigni, V., Manco, M., Sorge, R., Gnessi, L., Francomano, D. (2017). Natural antioxidant ice cream acutely reduces oxidative stress and improves vascular function and physical performance in healthy individuals. *Nutrition*, 33: 225-233.
- Spanos, G.A., Wrolstad, R.E. (1992). Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage. A review. *J Agric Food Chem*, 40: 1478-1487.
- Srour, N., Daroub, H., Toufeili, I., Olabi, A. (2016) Developing a carob- based milk beverage using different varieties of carob pods and two roasting treatments and assessing their effect on quality characteristics. *J Sci Food Agr*, 96 (9): 3047-3057.
- Tetik, N., Turhan, I., Oziyci, H. R., Karhan, M. (2011). Determination of D-pinitol in carob syrup. *Int J Food Sci Nutr*, 62(6), 572-576.
- Turhan, I. (2011). Optimization of extraction of D-pinitol and phenolics from cultivated and wild types of carob pods using response surface methodology. *Int J Food Eng*, 7(6).
- Turhan, I. (2014). Relationship between sugar profile and D-pinitol content of pods of wild and cultivated types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.). *Int J Food Prop*, 17(2), 363-370.



GELİNCİK ÇİÇEĞİ ŞURUBUNUN ELEKTRİKSEL İLETKENLİK DEĞERLERİ VE REOLOJİK ÖZELLİKLERİNDEKİ DEĞİŞİMİN İNCELENMESİ

Mutlu Çevik*

Munzur Üniversitesi, Güzel Sanatlar, Tasarım ve Mimarlık Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Tunceli, Türkiye

Geliş / Received: 15.04.2021; Kabul / Accepted: 02.07.2021; Online baskı / Published online: 12.07.2021

Çevik, M. (2021). Gelincik çiçeği şurubunun elektriksel iletkenlik değerleri ve reolojik özelliklerindeki değişimin incelenmesi. GIDA (2021) 46 (4) 992-1001 doi: 10.15237/gida.GD21072

Çevik, M. (2021). Investigation of the changes in electrical conductivity values and rheological properties of poppy flower syrup. GIDA (2021) 46 (4) 992-1001 doi: 10.15237/gida.GD21072

ÖZ

Bu çalışmada, farklı voltaj gradyanlarında (30, 35 ve 40 V/cm) ohmik ısıtma uygulanan gelincik çiçeği şuruplarının ısıtma işlemi boyunca elektriksel iletkenlik değerlerindeki değişim incelenmiştir. Ek olarak, farklı sıcaklık değerlerinde örneklerin reolojik özelliklerindeki değişim belirlenmiş ve farklı reolojik modellere uygunlukları test edilmiştir. Örneklerin ısınma sürelerinin 280 ile 592 s aralığında değiştiği ve uygulanan voltaj gradyanının artmasına bağlı olarak azalma eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir. Ölçüm alınan tüm sıcaklık değerlerinde ise örneklerin reolojik davranışını en iyi ifade eden modelin Üssel model olduğu tespit edilmiştir. Kıvam katsayısı (K) ve görünür viskozite ($\mu_{görünü}$) değerlerinin sıcaklık değerlerinin artmasına bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Ölçüm alınan tüm işlem koşullarında örneklerin Newton-dışı dilatant (kaymayla kalınlaşan) akış davranış özelliği gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Gelincik çiçeği, ohmik, elektriksel iletkenlik, reoloji, model

INVESTIGATION OF THE CHANGES IN ELECTRICAL CONDUCTIVITY VALUES AND RHEOLOGICAL PROPERTIES OF POPPY FLOWER SYRUP

ABSTRACT

In this study, the changes of electrical conductivity values of poppy flower syrups applied ohmic heating at different voltage gradients (30, 35 ve 40 V/cm) were investigated during the heating process. In addition, the changes of the rheological properties of the samples at different temperature values were determined and their suitability to different rheological models were tested. It was determined that the heating times of the samples changed between 280 and 592 s and tended to decrease depending on the increase in the applied voltage gradient. It was detected that the best model describing the rheological behavior of samples at all temperature values was the Power-Law Model. It was determined that the consistency coefficient (K) and apparent viscosity ($\mu_{apparent}$) values decreased as the temperature values increased. It was determined that the samples showed non-Newtonian dilatant (shear thickening) flow behavior under all measurement process conditions.

Keywords: Poppy flower, ohmic, electrical conductivity, rheology, model

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ mutlucevik3538@hotmail.com

☎ (+90) 428 213 1794/2519

☎: +90 [364] 428 213 1861

Mutlu Çevik; ORCID no: 0000-0003-4847-4910

GİRİŞ

Dünya üzerinde çok geniş bir yayılma alanına sahip olan gelincik çiçeği, Gelincikgiller ailesinin bir üyesidir. Yaprakları parçalı olan gelincikler genelde, çok koyu kırmızı bir renge sahiptirler. Tek yıllık ve otsu bir bitki olan gelincik çiçeklerinin boyları ise 25-30 cm aralığında değişmekte olup Ülkemizde özellikle Anadolu bölgesinde yaygın bir şekilde yetişebilmektedirler (Kaya vd., 2004). İnsanoğlunun sağlıklı gıdalara olan ilgisinin artması ile farklı meyvelerden ve çiçeklerden yapılmış şerbet ya da şuruplara da ilginin arttığı görülmektedir. Şerbet ya da şuruplar günün her saatinde serinletici olarak içilebileceği ve ikram edilebilecekleri gibi yemeklerle de tüketilebilirler. Bu şuruplardan bir tanesi de gelincik şurubudur. Özellikle Türk kahvesi yayında veya yaz aylarında misafirlere serinletici olarak yoğun şekilde ikram edilmektedir. Gelincik şurubu gelincik çiçeklerinin kırmızı yapraklarının toplanıp, siyah kısımlarının bir makas yardımıyla uzaklaştırılarak kalan kısmının şeker ve su ilavesi ile kaynatılması ile elde edilen geleneksel bir içecektir (Özdoğan ve Işık, 2008; Şahin ve Kılıç, 2009).

Ohmik ısıtma güncel alternatif teknolojiler arasında yer alan elektriksel bir ısıtma yöntemi olup, elektrik akımının gıda maddesinin üzerinden geçirilmesi prensibine dayanmaktadır. Özellikle ısı direnci yüksek sıvı gıda maddelerinde hızlı ve homojen bir ısıtma işlemine imkân tanımaktadır (Sastry ve Salengke, 1998; İcier, 2003). Ohmik ısıtma yöntemi diğer ısıtma yöntemlerine kıyasla gıda maddesinin termofiziksel özelliklerinden daha az etkilenmektedir. Enerji üretimi ve ısınma hızı uygulanan voltaj gradyanına ve gıda maddesinin elektriksel iletkenlik değerine bağlı olarak değişmektedir. Yüksek sıcaklıklara ani olarak çıkabilmesi nedeniyle ohmik ısıtma işleminde ısınma süresi çok kısa sürmekte bu da ürün kalitesini olumlu şekilde etkilemektedir (Sastry ve Salengke, 1998; Darvishi vd., 2011; İcier vd., 2017a). Ohmik ısıtma yöntemi gıda endüstrisinde gıda maddelerinin ısıtılması (Sabancı ve İcier, 2017), pişirilmesi (Bozkurt ve İcier, 2010), haşlanması (İcier vd., 2017b) ve çözündürülmesi (Cevik ve İcier, 2018) amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ancak literatürde

ohmik ısıtma yöntemi kullanılarak ısıtılan gelincik çiçeği şurubu örneklerinin ısınma geçmişleri ve elektriksel iletkenlik değerlerindeki değişimin incelendiği herhangi bir çalışmaya yazarların bilgisi dahilinde rastlanılmamıştır.

Gıda maddelerinin fiziksel özelliklerinin belirlenmesi endüstriyel ölçekte üretim hatlarının tasarımında oldukça önemli bir yere sahiptir. Bu fiziksel özelliklerinden bir tanesi de gıda maddelerinin reolojik özelliklerindeki değişimin belirlenmesidir. Reoloji, gıda maddelerinin yapısında meydana gelen akış ve deformasyonunu inceleyen bir bilim dalıdır. Sıvı gıda maddelerinin sınıflandırılmasında kayma hızına karşı elde edilen kayma gerilimi değerlerindeki değişime bağlı olarak akış davranış indeksi Newtonian ve Non-Newtonian tipi akışkan olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar (Steffe, 1996). Gıda maddelerinin reolojik özelliklerinin belirlenmesi üretim esnasında uygulanan karıştırma, pompalama ve proses kontrolü gibi parametrelerinin belirlenmesinde son derece önem arz etmektedir (Steffe, 1996; Krokida et al., 2001). Literatürde farklı şurup örneklerinin reolojik özelliklerindeki değişimin incelendiği çalışmalar araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Ngadi ve Yu, 2004; Gabsi vd., 2013; Borchani vd., 2019). Ancak literatürde gelincik çiçeği şurubunun farklı ölçüm sıcaklığı değerlerinde reolojik davranışlarının incelendiği herhangi bir çalışmaya araştırmacıların bilgisi dahilinde rastlanılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, gelincik çiçeği şurubu örneklerinin farklı voltaj gradyanlarında ohmik ısıtılması sırasında sıcaklık geçmişinin ve elektriksel iletkenlik değerlerindeki değişimin belirlenmesidir. Ek olarak, farklı sabit ölçüm sıcaklığı (20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80 °C) değerlerinde örneklerin reolojik özelliklerindeki değişimin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Gelincik çiçeği şurubu örnekleri yerel bir meyve suyu üreticisinden 700 ml cam şişeler içerisinde konsantre olmayan pastörize edilmiş bir şekilde temin edilmiştir. Gelincik çiçeği şurubu örneklerinin suda çözünür kuru madde (SÇKM)

içeriği $34.5 \pm 0.2\%$ olarak belirlenmiştir. Gelincik çiçeği şurubu örnekleri ısıtma işlemi uygulanıncaya kadar buzdolabı içerisinde $+4 \pm 0.5$ °C ortam sıcaklığında depolama işlemine tabii tutulmuştur. Isıtma işlemi öncesinde örneklerin sıcaklığı oda sıcaklığında 20 °C'ye getirilmiş ve derhal ısıtma işlemine başlanılmıştır.

Ohmik Isıtma Yöntemi

Ohmik ısıtma sistemi, güç kaynağı/izole trafo (0-380 V), teflon malzemeden ($6 \times 6.75 \times 10$ cm) yapılmış test hücresi, 0.2 cm kalınlığında iki titanyum elektrot, Teflon kaplı T-tipi ısıtıcılar, özel yapım mikroişlemci ve bilgisayardan oluşmaktadır. Ohmik ısıtma sistemine ait detaylı bilgi Çevik (2021a)'de verilmiştir. Her bir ısıtma denemesinde 100 ml gelincik çiçeği şurubu örneği test hücresi içerisine aktarılmıştır. Ohmik ısıtma işlemi 3 farklı voltaj gradyanında (30, 35 ve 40 V/cm voltaj gradyanında) örneklerin sıcaklık değeri 20 °C'den 80 °C'ye ulaşıncaya kadar devam etmiştir. Isıtma işlemi boyunca örneklerin sıcaklık değerleri ucu teflon ile kaplanmış T-tipi ısıtıcılar kullanılarak ölçülmüştür. Akım, voltaj ve sıcaklık değerleri ise özel yapım mikro işlemci yardımıyla 1 s aralıklar ile kaydedilmiştir.

Suda Çözünür Kuru Madde (SÇKM) İçeriğinin Belirlenmesi

Gelincik çiçeği şurubu örneklerinin suda çözünür kuru madde içerikleri, sıcaklık düzeltmesine sahip dijital refraktometre (Hanna, Portekiz) kullanılarak belirlenmiş ve %SÇKM olarak ifade edilmiştir.

Elektriksel İletkenlik Değerlerindeki Değişimin Belirlenmesi

Isıtma işlemi boyunca özel yapım mikro işlemci yardımıyla 1 s aralıklar ile kaydedilen akım, voltaj ve sıcaklık değerleri kullanılarak örneklerin elektriksel iletkenlik değerleri (Eşitlik 1) hesaplanmıştır (Çevik, 2021a).

$$\text{Elektriksel iletkenlik değeri (S/m)} = \frac{I L}{V A} \quad (1)$$

I akım değerini (A), V uygulanan voltaj gradyanı değerini, L iki elektrot arasındaki uzaklığı (m), A ise örneklerin elektrot ile temas alanını ifade (m^2) etmektedir.

Isıtma işlemi boyunca gelincik çiçeği şurubu örneklerinin elektriksel iletkenlik değerlerinin sıcaklık ile değişimi Eşitlik 2 ile karakterize edilmiştir.

$$\text{Elektriksel iletkenlik değeri (S/m)} = aT + b \quad (2)$$

T (°C) ölçüm alınan sıcaklık değerini, a ($S/m^\circ C$) ve b (S/m) denklem sabitlerini ifade etmektedir.

Reolojik Ölçümler

Gelincik çiçeği şurubu örneklerinin reolojik özelliklerindeki değişim Anton Paar MCR 301 (Anton Paar GmbH, Graz, Austria) reometre ile eş merkezli silindirik ölçüm aparatı (iç silindirin çapı 26.663 mm ve dış silindirin çapı 28.910 mm) kullanılarak ölçülmüştür. Reolojik ölçümler eş merkezli silindirik ölçüm aparatı kullanılarak $1-100 s^{-1}$ kayma hızı değerleri aralığında 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80 °C sabit ölçüm sıcaklığı değerlerinde gerçekleştirilmiştir. Kayma hızı ve kayma gerilimi değerleri ölçülmüş, farklı sıcaklık değerlerindeki akış tipinin belirlenmesi amacıyla farklı reolojik modellerin (Newton, Üssel, Bingham, Herschel-Bulkley) deneysel verilere uygunluğu istatistiksel olarak belirlenmiştir (Eşitlik 3-6) (Çevik vd., 2016).

$$\tau = \eta * \dot{\gamma} \quad (3)$$

$$\tau = K * \dot{\gamma}^n \quad (4)$$

$$\tau - \tau_0 = K * \dot{\gamma} \quad (5)$$

$$\tau - \tau_0 = K * \dot{\gamma}^n \quad (6)$$

Newton dışı akışkanlar için kayma gerilimi ve kayma hızı arasındaki değişim doğrusal değildir (Steffe, 1996). Bu çalışmada, ağızda kesme hızı olarak kabul edilen $50 s^{-1}$ kayma hızı değeri seçilerek, elde edilmiş en uygun reolojik modeldeki reolojik sabitler Eşitlik (7)'de yerine konularak görünür viskozite değerleri hesaplanmıştır (Morell vd., 2014).

$$\eta_{\text{gorunuviskozite}} = K * \gamma^{n-1} \quad (7)$$

İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi SPSS 16.0 (IBM, The United States) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Farklı işlem koşullarında (20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80 °C) ölçüm alınan gelincik çiçeği şerbeti örneklerinin reolojik özellikleri üzerine etkileri ANOVA ve DUNCAN testleri ile belirlenmiştir. Güven seviyesi %95 olarak alınmıştır. Deneysel kayma gerilimi değerlerinin farklı reolojik modeller ile

uyumluluğu doğrusal olmayan regresyon analizi kullanılarak test edilmiştir. Farklı işlem koşullarında incelenen her bir reolojik model için ilgili eşitlikler (hata kareleri ortalaması karekökü (HKOK), ki-kare (χ^2) ve R² değerleri) MATLAB paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda en uygun reolojik modelin değerlendirilmesinde en küçük hata kareleri ortalaması karekökü (HKOK) (Eşitlik 8) ve ki-kare (χ^2) (Eşitlik 9) değerleri ile en yüksek R² değerleri (Eşitlik 10) dikkate alınmıştır (Cevik vd., 2016). Tüm denemeler 3 tekrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\text{HKOK} = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^n (\text{Teorik değer}_i - \text{Deneysel değer}_i)^2 \right]^{0.5} \quad (8)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\text{Teorik değer}_i - \text{Deneysel değer}_i)^2}{N-n} \quad (9)$$

$$R^2 = \frac{N \sum_{i=1}^N \text{Teorik değer}_i \text{Deneysel değer}_i - \sum_{i=1}^N \text{Teorik değer}_i \sum_{i=1}^N \text{Deneysel değer}_i}{\sqrt{(N \sum_{i=1}^N \text{Teorik değer}_i^2 - (\sum_{i=1}^N \text{Teorik değer}_i)^2)(N \sum_{i=1}^N \text{Deneysel değer}_i^2 - (\sum_{i=1}^N \text{Deneysel değer}_i)^2)}} \quad (10)$$

N gözlenen veri sayısını, n modeldeki katsayıyı ifade etmektedir.

TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Isınma Süresi ve Elektriksel İletkenlik Değerlerindeki Değişim

Farklı voltaj gradyanları kullanılarak ısıtılan gelincik çiçeği şurubu örneklerinin ısınma sürelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık içerdiği tespit edilmiştir ($P < 0.05$; Çizelge 1). En uzun ısınma süresinin (592 s) 30 V/cm voltaj gradyanında elde edildiği, en kısa ısınma süresinin ise (283 s) 40 V/cm voltaj gradyanında elde

edildiği tespit edilmiştir ($P < 0.05$; Şekil 1). Uygulanan voltaj gradyanının artmasına bağlı olarak giren toplam enerji miktarının ve buna bağlı olarak da örnek içerisinde meydana gelen ısı jenerasyonunun artış gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, yüksek voltaj gradyanlarında ısınma hızı değerlerinin de artış gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 1). Literatürde yapılan çalışmalarda da birçok araştırmacı tarafından benzer sonuçlar rapor edilmiştir (Icier ve Ilıcalı, 2004; Icier vd., 2017; Sabancı ve Icier, 2017; Darvishi vd., 2020; Cevik, 2021).

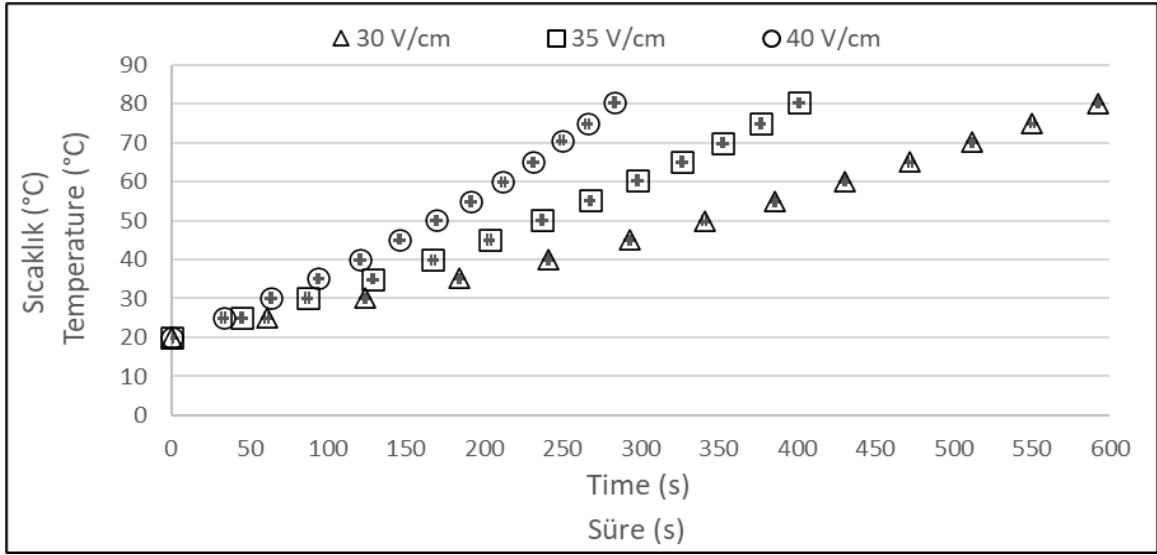
Çizelge 1. Farklı voltaj gradyanlarında uygulanan ohmik ısıtma işleminde ısınma süresi ve ısıtma hızı değerlerindeki değişim

Table 1. The changes of heating time and heating rate values in the ohmic heating process applied at different voltage gradients

Voltaj gradyanı (V/cm)	Isınma süresi (s)	Isıtma hızı (°C/s)
Voltage gradients (V/cm)	Heating time (s)	Heating rate (°C/s)
30	592±22 ^c	0.101±0.004 ^a
35	401±21 ^b	0.150±0.008 ^b
40	280±13 ^a	0.212±0.010 ^c

^{a,b,c} Aynı sütundaki farklı harflendirmelerin, ilgili değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($P < 0.05$)

^{a, b, c} There is a statistically significant difference between the values of the respective value of different lettering in the same column ($P < 0.05$)



Şekil 1. Farklı voltaj gradyanlarında ohmik ısıtma işlemi uygulanarak ısıtılan gelincik çiçeği şurubu örneklerinin ısınma sürelerindeki değişim

Figure 1. The changes of heating time of poppy flower syrup samples heated by using ohmic heating at different voltage gradients

Gelincik çiçeği şurubu örneklerinin farklı voltaj gradyanlarında uygulanan ohmik ısıtma işlemi boyunca elde edilen elektriksel iletkenlik değerlerindeki değişim Şekil 2’de verilmiştir. Isıtma işlemi boyunca uygulanan tüm voltaj gradyanlarında elektriksel iletkenlik değerlerinin sıcaklık ile lineer olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir. Meydana gelen bu durum yüksek sıcaklık değerlerinde iyon hareketine karşı direncin azalması ile açıklanabilmektedir. Isıtma işlemi boyunca, elektriksel iletkenlik değerlerinin 30, 35 ve 40 V/cm voltaj gradyanı için sırasıyla 0.036-0.124, 0.037-0.124 ve 0.039-0.128 S/m aralığında değiştiği tespit edilmiştir (Şekil 2). Benzer şekilde, Çevik (2021a) yaptığı çalışmada 13, 15, 17 ve 19 V/cm voltaj gradyanında ohmik ısıtma uyguladığı koruk suyu örneklerinin elektriksel iletkenlik değerlerinin sıcaklığın artmasına bağlı olarak lineer olarak artış gösterdiğini rapor etmiştir. Kumar vd. (2018) 4 farklı voltaj gradyanında ohmik ısıtma uyguladıkları üzüm suyu örneklerinin elektriksel iletkenlik değerlerinin sıcaklık ile lineer olarak artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Ek olarak araştırmacılar en yüksek elektriksel iletkenlik değerlerinin 85 °C’de 0.81 S/m ile 30 V/cm voltaj gradyanında elde edildiğini rapor etmişlerdir.

Isıtma periyodu boyunca gelincik şerbeti örneklerinin elektriksel iletkenlik ve sıcaklık ile değişimi Lineer model ile karakterize edilmiş ve model katsayıları Çizelge 2’de verilmiştir. “a” katsayı değerleri tüm voltaj gradyanlarında benzerlik gösterirken ($P > 0.05$), “b” katsayı değerleri ise voltaj gradyanının artmasına bağlı olarak artış göstermiştir ($P < 0.05$). Literatürde yapılan çalışmalarda da birçok araştırmacı tarafından benzer sonuçlar rapor edilmiştir (İcier ve İlicali, 2004; İcier vd., 2017; Sabancı ve İcier, 2017; Çevik, 2021a).

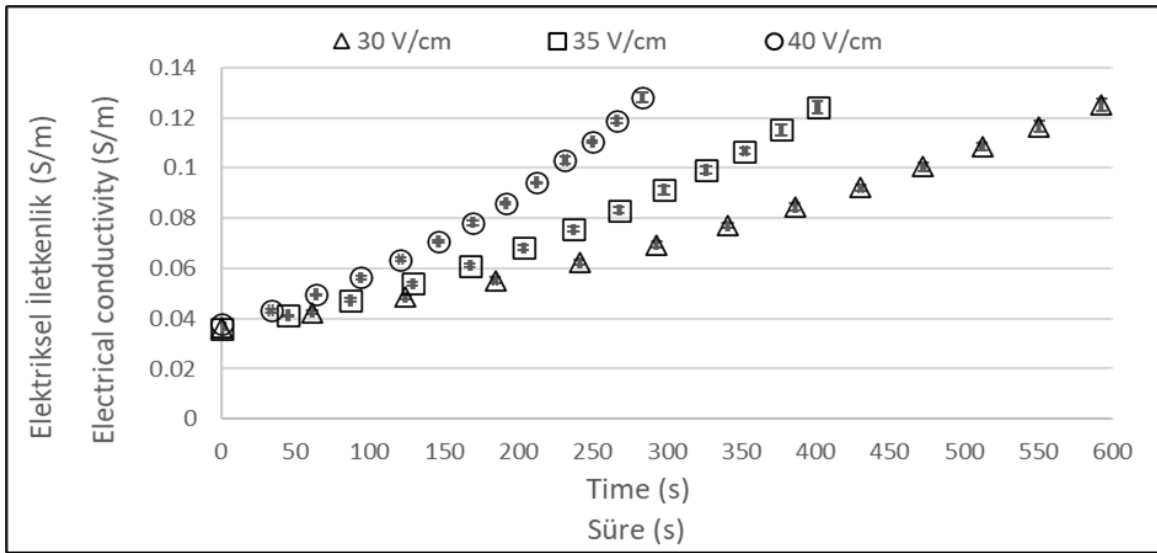
Reolojik Özelliklerdeki Değişim

Gelincik çiçeği şurubunun farklı işlem koşullarında uygulanan reolojik ölçüm sonuçlarında elde edilen deneysel kayma gerilimi-kayma hızı değişimleri Şekil 3’te verilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, sabit kayma hızı değerinde ölçüm alınan sabit sıcaklık değerinin artmasına bağlı olarak kayma gerilimi değerlerinin azalma eğilimi gösterdiği belirlenmiştir ($P < 0.05$). Uygulanan tüm kayma hızı değerleri dikkate alındığında, en yüksek kayma gerilim değerleri 20 °C sabit ölçüm sıcaklığında elde edilirken, en düşük kayma gerilim değerleri ise 80 °C sabit ölçüm sıcaklığında elde edilmiştir (Şekil 3; $P < 0.05$). Ölçüm alınan sabit sıcaklık

Gelincik çiçeği şurubunun elektriksel iletkenlik değerleri ve reolojik özellikleri

değerinin artmasına bağlı olarak kayma gerilimi değerlerinin azalma eğilimi gösterdiği, buna bağlı olarak da gelincik çiçeği şurubu örneklerinin viskozite değerlerinin düşme eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir. Literatürde rapor edilen çalışmalar incelendiğinde, gelincik çiçeği şurubu örneklerinin reolojik özelliklerindeki değişimin incelendiği herhangi bir çalışmaya yazarların bilgisi dahilinde rastlanılmamıştır. Literatürde

farklı gıda maddeleri için yapılan çalışmalar incelendiğinde, ölçüm alınan sıcaklık değerinin artmasına bağlı olarak örneklerinin viskozite değerlerinin azalma eğilimi gösterdiği ve buna bağlı olarak da kayma gerilimi değerlerinin azaldığı birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Chin vd., 2009; Quek vd., 2013; Gabsi vd., 2013; Cevik vd., 2016; Cevik, 2021b).



Şekil 2. Farklı voltaj gradyanlarında gelincik çiçeği şurubu örneklerinin elektriksel iletkenlik değerlerindeki değişim

Figure 2. Changes of electrical conductivity values of poppy flower syrup samples at different voltage gradients

Çizelge 2. Farklı voltaj gradyanlarında ısıtma periyodu boyunca sıcaklığa bağlı (Eşitlik 2) olarak gelincik çiçeği şurubunun elektriksel iletkenlik değişimleri için model sabitleri (Lineer model) ve regresyon katsayıları

Table 2. Model constants (Linear model) and regression coefficients for changes of electrical conductivity of poppy flower syrup depending on temperature (Equation 2) during the heating period at different voltage gradients

Voltaj gradyanı (V/cm)	a (S/m°C)	b (S/m)	R ²
30	0.0015±0.0001 ^a	0.0026±0.0001 ^a	0.998±0.001
35	0.0015±0.0001 ^a	0.0040±0.0001 ^b	0.997±0.001
40	0.0015±0.0001 ^a	0.0056±0.0009 ^c	0.997±0.001

^{a,b,c} Aynı sütundaki farklı harflendirmelerin, ilgili değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($P < 0.05$)

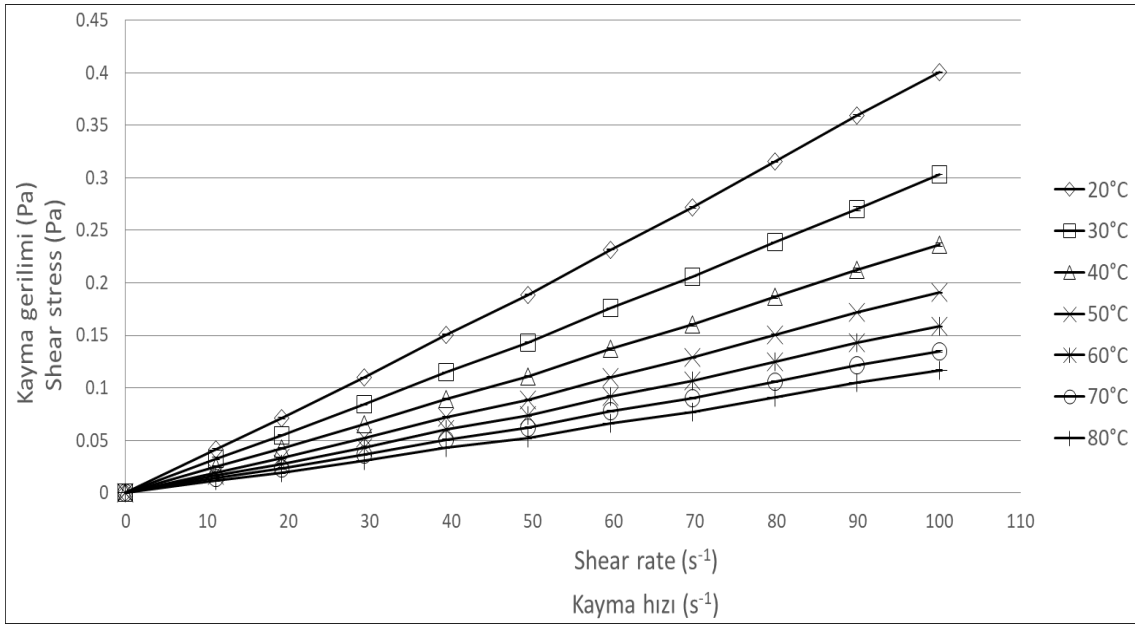
^{a, b, c} There is a statistically significant difference between the values of the respective value of different lettering in the same column ($P < 0.05$)

Farklı işlem koşullarının gelincik çiçeği şurubu örneklerinin reolojik özellikleri üzerine etkilerinin daha detaylı incelenmesi amacıyla farklı reolojik modellerin (Newton, Bingham, Üssel ve Herschel-Bulkley modeli) elde edilen deneysel

kayma gerilimi (Pa) ve kayma hızı (s^{-1}) değerlerine uyumluluğu doğrusal olmayan regresyon analizi yardımı ile incelenmiştir (Çizelge 3). Modeller arasındaki karşılaştırmanın daha detaylı yapılabilmesi için örneklerinin farklı sabit ölçüm

sıcaklığı değerlerinde elde edilen HKOK ve χ^2 değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Genel olarak değerlendirildiğinde, Bingham modelinin tüm işlem koşulları için uygulanabilir olmadığı belirlenmiştir. Newton model, Üssel model ve Herschel-Bulkley modelleri ise genel olarak karşılaştırıldığında, Üssel modelinin daha yüksek R^2 ve daha düşük hata oranlarına (HKOK ve χ^2) sahip olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Literatürde farklı gıda maddeleri (tarçın elması, pomela suyu, hurma şurubu, mango suyu, koruk suyu ve nar suyu) ile yapılan çalışmalarda en uygun reolojik modelin Üssel model olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Dak ve ark., 2007; Chin ve ark., 2009; Gabsi ve ark., 2013; Quek ve ark., 2013; Çevik vd., 2016; 2020; Çevik, 2021b).



Şekil 3. Farklı işlem koşullarında ölçüm alınan gelincik çiçeği şurubu örneklerinin sıcaklığa bağlı olarak kayma gerilimi-kayma hızındaki değişim

Figure 3. Changes of shear stress-shear rate of poppy flower syrup samples applied at different processing conditions depending on temperature

Reolojik ölçüm sabitlerindeki değişimin incelenmesi amacıyla en uygun reolojik model olan Üssel model öngörülerini kullanılmıştır. Elde edilen kıvam katsayısı (K), akış davranış indeksi (n) ve regresyon katsayısı (R^2) değerleri Çizelge 4'te verilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda R^2 değerlerinin 0.999 ile 1 aralığında değiştiği ve model ile yüksek bir uyumluluk gösterdiği belirlenmiştir. Gelincik çiçeği şurubu örneklerinin kıvam katsayısı değerlerinin ölçüm alınan sabit sıcaklık değerinin artmasına bağlı olarak azalma eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir. (Çizelge 4). Farklı işlem koşullarında elde edilen akış davranış indeksleri (n) incelendiğinde, ölçüm alınan sabit sıcaklık değerinin artmasına bağlı olarak n değerlerinin artma eğilimi gösterdiği ve

Newton-dışı dilatant (kaymayla kalınlaşan) akış özelliği gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4).

En uygun reolojik model olarak tespit edilen Üssel model katsayıları kullanılarak farklı işlem koşullarında ölçüm alınan örneklerinin görünür viskozite ($\mu_{\text{görünür}}$) değerleri de hesaplanmıştır (Eşitlik 7; Çizelge 4). Yapılan değerlendirme sonucunda ölçüm alınan sabit sıcaklık değerinin artmasına bağlı olarak görünür viskozite ($\mu_{\text{görünür}}$) değerlerinin azalma eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4). Literatürde farklı işlem koşullarında ölçüm alınan gelincik çiçeği şurubu örneklerinin reolojik özelliklerindeki değişimin incelendiği herhangi bir çalışma bulunmaması nedeniyle sonuçlar literatür ile karşılaştırılmamaktadır.

Gelincik çiçeği şurubunun elektriksel iletkenlik değerleri ve reolojik özellikleri

Çizelge 3. Farklı işlem koşullarında ölçüm alınan gelincik çiçeği şurubu örneklerinin deneysel kayma hızı-kayma gerilimi verilerinin reolojik modellere uygunluğunun istatistiksel değerlendirmesi

Table 3. Statistical evaluation for rheological models applied to fit the experimental shear stress-shear rate data for poppy flower syrup samples at different processing conditions

Ölçüm sıcaklığı (°C)	İstatistiksel kriter	Modeller/Models			
		Newton modeli	Bingham modeli	Üssel model	Herschel-Bulkley modeli
Measurement temperature (°C)	Statistical criteria	Newton model	Bingham model	Power-Law model	Hershel-Bulkley model
20	R ²	0.999±0.001	ND*	1.000±0.000	1.000±0.000
	HKOK	0.0058±0.0004	ND*	0.0012±0.0001	0.0111±0.0023
	χ ²	0.000034±0.000005	ND*	0.000002±0.000001	0.000102±0.000002
30	R ²	0.999±0.001	ND*	1.000±0.000	1.000±0.000
	HKOK	0.0030±0.0001	ND*	0.0014±0.0001	0.0201±0.0056
	χ ²	0.000009±0.000001	ND*	0.000002±0.000001	0.000304±0.000001
40	R ²	0.999±0.001	ND*	1.000±0.000	1.000±0.000
	HKOK	0.0194±0.0009	ND*	0.0011±0.0001	0.0217±0.0057
	χ ²	0.000365±0.000012	ND*	0.000001±0.000001	0.000527±0.000263
50	R ²	0.998±0.001	ND*	1.000±0.000	1.000±0.000
	HKOK	0.0079±0.0006	ND*	0.0011±0.0001	0.0251±0.0041
	χ ²	0.000064±0.000009	ND*	0.000001±0.000001	0.000681±0.000227
60	R ²	0.998±0.001	ND*	0.999±0.002	0.999±0.001
	HKOK	0.0260±0.0001	ND*	0.0010±0.0001	0.0080±0.0009
	χ ²	0.000690±0.000006	ND*	0.000001±0.000001	0.000068±0.000016
70	R ²	0.997±0.001	ND*	0.999±0.001	0.999±0.001
	HKOK	0.0190±0.0006	ND*	0.0010±0.0001	0.0155±0.0049
	χ ²	0.000370±0.000023	ND*	0.000001±0.000001	0.000267±0.000162
80	R ²	0.995±0.001	ND*	0.999±0.001	0.999±0.001
	HKOK	0.0082±0.0003	ND*	0.0010±0.006	0.0388±0.0024
	χ ²	0.000069±0.000005	ND*	0.000001±0.000001	0.001611±0.000199

ND*: Belirlenmemiştir.

ND*: Not defined

Çizelge 4. Farklı işlem koşullarında ölçüm alınan gelincik çiçeği şurubu örneklerinin reolojik katsayı değerleri

Table 4. Rheological coefficient values of poppy flower syrup samples applied at different processing conditions

Ölçüm sıcaklığı (°C)	Kıvam katsayısı (Pa.s ⁿ)	Akış davranış indeksi (n)	Görünür viskozite (μ _{görünür})	R ²
Measurement temperature (°C)	Consistency coefficient (Pa.s ⁿ)	Flow behaviour index (n)	Apparent viscosity (μ _{app})	R ²
20	0.00311±0.00003	1.055±0.002	0.00386±0.00001	1.000±0.000
30	0.00246±0.00002	1.044±0.002	0.00292±0.00001	1.000±0.000
40	0.00187±0.00005	1.051±0.006	0.00229±0.00001	1.000±0.000
50	0.00143±0.00006	1.064±0.008	0.00183±0.00001	1.000±0.000
60	0.00119±0.00002	1.062±0.003	0.00152±0.00001	0.999±0.001
70	0.00096±0.00006	1.081±0.009	0.00128±0.00002	0.999±0.001
80	0.00073±0.00001	1.104±0.004	0.00109±0.00001	0.999±0.001

SONUÇ

Uygulanan voltaj gradyanının artmasına bağlı olarak gelincik çiçeği şurubu örneklerinin ısınma süresi değerlerinin yarı yarıya (%48 oranında) azaldığı tespit edilmiştir. Elektriksel iletkenlik değerlerinin 30, 35 ve 40 V/cm voltaj gradyanı için sırasıyla 0.036-0.124, 0.037-0.124 ve 0.039-0.128 S/m aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Tüm voltaj gradyanlarında elektriksel iletkenlik değerlerinin sıcaklık ile değişimini ifade eden en uygun matematiksel modelin Lineer model olduğu belirlenmiştir. Ölçüm alınan sabit sıcaklık değerinin artmasına bağlı olarak kayma gerilimi değerlerinin tüm kayma hızı değerlerinde azalma eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. Farklı işlem koşulları için istatistiksel olarak en uygun reolojik modelin Üssel model olduğu tespit edilmiştir. Gelincik çiçeği şurubu örneklerinin kıvam katsayısı değerleri ölçüm alınan sabit sıcaklık değerinin artmasına bağlı olarak azalma eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. Ölçüm alınan tüm işlem koşullarında örneklerin Newton-dışı dilatant (kaymayla kalınlaşan) akış özelliği gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçların pilot ölçekli kurulabilecek olan gelincik çiçeği şerbeti ekipmanlarının tasarımı ve pompalama hatlarının kurulmasına ve literatürde bu konu hakkındaki bilgi eksikliğinin doldurulmasına katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yapılmasında, yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır. Yazarlar makalenin son halini okudu ve onayladı.

KAYNAKLAR

Borchani, M., Masmoudi, M., Ben Amira, A., Abbes, F., Yaich, H., Besbes, S., Attia, H. (2019). Effect of enzymatic treatment and concentration method on chemical, rheological, microstructure and thermal properties of prickly pear syrup. *LWT-Food Sci Technol*, 113, 108314.

Bozkurt, H., İcier, F. (2010). Ohmic cooking of ground beef: Effects on quality. *J Food Eng*, 96(4), 481-490.

Cevik, M. (2021a). Electrical conductivity and performance evaluation of verjuice concentration process using ohmic heating method. *J Food Process Eng*, e13672.

Cevik, M. (2021b). Gezo Pekmezinin Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Iğdır Üniv Fen Bil Enst Der*, 11(2): 1154-1164.

Cevik, M., Tezcan, D., Sabancı, S., İcier, F. (2016). Changes in rheological properties of koruk (unripe grape) juice concentrates during vacuum evaporation. *Acad Food*, 14(4), 322-332.

Cevik, M., İcier, F. (2018). Effects of voltage gradient and fat content on changes of electrical conductivity of frozen minced beef meat during ohmic thawing. *J Food Process Eng*, 41(4), e12675.

Çevik, M., Çokgezme, Ö.F., Sabancı, S., İcier, F. (2020). Ohmik destekli vakum altında evaporasyon sistemi ile konsantre edilen nar suyunun reolojik özelliklerindeki değişimin incelenmesi. *Gıda*, 45 (4), 748-762.

Chin, N.L., Chan, S.M., Yusof, Y.A., Chuah, T.G., Talib, R.A. (2009). Modelling of rheological behaviour of pummelo juice concentrates using master-curve. *J Food Eng*, 93(2), 134-140.

Dak, M., Verma, R.C., Jaaffrey, S.N.A. (2007). Effect of temperature and concentration on rheological properties of “Kesar” mango juice. *J Food Eng*, 80(4), 1011-1015.

Darvishi, H., Hosainpour, A., Nargesi, F., Khoshtaghaza, M.H., Torang, H. (2011). Ohmic Processing: Temperature dependent electrical conductivities of lemon juice. *Modern App Sci*, 5(1), 209.

Darvishi, H., Salami, P., Fadavi, A., Saba, M.K. (2020). Processing kinetics, quality and thermodynamic evaluation of mulberry juice concentration process using Ohmic heating. *Food Bioprod Process*, 123, 102–110.

Gabsi, K., Trigui, M., Barrington, S., Helal, N.A., Taherian, A.R. (2013). Evaluation of rheological properties of date syrup. *J Food Eng*, 117, 165-172.

İcier, F. (2003). Gıdaların ohmik ısıtılmasının deneysel ve kuramsal olarak incelenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda

- Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, Türkiye, 245s.
- Icier, F., Ilıcalı, C. (2004). Electrical conductivity of apple and sourcherry juice concentrates during ohmic heating. *J Food Process Eng*, 27(3), 159–180.
- Icier, F., Yıldız, H., Sabancı, S., Cevik, M., Cokgezme, O.F. (2017a). Ohmic heating assisted vacuum evaporation of pomegranate juice: Electrical conductivity changes. *Innov Food Sci Emerg Tech*, 39, 241-246.
- Icier, F., Cokgezme, O.F., Sabancı, S. (2017b). Alternative thawing methods for the blanched/non-blanched potato cubes: microwave, ohmic, and carbon fiber plate assisted cabin thawing. *J Food Process Eng*, 40(2), e12403.
- Kaya, İ., İncekara, N., Nemli, Y. (2004). Ege Bölgesi'nde Sebze Olarak Tüketilen Yabani Kuşkonmaz, Sirken, Yabani Hindiba, Rezene, Gelincik, Çoban Değneği ve Ebegümecinin Bazı Kimyasal Analizleri . *YYÜ Tar Bil Derg*, 14 (1) , 1-6.
- Krokida, M.K., Maroulis, Z.B., Saravacos, G.D. (2001). Rheological properties of fluid fruit and vegetable puree products: Compilation of literature data. *Int J Food Prop*, 4(2), 179-200.
- Kumar, T., Smith, D.D., Kumar, S., Vimla, B. (2018). Effect of voltage gradient and temperature on electrical conductivity of grape (*vitis vinifera* l.) juice during ohmic heating. *Int J Current Micr App Sci*, 7(05), 1914–1921.
- Morell, P., Fiszman, S.M., Varela, P., Hernando, I. (2014). Hydrocolloids for enhancing satiety: Relating oral digestion to rheology, structure and sensory perception. *Food Hydrocoll*, 41, 343-353.
- Ngadi, M.O., Yu, L.J. (2004). Rheological properties of Canadian maple syrup. *Canadian Biosy Eng*, 46, 15–18.
- Özdoğan, Y., Işık, N. (2008). Geleneksel Türk Mutfağında Şerbet. 38. *ICANAS Uluslararası Asya ve Kuzey Afrika Çalışmaları Kongresi Bildiri Kitabı*, 1. cilt 1059-1077, Ankara.
- Şahin, Ö., Kılıç, B. (2009). Yiyecek İçecek İşletmeciliğinde Yenilebilir Çiçekler, 3. *Ulusal Gastronomi Sempozyumu*, ss. 1-15.
- Quek, M.C., Chin, N.L., Yusof, Y.A. (2013). Modelling of rheological behaviour of soursop juice concentrates using shear rate–temperature–concentration superposition. *J Food Eng*, 118, 380-386.
- Sabancı, S., Icier, F. (2017). Applicability of ohmic heating assisted vacuum evaporation for concentration of sour cherry juice. *J Food Eng*, 212, 262-270.
- Sastry, S.K., Salengke, S. (1998). Ohmic heating of solid–liquid mixtures: A comparison of mathematical models under worst-case heating conditions. *J Food Process Eng*, 21, 441-458.
- Steffe, J.F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. 2nd Edition, Freeman Press, East Lansing.



**FENOLİK BİLEŞİKLERİN ALIÇ MEYVESİNDEN (*Creataegus monogyna*)
MİKRODALGA VE ULTRASES DESTEKLİ YÖNTEMLER İLE
EKSTRAKSİYONU**

**Merve Silanur Yılmaz^{1*}, Naciye Kutlu², Gizem Melissa Erdem¹,
Özge Şakıyan¹, Aslı İşçi¹**

¹Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

²Bayburt Üniversitesi, Gıda İşleme Bölümü, Bayburt, Türkiye

Geliş / *Received*: 21.01.2021; Kabul / *Accepted*: 02.07.2021; Online baskı / *Published online*: 14.07.2021

Yılmaz, M.S., Kutlu, N., Erdem, G.M., Şakıyan, Ö., İşçi, A. (2021). Fenolik bileşiklerin alıç meyvesinden (*Creataegus monogyna*) mikrodalga ve ultrases destekli yöntemler ile ekstraksiyonu. *GIDA* (2021) 46 (4) 1002-1015 doi: 10.15237/gida.GD21018

*Yılmaz, M.S., Kutlu, N., Erdem, G.M., Şakıyan, Ö., İşçi, A. (2021). Extraction of phenolic compounds from hawthorn fruit (*Creataegus monogyna*) using microwave and ultrasound assisted methods. GIDA (2021) 46 (4) 1002-1015 doi: 10.15237/gida.GD21018*

ÖZ

Bu çalışmada, alıç meyvesinden mikrodalga (MDE) ve ultrases destekli ekstraksiyon (UDE) yöntemleri kullanılarak, fenolik maddeler ekstrakte edilmiştir. MDE yöntemi, farklı katı oranları, farklı ekstraksiyon süreleri ve farklı mikrodalga güçlerinde, UDE yöntemi ise, farklı katı oranları ve sonikasyon sürelerinde uygulanmıştır. Maserasyon yöntemi kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Maserasyon, MDE ve UDE yöntemleriyle elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde (TFM) miktarları ve renk değerleri belirlenmiştir. En yüksek TFM miktarları MDE, UDE ve maserasyon yöntemlerinde sırasıyla 9.31, 5.34 ve 3.00 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre MDE yöntemi ile elde edilen miktar, UDE ve maserasyona kıyasla sırasıyla 1.7 ve 3.1 kat daha fazladır. Bunun yanında MDE ile elde edilen L* değerlerinin daha düşük olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, MDE yönteminin, alıç meyvesinden fenolik madde ekstraksiyonu için en uygun yöntem olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Alıç, mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon, fenolik madde

**EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM HAWTHORN FRUIT
(*Creataegus monogyna*) USING MICROWAVE AND ULTRASOUND ASSISTED
METHODS**

ABSTRACT

In this study, phenolic compounds were extracted from hawthorn fruit using microwave (MAE) and ultrasound assisted extraction (UAE) methods. The MAE was applied at different solids ratios, different extraction times and different microwave powers. UAE was applied at different solids ratios

* Yazışmalardan sorumlu yazar/*Corresponding author*;

✉ merveyilmaz@ankara.edu.tr

☎ (+90) 312 203 3300/3642

☎ (+90) 312 317 8711

Merve Silanur Yılmaz; ORCID no:0000-0002-3184-1780

Naciye Kutlu; ORCID no: 0000-0002-4075-8823

Gizem Melissa Erdem; ORCID no:0000-0002-7855-9096

Özge Şakıyan; ORCID no: 0000-0002-0778-8211

Aslı İşçi; ORCID no: 0000-0002-8319-0414

and sonication times. The maceration method was used as the control group. Total phenolic content (TPC) and color values of the extracts were examined. The highest values of TPC were determined as 9.31, 5.34, and 3.00 mg GAE/g dry matter in MAE, UAE, and maceration methods, respectively. Based on these results, it was found that the TPC value of the MAE method was 1.7 and 3.1-fold more than those of UAE and maceration, respectively. In addition, it was observed that L* values of MAE samples were lowest among others. It was concluded that the MAE is the most suitable method for the extraction of phenolic compounds from hawthorn fruit.

Keywords: Hawthorn, microwave assisted extraction, ultrasound assisted extraction, phenolic compounds

GİRİŞ

Alıç, *Rosaceae* familyasının *Crataegus* cinsindeki tüm bitki türlerinin ortak adıdır. Türkiye’de birçok bölgede özellikle dağlık alanlarda yetişmektedir (Seçmen vd., 1989). Her ne kadar Türkiye’de yaygın olarak tüketilmesede, Çin ve Avrupa ülkelerinde bitkisel ilaç olarak, çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Chang vd., 2002).

Alıç meyvesi, insan sağlığına yararlı olan mineralleri içermektedir. Bu minerallerin başında Ca, P, K, Fe ve Mg gelmektedir. Bunların yanında alıç meyvesi, önemli derecede karbonhidrat, şeker ve vitamin içermektedir (Özcan vd., 2005). Ek olarak alıç meyvesi, apijenin, kuersetin, klorojenik asit, gallik asit, vitesin, kumarik asit, kafeik asit, narinjenin ve kratenasin gibi fenolik maddeler bakımından da oldukça zengindir (Çoklar vd., 2018). Fenolik maddeler, insan sağlığı açısından oldukça önemli olan sekonder metabolitlerdir (Lapornik vd., 2005). Bu maddeler, bitki büyümesi ve üremesinde patojenlere karşı etkili bir koruma sağlamakta, meyve ve sebzelerin renk ve duyuşal özelliklerine katkıda bulunmaktadır (Popa vd., 2008; Ignat vd., 2011).

Geleneksel ekstraksiyon yöntemleri (maserasyon, sokslet, perkolasyon vb.), yüksek enerji tüketimi, uzun süren ekstraksiyon süresi, biyoaktif bileşiklerin degradasyonu ve yüksek çözücü tüketimi gibi dezavantajlara sahiptirler. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak ve aynı zamanda ekstraksiyon verimini arttırmak için, mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon gibi yenilikçi yöntemlerin kullanımı son yıllarda önemli derecede artmıştır (Chemat vd., 2011; Kaderides vd., 2019).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, gıda materyallerinden fenolik maddelerin eldesinde, son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalara sahip olan mikrodalğanın çalışma prensibi, iyonik iletim ve dipol rotasyona dayanmaktadır (Xia vd., 2013; Nitthiyah vd., 2017; Meda vd., 2017). İyonik iletim, iyonların elektrik alanının etkisi altında göç etmesine ve ısı üretme kabiliyeti olarak tanımlanmaktadır. Dipol rotasyon ise su moleküllerinin yüksek frekansta elektrik alanı içinde hareketine bağlı olarak, materyal içinde ısı oluşturmaya dayanmaktadır (Fanari vd., 2020). Mikrodalga destekli ekstraksiyonda, elektromanyetik dalgalar ekstraksiyon işlemi sırasında çözücü ve örneğin ısınmasını sağlar. Bu yöntemde, ekstraksiyon işlemi için seçilen çözücünün mikrodalga enerjisini absorblama yeteneği ve örnek ile çözelti arasındaki etkileşim çok önemlidir (Lopez-Avila, 1999). Geleneksel yöntemlerle yapılan ekstraksiyonlar ile kıyaslandığında, mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi, düşük çözücü tüketimi, zaman tasarrufu ve yüksek ekstraksiyon verimi gibi avantajlara sahiptir (Lovrić vd., 2017). Son zamanlarda yapılan çalışmalar incelendiğinde, mikrodalga destekli ekstraksiyonun, muz kabuklarından pektin eldesinde (Swamy ve Muthukumarappan, 2017), kurutulmuş paçuli yaprakları ve adaçayından uçucu yağ eldesinde (Kusuma vd., 2018; Wei vd., 2018), kahve telvesi ve nar kabuklarından polifenol eldesinde (Kaderides vd., 2019; Pettinato vd., 2019) kullanıldığı görülmüştür.

Isıl olmayan gıda muhafaza yöntemleri kullanımıyla, gıdalarda ısıl işlem ile birlikte ortaya çıkan kalite kayıplarının azaltılması amaçlanmaktadır. Ultrases destekli ekstraksiyon da bu amaçla kullanılan yöntemlerden biridir

(Baysal ve İçier, 2012). Ultrases, ses dalgalarının saniyede 20.000 ve daha fazla titreşmesi sonucu oluşmaktadır. Gıda teknolojisinde kullanılan ultrases ekipmanları 20 kHz-10 MHz frekans aralığında değişmektedir (Knorr vd., 2004). Ultrases destekli ekstraksiyon işlemi kavitasyon olgusu ile ilişkilendirilmektedir. Ultrases etkisindeki sıvılarda, mikro kabarcıkların oluşması, genişmesi ve patlaması sonucu ortaya çıkan bu olaya "akustik kavitasyon" adı verilmektedir (Piyasena vd., 2003). Patlama ile kabarcığın etrafında, 5500 °C'ye ve 50 MPa ulaşan çok yüksek sıcaklık ve basınç bölgeleri oluşmaktadır (Pico, 2013). Ultrases teknolojisi ile oluşan bu kavitasyon nedeniyle, materyalin hücre duvarları parçalanmakta, çözücünün ürüne penetrasyonu artmakta ve böylece kütle transferi olumlu yönde etkilenmektedir (Awad vd., 2012). Son zamanlarda yapılan çalışmalar incelendiğinde, ultrases destekli ekstraksiyonun, kakao çekirdeği (Quiroz-Reyes vd., 2013), siyah çay (Both vd., 2014), mor tatlı patates (Zhu vd., 2016), patates kabukları (Kumari vd., 2017) ve portakal posası (Ghasempour vd., 2019) gibi farklı materyallerde biyoaktif bileşiklerin eldesinde kullanıldığı görülmüştür.

Bu çalışmada, alıç meyvesinden (*Crataegus monogyna*) farklı proses koşullarında (güç, süre ve katı oranı) mikrodalga ve ultrases destekli yöntemler kullanılarak, fenolik maddeler ekstrakte edilmiştir. Maserasyon yöntemi ise kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Farklı yöntemler ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları ve renk değerleri karşılaştırılmış olup, sonuçlara göre alıç meyvesi için en uygun ekstraksiyon yöntemi belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan alıç meyvesi (*Crataegus monogyna*), hasat döneminde (Eylül ve Ekim ayları), Ankara ilinin Gölbaşı ilçesindeki, yerel üreticiden temin edilmiştir. Alıç meyvesi, öncelikle sap ve çekirdeklerinden ayrılmış, daha sonra maksimum 5 mm çapında olacak şekilde, küçük parçalar haline getirilmiştir. Depolama sırasında dışarıdan nem almaması için, 18x23 ebatlarındaki vakum poşetlere konularak, vakum

paketlenme (Stilea, VM 501, Çin) yapılmış ve analizlerde kullanılmak üzere -18 °C'de muhafaza edilmiştir. Alıç meyvesinin başlangıç nem değeri kızılötesi nem tayin cihazı (MA 150, Sartorius, Almanya) ile belirlenmiş ve %68±0.92 olarak ölçülmüştür.

Maserasyon

Maserasyon yönteminde iki farklı katı oranında (%5 w/v ve %10 w/v) hazırlanan örnekler 24 saat boyunca 25 °C'de bekletilmiştir (Xu vd., 2017). Çözücü olarak su kullanılmış ve bu yöntem ile elde edilen sonuçlar, kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen ekstraktlar, amber renkli şişelere konulmuş olup, fiziksel ve kimyasal analizler yapıncaya kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

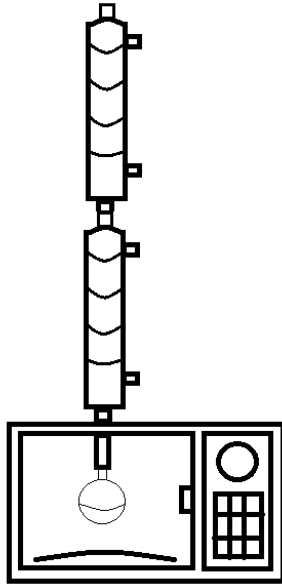
Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Alıç meyvesi, ev tipi bir mikrodalga fırınına 3 kademeli bir soğutucu entegre edilerek oluşturulan mikrodalga ekstraksiyon sistemi (GMOM 25, General Electric, ABD) ile ekstrakte edilmiştir. Kullanılan mikrodalga ekstraksiyon sisteminin şematik diyagramı Şekil 1'de verilmiştir. Çözücü olarak su kullanılmıştır ve çalışmada kullanılan proses koşulları ön denemeler ile belirlenmiştir. Ekstraksiyon, farklı katı oranı (%5 w/v ve %10 w/v), farklı mikrodalga gücü (180, 270 ve 360 W) ve farklı ekstraksiyon sürelerinde (5, 10, 20, 30 dk.) uygulanmıştır. Örnekler 30 mL çözücü içerisinde balonjojede karıştırılarak mikrodalga fırına konulmuştur. Mikrodalga ekstraksiyonu sonunda, ekstraktların sıcaklık değerleri 80±4 °C olarak ölçülmüştür. İşlem sonrasında örnek+çözücü karışımı, kaba filtre kağıdından süzülerek, katı partiküllerinden ayrılmıştır. Elde edilen ekstraktlar, amber renkli şişelere konulmuş olup, fiziksel ve kimyasal analizler yapıncaya kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

Ultrases destekli ekstraksiyon

Ekstraksiyon, farklı katı oranı (%5 w/v ve %10 w/v) ve farklı sonikasyon sürelerinde (1, 10, 20, 30, 50, 70 dk.), 50 °C sıcaklıktaki ultrases banyoda (RK 100 H, Bandelin Sonorex, Almanya) yapılmıştır. Yapılan ön denemelerde, çalışmada kullanılan ultrasonik banyonun 50 °C civarında

oldukça stabil kaldığı gözlenmekle birlikte, sıcaklık artışı olmaması adına gerektiği durumlarda, 50 °C'de sabit tutabilmek için gerektiğinde banyoya buz eklemesi yapılmıştır. Ultrasonik banyo içine çözücü hacmi 100 mL olacak şekilde örnek yerleştirilmiştir. Çözücü olarak su kullanılmıştır. İşlem sonrasında örnek+çözücü karışımı, kaba filtre kağıdından süzülerek katı partiküllerden ayrılmıştır. Elde edilen ekstraktlar, amber renkli şişelere konulmuş olup, fiziksel ve kimyasal analizler yapıncaya kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Mikrodalga ekstraksiyon sisteminin şematik diyagramı
Figure 1. Schematic diagram of microwave-assisted extraction

Nem tayini

Alıç örneklerinin nem içeriği, kızılötesi nem tayin cihazı (MA150, Sartorius, Germany) ile belirlenmiştir.

Toplam fenolik madde (TFM) miktarının belirlenmesi

Farklı ekstraksiyon yöntemleri sonunda elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları, Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlenmiştir (Çoklar ve Akbulut, 2016). 1 mL ekstrakt tüpe alınarak, üzerine 5 mL Folin-Ciocalteu çözeltisi (1:10) ve 4 mL sodyum

karbonat- Na_2CO_3 (%7.5) çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan tüpler oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda 2 saat bekletilmiştir. Süre sonunda UV-VIS spektrofotometrede (Lambda35, Perkin Elmer, ABD) 765 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Gallik asit referans madde olarak kullanılmıştır ve sonuçlar mg Gallik Asit Eşdeğeri (GAE)/g kuru madde olarak verilmiştir. Analizler iki tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Renk değerlerinin belirlenmesi

Farklı ekstraksiyon yöntemleri sonunda elde edilen ekstraktların renk değerleri, CIE sistemi esasına dayanarak, kolorimetre yardımıyla (Konica Minolta, C-400, Japonya) ölçülmüştür. Sıvı fazda bulunan ekstraktların renk ölçümleri için özel yapılmış ölçüm kabı kullanılmıştır. Ölçüm parametrelerinden L^* değeri açıklık-koyuluk, a^* değeri kırmızılık-yeşillik ve b^* değeri sarılık-mavilik, kroma değeri (C^*) matlık-canlılık, Hue değeri (h°) renk açısı ve ΔE değeri toplam renk farkı hakkında bilgi vermektedir (Akbulut ve Çoklar, 2008).

İstatistiksel analiz

Bulgulara yönelik istatistiksel analizler, MINITAB 17.1.1.0 (Minitab, State Collage, PA, ABD) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bağımlı değişkenler arasındaki farklılık, ANOVA-Tukey testi ile $P \leq 0.05$ önem derecesine göre belirlenmiştir.

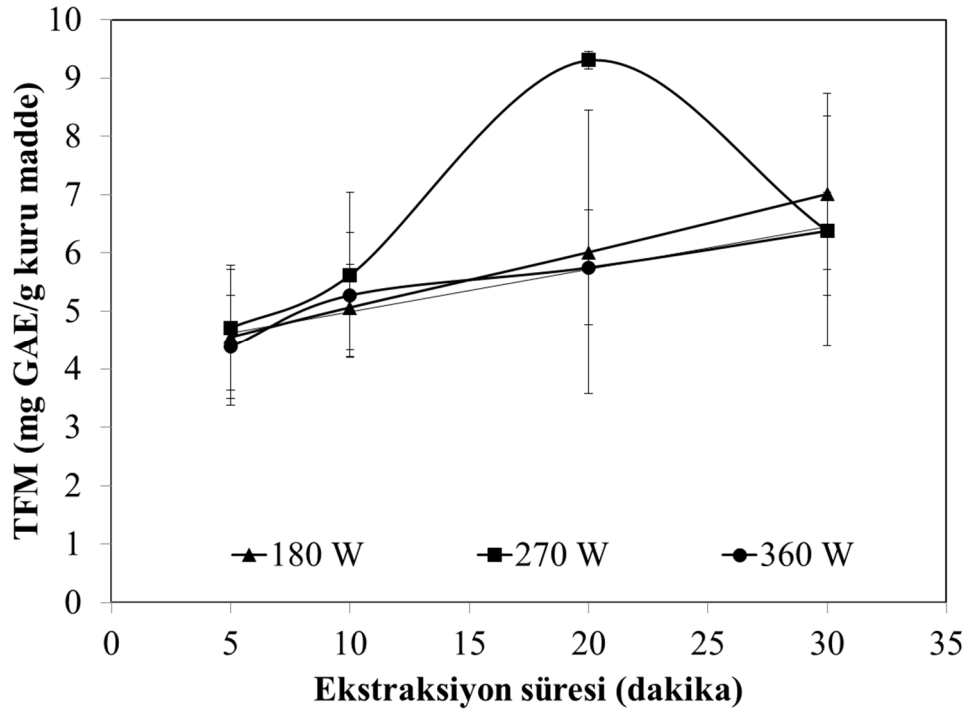
SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Toplam fenolik madde miktarı

Farklı mikrodalga güçlerinde (180, 270 ve 360 W), ekstraksiyon sürelerinde ve katı oranlarında (%5 ve %10), mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların TFM miktarlarındaki değişim Şekil 2 ve Şekil 3'te verilmiştir. %5 katı oranı için aynı ekstraksiyon sürelerinde, artan mikrodalga gücüne bağlı olarak, elde edilen TFM miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Ayrıca, %5 katı oranında ve 180 W mikrodalga gücünde işlem gören örnekler için, ekstraksiyon süresindeki değişimin TFM miktarı üzerine istatistiksel olarak bir etkisi görülmemiştir ($P > 0.05$). Bunun yanı sıra, %5 katı oranında, 270 ve 360 W mikrodalga güçlerinde yapılan ekstraksiyon işlemi sonucu elde

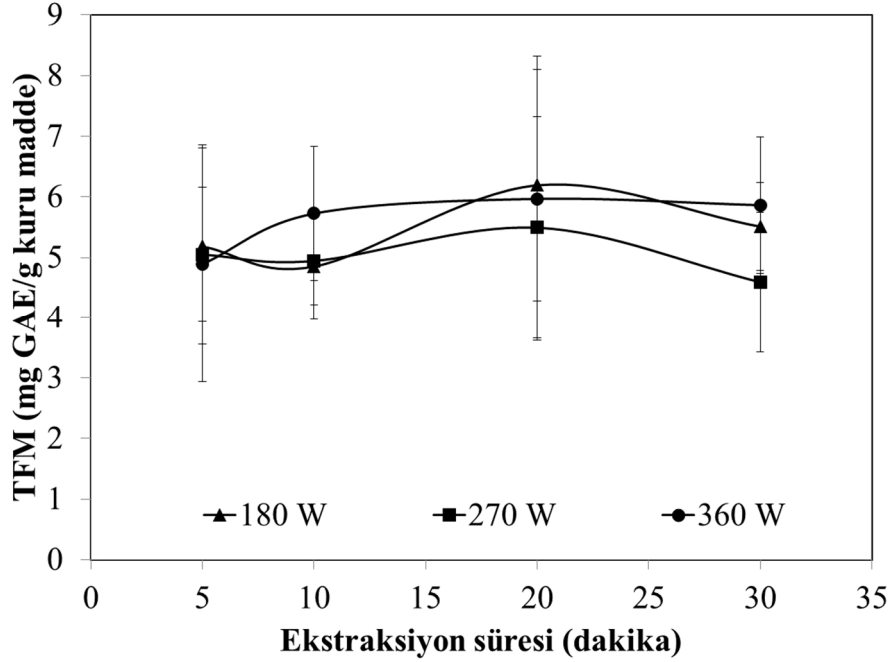
edilen ekstraktlarda ise ekstraksiyon süresindeki artışın TFM miktarı üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). %10 katı oranında ise, aynı ekstraksiyon süresinde mikrodalga gücündeki değişimin TFM miktarı üzerine istatistiksel olarak önemli bir etki göstermediği bulunmuştur ($P > 0.05$). Her iki katı oranı için (%5 ve %10) TFM miktarları incelendiğinde, en yüksek değer (9.31±0.15 mg GAE/g kuru madde), %5 katı oranında, mikrodalga gücünün 270 W ve ekstraksiyon süresinin 20 dakika olduğu proses koşullarında elde edildiği tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak, katı oranı ve mikrodalga gücü interaksiyonunun toplam fenolik madde miktarı üzerine etkili olduğu ($P < 0.05$) görülmüştür. Bu bulguya göre, katı başına düşen çözücü miktarı artırıldığında, TFM eldesinde de önemli bir artış olduğu söylenebilir. Çözücü miktarındaki artış ile hücrelere daha fazla çözücü nüfuz etmekte ve

dolayısı ile daha yüksek miktarda TFM eldesi mümkün olmaktadır ve bu durum birçok araştırmacı tarafından da rapor edilmiştir. Örneğin, Alifakı (2019) gilaburu meyvesinden farklı mikrodalga gücü (90-450 W), farklı ekstraksiyon süresi (1-120 dakika) ve farklı katı:çözücü oranında (5:100-15:100 g/mL), toplam fenolik madde ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir. En yüksek TFM miktarı (yaklaşık 70 mg/g kuru madde), çözücü miktarının en yüksek olduğu 5:100 g/mL katı:çözücü oranında elde edilmiştir. Yeşilören Akal (2019) siyah havuç posasından mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile fenolik bileşik eldesi üzerine çalışmıştır. Sonuçta bizim çalışmamıza benzer olarak, kullanılan birim katı başına düşen çözücü miktarının 2 katına çıkarılması ile TFM ekstraksiyonunda %17 artış sağlandığı rapor edilmiştir.



Şekil 2. MDE ile elde edilen örneklerin TFM miktarının mikrodalga gücü (180, 270 ve 360 W) ve ekstraksiyon süresi (5, 10, 20 ve 30 dk.) ile değişimi (%5 katı oranında)

Figure 2. Variation of TPC of MAE samples with respect to microwave power (180, 270 and 360 W) and extraction time (5, 10, 20 ve 30 min.) (for 5% solid ratio)



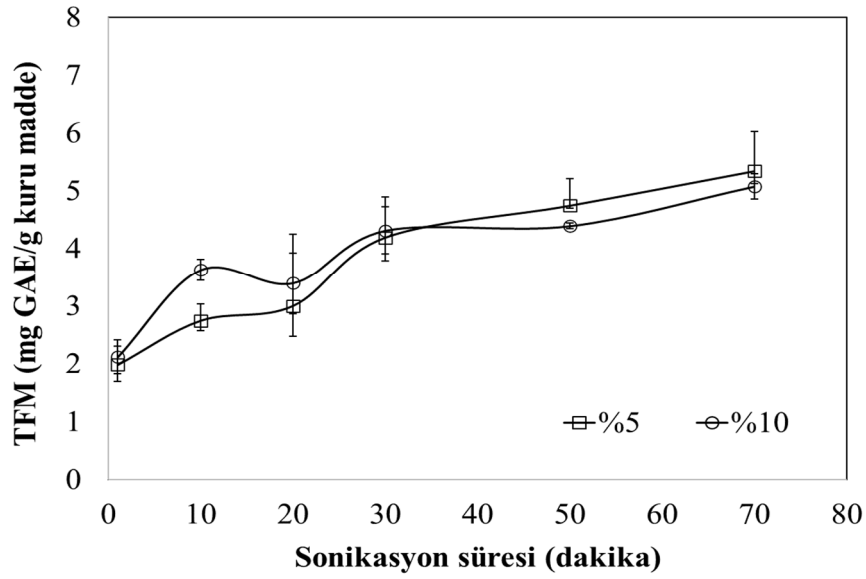
Şekil 3. MDE ile elde edilen örneklerin TFM miktarının mikrodalga gücü (180, 270 ve 360 W) ve ekstraksiyon süresi (5, 10, 20 ve 30 dk.) ile değişimi (%10 katı oranında)

Figure 3. Variation of TPC of MAE samples with respect to microwave power (180, 270 and 360 W) and extraction time (5, 10, 20 ve 30 min.) (for 10% solid ratio)

Özbek vd. (2018) yapmış oldukları çalışmada, farklı mikrodalga güçlerinde (170-280 W) fıstık kabuğundan toplam fenolik madde ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir ve optimum verimin elde edildiği mikrodalga gücünü, 250 W olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada da yüksek mikrodalga gücünün TFM miktarı üzerine pozitif etkisi görülmemiştir.

Ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerin TFM miktarlarının, farklı sonikasyon süreleri (1, 10, 20, 30, 50 ve 70 dk.) ve katı oranları (%5 ve %10) ile değişimi Şekil 4'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, iki farklı katı oranında da sonikasyon süresinin artmasıyla TFM miktarının arttığı gözlenmiştir ($P < 0.05$). Bu durum artan sonikasyon süresi ile daha fazla fenolik maddenin çözünerek çözücüye geçmesinden kaynaklanmaktadır. UDE yönteminde, en yüksek toplam fenolik madde miktarı (5.34 ± 0.68 mg GAE/g kuru madde), katı oranının %5 ve sonikasyon süresinin 70 dakika olduğu proses koşullarında elde edilmiştir. Her iki

katı oranında da yapılan ekstraksiyon işleminde, 30. dakikadan sonra MDE yöntemi ile elde edilen sonuçlara benzer olarak, birim katı başına düşen çözücü miktarı arttıkça, TFM miktarının arttığı görülmüştür, ancak bu artış istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Bu sonuçtan yola çıkılarak çözücü oranındaki artışın, ekstraksiyon hızı üzerinde etkili olduğu söylenebilir. Alifakı vd. (2018) gilaburu meyvesinde farklı katı:çözücü oranlarında (5:100, 10:100, 15:100) ultrases destekli ekstraksiyon ile TFM eldesi üzerine çalışmışlardır. Çalışma sonucunda, bu çalışmada bulunan sonuçlara benzer olarak, birim katı başına düşen çözücü miktarının artması ile TFM veriminin arttığını bildirmişlerdir. Khan vd. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, portakaldan maserasyon ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleri ile polifenoller ekstrakte edilmiştir. Çalışma sonucunda ise TFM miktarı ve ekstraksiyon veriminin ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile daha yüksek olduğu rapor edilmiştir.



Şekil 4. UDE ile elde edilen örneklerin TFM miktarının sonikasyon süresi (1, 10, 20, 30, 50 ve 70 dk.) ve katı oranı (%5 ve %10) ile değişimi

Figure 4. Variation of TPC of UAE samples with respect to sonication time (1, 10, 20, 30, 50 and 70 min.) and solid ratios (5% and 10%)

MDE ve UDE yöntemleri ile edilen en yüksek TFM miktarları sırası ile 9.31 ± 0.15 (katı oranı: %5, mikrodalga gücü: 270 W, süre: 20 dakika) ve 5.34 ± 0.68 mg GAE/g kuru madde (katı oranı: %5, süre: 70 dakika) olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise TFM miktarı %5 katı oranı için 3.00 ± 0.10 ; %10 katı oranı için 2.49 ± 0.15 mg GAE/g kuru madde olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre, hem elde edilen TFM miktarı hem de ekstraksiyon süresi açısından MDE yönteminin, maserasyon ve UDE yöntemine göre daha iyi olduğu söylenebilir. MDE yönteminin veriminin yüksek olmasının nedeni mikrodalgaların hacimsel ısıtma özelliğinde olmasıdır. Aynı zamanda MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktlarda ölçülen son sıcaklığın (~ 80 °C), maserasyon (25 °C) ve UDE (50 °C) yöntemine göre daha yüksek olmasından da kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu sonuçlara benzer olarak Dahmoune vd. (2014) sakız ağacı yapraklarından, Radojkovic vd. (2018) karadut yapraklarından, Baltacıoğlu vd. (2019) şeftali posasından fenolik maddelerin ekstraksiyonu için MDE ve UDE yöntemlerini kullanmışlar ve MDE yöntemi ile daha yüksek TFM ekstrakte

edildiğini bildirmişlerdir. Pan vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, yeşil çay yapraklarından çay polifenollerini ve çay kateşinlerini, maserasyon, mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleri ile ekstrakte etmişlerdir. Çalışma sonucunda, MDE yönteminin, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon verimi ve ekstrakte edilen polifenol ile kateşin miktarları açısından daha etkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Renk

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlara ait renk değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktlardaki L^* değerleri üzerine katı oranının ve işlem süresinin istatistiksel olarak etkili olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). MDE yöntemi ile elde edilen örneklerde, katı oranındaki artışla birlikte L^* değerlerinin azaldığı (ekstraktların renklerinin koyulaştığı) görülmüştür. Maksimum TFM miktarı en açık renkli ekstraktta (%5 katı oranında) elde edilmiş olması çelişkili gibi görünse de bu durum toplam fenolik bileşik miktarı sonuçlarının, kuru madde

Alıç (*Cretegus monogyna*) meyvesinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu

üzerinden hesaplanmasından kaynaklanmaktadır. Başka bir deyişle, çözücü miktarının fazla olması örneklerin renginin seyrelemesine ve daha açık renkte olmasına sebep olmuştur. a* değerleri üzerine katı oranı, süre ve mikrodalga gücünün etkili olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$). b* değerleri ise sadece değişen katı oranından etkilenmiştir ($P > 0.05$). C* ve ΔE değerleri her iki katı oranı içinde

ayrı ayrı incelendiğinde, aynı sürelerde artan mikrodalga gücüne bağlı olarak aralarındaki farkın istatistiksel açıdan etkili olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). h° değeri için ise %5 katı oranında, 270 ve 360 W mikrodalga güçlerinde, %10 katı oranında ise sadece 360 W mikrodalga gücünde artan süreye bağlı olarak aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamsız olduğu görülmüştür ($P > 0.05$).

Çizelge 1. MDE ile elde edilen ekstraktların L*, a*, b*, C*, h° ve ΔE değerlerinin farklı mikrodalga güçleri (180, 270 ve 360 W), ekstraksiyon süreleri (5, 10, 20 ve 30 dk.) ve katı oranları (%5 ve %10) ile değişimi

Table 1. Variation of L*, a*, b*, C*, h° and ΔE values of MAE samples with respect to microwave power (180, 270 and 360 W), extraction time (5, 10, 20 ve 30 min.) and solid ratios (5% and 10%)

Renk değerleri Color values	Katı oranı Solid ratio	Süre (dk.) Time (min.)	180 W	270 W	360 W
L*	%5	5	33.35±0.72 ^{a,A}	31.42±0.36 ^{a,AB}	31.40±0.48 ^{a,A}
		10	30.64±0.00 ^{a,A}	30.24±0.62 ^{a,B}	31.20±0.17 ^{a,A}
		20	31.03±0.40 ^{a,A}	30.77±0.20 ^{a,AB}	30.29±0.51 ^{a,A}
		30	31.01±1.42 ^{a,A}	32.03±0.10 ^{a,A}	31.95±1.98 ^{a,A}
	%10	5	31.51±1.19 ^{a,A}	27.84±0.36 ^{b,A}	28.85±0.60 ^{ab,A}
		10	28.21±0.58 ^{a,A}	27.54±1.03 ^{a,A}	29.48±1.82 ^{a,A}
		20	28.29±1.12 ^{a,A}	29.28±1.22 ^{a,A}	29.28±1.72 ^{a,A}
		30	28.98±0.31 ^{a,A}	27.42±0.47 ^{a,A}	27.60±0.88 ^{a,A}
a*	%5	5	-0.32±0.05 ^{a,B}	-0.12±0.06 ^{a,A}	-0.12±0.06 ^{a,A}
		10	-0.15±0.00 ^{b,AB}	0.01±0.03 ^{a,A}	-0.14±0.05 ^{b,A}
		20	-0.03±0.11 ^{a,A}	0.02±0.09 ^{a,A}	0.04±0.02 ^{a,A}
		30	-0.07±0.02 ^{a,AB}	-0.07±0.08 ^{a,A}	-0.12±0.23 ^{a,A}
	%10	5	-0.41±0.01 ^{c,B}	-0.12±0.00 ^{b,B}	-0.08±0.01 ^{a,A}
		10	-0.04±0.00 ^{a,A}	0.05±0.05 ^{a,B}	-0.13±0.24 ^{a,A}
		20	0.17±0.08 ^{a,A}	0.12±0.10 ^{a,A}	-0.09±0.24 ^{a,A}
		30	0.17±0.09 ^{a,A}	0.23±0.02 ^{a,A}	0.19±0.07 ^{a,A}
b*	%5	5	5.31±0.75 ^{a,A}	5.07±0.30 ^{a,A}	5.21±0.52 ^{a,A}
		10	6.15±0.00 ^{a,A}	5.59±0.28 ^{a,A}	5.64±0.78 ^{a,A}
		20	5.78±1.17 ^{a,A}	6.49±1.30 ^{a,A}	6.00±0.38 ^{a,A}
		30	6.16±0.20 ^{a,A}	6.26±0.50 ^{a,A}	6.19±0.30 ^{a,A}
	%10	5	7.03±0.87 ^{a,A}	6.29±0.64 ^{a,A}	6.31±0.66 ^{a,A}
		10	6.50±0.71 ^{a,A}	5.91±0.03 ^{a,A}	6.94±0.40 ^{a,A}
		20	6.91±0.45 ^{a,A}	5.76±0.10 ^{a,A}	6.51±0.78 ^{a,A}
		30	6.49±0.08 ^{a,A}	4.98±0.28 ^{a,A}	6.17±0.69 ^{a,A}
C*	%5	5	5.32±0.75 ^{a,A}	5.07±0.31 ^{a,A}	5.21±0.51 ^{a,A}
		10	6.13±0.04 ^{a,A}	5.59±0.28 ^{a,A}	5.64±0.78 ^{a,A}
		20	5.78±1.17 ^{a,A}	6.49±1.30 ^{a,A}	6.00±0.38 ^{a,A}
		30	6.16±0.20 ^{a,A}	6.26±0.50 ^{a,A}	6.19±0.30 ^{a,A}
	%10	5	7.04±0.87 ^{a,A}	6.29±0.64 ^{a,A}	6.31±0.66 ^{a,A}
		10	6.50±0.71 ^{a,A}	5.91±0.03 ^{a,A}	6.94±0.40 ^{a,A}
		20	6.91±0.45 ^{a,A}	5.76±0.10 ^{a,A}	6.51±0.79 ^{a,A}
		30	6.49±0.09 ^{a,A}	4.99±0.28 ^{a,A}	6.17±0.69 ^{a,A}

Çizelge 1. devam
Table 1. continue

Renk değerleri <i>Color values</i>	Katı oranı <i>Solid ratio</i>	Süre (dk.) <i>Time (min.)</i>	180 W	270 W	360 W
h°	%5	5	93.39±0.11 ^{a,A}	91.32±0.60 ^{a,A}	91.26±0.83 ^{a,A}
		10	91.36±0.01 ^{a,AB}	89.86±0.27 ^{b,A}	91.38±0.27 ^{a,A}
		20	90.19±1.02 ^{a,B}	89.72±0.77 ^{a,A}	89.72±0.18 ^{a,A}
		30	90.59±0.19 ^{a,B}	90.54±0.70 ^{a,A}	91.19±2.12 ^{a,A}
	%10	5	93.28±0.47 ^{a,A}	91.05±0.11 ^{b,A}	90.71±0.18 ^{b,A}
		10	90.29±0.07 ^{a,B}	89.54±0.51 ^{a,AB}	91.00±1.89 ^{a,A}
		20	88.66±0.61 ^{a,B}	88.83±0.93 ^{a,B}	90.63±1.98 ^{a,A}
		30	88.59±0.79 ^{a,B}	87.43±0.06 ^{a,B}	88.33±0.43 ^{a,A}
ΔE	%5	5	2.59±0.96 ^{a,A}	3.61±0.47 ^{a,A}	3.71±0.70 ^{a,A}
		10	4.88±0.02 ^{a,A}	4.88±0.67 ^{a,A}	4.15±0.63 ^{a,A}
		20	4.44±0.45 ^{a,A}	5.07±1.05 ^{a,A}	5.09±0.17 ^{a,A}
		30	4.67±1.15 ^{a,A}	4.06±0.35 ^{a,A}	4.17±1.37 ^{a,A}
	%10	5	4.34±1.40 ^{a,A}	6.83±0.58 ^{a,A}	5.92±0.84 ^{a,A}
		10	6.58±0.84 ^{a,A}	6.97±0.98 ^{a,A}	5.81±1.22 ^{a,A}
		20	6.71±1.19 ^{a,A}	5.31±1.16 ^{a,A}	5.75±1.04 ^{a,A}
		30	5.91±0.32 ^{a,A}	6.84±0.39 ^{a,A}	7.04±0.55 ^{a,A}

Aynı kolonda farklı harfler (a, b vd.) güce göre istatistiksel olarak farklıdır ($P \leq 0.05$). Aynı kolonda farklı harfler (A, B vd.) süreye göre istatistiksel olarak farklıdır ($P \leq 0.05$).

Columns with different letters (a, b i.e.) are significantly different ($P \leq 0.05$) with respect to power. Columns with different letters (A, B i.e.) are significantly different ($P \leq 0.05$) with respect to time.

Ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlara ait renk değerleri ise Çizelge 2'de verilmiştir. L* değerlerinin sabit katı oranında, artan ekstraksiyon süresine bağlı olarak istatistiksel açıdan önemli derecede değişmediği bulunmuştur ($P > 0.05$). Aynı katı oranlarında, artan ekstraksiyon süresine bağlı olarak elde edilen a* değerleri azalırken, b* değerlerinde ise artış olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). a* değerlerindeki bu azalış kırmızılık değerinin azaldığını göstermektedir. Ruiz-Rodríguez vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada, alç meyvesinin yüksek antosiyanin içeriğine (en yüksek pelargonidin-3-glukozit) sahip olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızdaki a* değerlerindeki azalışın sebebi, ekstakte edilen kırmızı renkli antosiyaninlerin, artan ekstraksiyon süresiyle degradasyona uğraması olabilir. Bunun yanı sıra, artan süre ile TFM miktarında artış olması kırmızı renkli fenoliklerin dışında başka fenolik maddelerin ekstrakte edilmesiyle ilişkilendirilebilir. C* değerlerinin aynı sürelerdeki artan katı oranına bağlı olarak genellikle arttığı ve bu artışın istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Bu durum yukarıda

belirtildiği gibi artan ekstraksiyon süresi ile birlikte fenolik maddelerin ekstraksiyonun artmasından kaynaklanabilir. Her iki katı oranı için ΔE değerleri incelendiğinde ise farklı ekstraksiyon süreleri arasındaki farklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$). Bunun yanında h° değerlerine bakıldığında ise %5 katı oranı için artan sürenin etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunurken ($P < 0.05$), %10 katı oranı için artan sürenin istatistiksel olarak anlamsız olduğu görülmüştür ($P > 0.05$).

Kontrol grubuna ait %5 ve %10 katı oranı için sırasıyla L* değerleri 34.32±0.16 ve 34.08±0.02; a* değerleri -0.30±0.04 ve -0.34±0.01; b* değerleri 2.93±0.03 ve 3.55±0.02; C* değerleri 2.95±0.03 ve 3.56±0.02; h° değerleri ise 95.87±0.65 ve 95.47±0.19 olarak bulunmuştur. Maserasyon, MDE ve UDE yöntemleri ile elde edilen renk değerleri karşılaştırıldığında, her iki katı oranında da, maserasyon ve UDE yöntemi ile elde edilen örneklerin L* değerleri daha fazla bulunmuştur. Diğer bir ifadeyle, maserasyon ve UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların daha açık bir renge sahip olduğu görülmüştür. Bu

Alıç (*Cretegus monogyna*) meyvesinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu

bulgu, maserasyon ve UDE yöntemi ile elde edilen TFM miktarının, MDE yöntemi ile elde edilen miktara oranla daha az olması ile örtüşmektedir.

Çizelge 2. UDE ile elde edilen ekstraktların L*, a*, b*, C*, h° ve ΔE değerlerinin farklı sonikasyon süreleri (1, 10, 20, 30, 50 ve 70 dk.) ve katı oranları (%5 ve %10) ile değişimi

Table 2. Variation of L*, a*, b*, C*, h° and ΔE values of UAE samples with sonication time (1, 10, 20, 30, 50 and 70 min.) and solid ratios (5% and 10%)

Renk değerleri Color values	Süre (dk.) Time (min.)	Katı Oranı Solid ratio	
		%5	%10
		5%	10%
L*	1	35.15±0.20 ^{a,A}	34.17±0.42 ^{a,A}
	10	33.82±0.32 ^{a,A}	33.00±0.63 ^{a,A}
	20	34.53±0.10 ^{a,A}	33.15±1.87 ^{a,A}
	30	35.02±0.02 ^{a,A}	34.07±0.46 ^{a,A}
	50	34.51±0.06 ^{a,A}	34.16±0.51 ^{a,A}
	70	34.58±0.17 ^{a,A}	34.03±0.05 ^{a,A}
a*	1	-0.02±0.00 ^{a,A}	-0.18±0.04 ^{a,B}
	10	-0.13±0.04 ^{ab,A}	-0.28±0.04 ^{ab,A}
	20	-0.17±0.00 ^{ab,A}	-0.26±0.17 ^{ab,A}
	30	-0.26±0.02 ^{b,A}	-0.46±0.04 ^{ab,B}
	50	-0.27±0.02 ^{b,A}	-0.50±0.04 ^{b,B}
	70	-0.25±0.02 ^{b,A}	-0.52±0.03 ^{b,B}
b*	1	2.42±0.04 ^{b,B}	4.60±0.04 ^{b,A}
	10	4.43±0.01 ^{a,B}	6.62±0.54 ^{ab,A}
	20	4.14±0.00 ^{a,A}	6.10±0.88 ^{ab,A}
	30	4.33±0.00 ^{a,B}	6.67±0.58 ^{ab,A}
	50	4.56±0.22 ^{a,A}	6,51±0.53 ^{ab,A}
	70	4.81±0.05 ^{a,B}	6.83±0.12 ^{a,A}
C*	1	2.42±0.07 ^{b,B}	4.60±0.04 ^{b,A}
	10	4.43±0.02 ^{a,B}	6.63±0.54 ^{ab,A}
	20	4.14±0.01 ^{a,A}	6.11±0.87 ^{ab,A}
	30	4.34±0.01 ^{a,B}	6.69±0.58 ^{ab,A}
	50	4.57±0.45 ^{a,A}	6.52±0.53 ^{ab,A}
	70	4.82±0.11 ^{a,A}	6.85±0.12 ^{a,A}
h°	1	90.45±0.17 ^{b,B}	92.27±0.46 ^{a,A}
	10	91.67±0.99 ^{ab,A}	92.42±0.53 ^{a,A}
	20	92.34±0.09 ^{ab,A}	92.56±1.98 ^{a,A}
	30	93.43±0.65 ^{a,A}	93.99±0.65 ^{a,A}
	50	93.36±0.08 ^{a,B}	94.37±0.01 ^{a,A}
	70	92.96±0.52 ^{a,A}	94.32±0.16 ^{a,A}
ΔE	1	1.02±0.36 ^{a,A}	1.10±0.07 ^{a,A}
	10	1.65±0.22 ^{a,A}	3.27±0.72 ^{a,A}
	20	1.24±0.04 ^{a,A}	2.93±1.36 ^{a,A}
	30	1.57±0.01 ^{a,A}	3.14±0.58 ^{a,A}
	50	1.65±0.43 ^{a,A}	2.98±0.51 ^{a,A}
	70	1.91±0.15 ^{a,B}	3.29±0.12 ^{a,A}

Aynı kolonda farklı harfler (a, b vd.) süreye göre istatistiksel olarak farklıdır ($P \leq 0.05$). Aynı kolonda farklı harfler (A, B vd.) katı oranına göre istatistiksel olarak farklıdır ($P \leq 0.05$).

Columns with different letters (a, b i.e.) are significantly different ($P \leq 0.05$) with respect to time. Columns with different letters (A, B i.e.) are significantly different ($P \leq 0.05$) with respect to solid ratio.

Sonuç olarak bu çalışmada, MDE yönteminde, 180, 270 ve 360 W mikrodalga güçleri kullanılarak 5, 10, 20 ve 30 dakikalarda elde edilen TFM miktarları değerlendirildiğinde, birim katı madde miktarına düşen çözücü miktarı arttıkça TFM miktarında da artış görülmüştür. Başka bir deyişle, düşük katı oranına sahip örneklerde TFM miktarı daha yüksek bulunmuştur. MDE yöntemi ile alıç meyvesinin TFM miktarının 9.31 ± 0.15 mg GAE/g kuru madde değeri ile en yüksek olduğu koşullar, %5 katı oranı, 270 W mikrodalga gücü ve ekstraksiyon süresinin 20 dakika olduğu durumda elde edilmiştir. Bu durum 270 W gücünde 20. dakikadan sonra artan sıcaklıkla birlikte fenolik maddelerin zarar görmesi, daha kısa sürelerin ise fenolik maddelerin ekstraksiyonu için yetersiz kalması ile açıklanabilir. En düşük TFM miktarı ise %5 katı oranı, 360 W mikrodalga gücü ve ekstraksiyon süresinin 5 dakika olduğu koşullarda 4.39 ± 0.89 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur. UDE yönteminde alıç meyvesinin TFM miktarı en yüksek 5.34 ± 0.68 mg GAE/g kuru madde olarak %5 katı oranında ve sonikasyon süresinin 70 dakika olduğu koşullarda elde edilmişken, en düşük değer 1.98 ± 0.31 mg GAE/g kuru madde olarak, aynı katı oranında sonikasyon süresinin 1 dakika olduğu koşulda bulunmuştur. Kontrol grubunda ise alıç meyvesinde TFM değeri %5 katı oranı için 3.00 ± 0.10 ; %10 katı oranı için 2.49 ± 0.15 mg GAE/g kuru madde olarak tespit edilmiştir. Bu üç yöntemin TFM miktarları karşılaştırıldığında, MDE yöntemi ile maserasyona kıyasla 3 kat, UDE yöntemine göre yaklaşık %74 oranında daha yüksek TFM içeren ekstraktlar elde edilmiştir. Bunun yanı sıra, MDE yöntemi ile ekstraksiyon süresi, UDE yöntemine kıyasla 3.5 kat daha azalmıştır. Renk değerleri kıyaslandığında, TFM sonuçlarına paralel olarak, L^* değerinin MDE yönteminde daha düşük, yani daha koyu renk oluşturduğu belirlenmiştir. UDE yönteminde katı oranının artması a^* değerlerinin azalmasına, b^* değerlerinin ise artmasına neden olmuştur. Tüm bu veriler ışığında, MDE yönteminin alıç meyvesinden TFM ekstraksiyonu için daha uygun bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

MSY, NK ve GME deneylerin planlanması ile yapılışında görev almışlar ve taslak metni oluşturmuşlardır. OS ve Aİ danışman olarak çalışma fikrinin oluşmasında, deney tasarımının oluşturulmasında, verilerin değerlendirilmesinde ve taslağın kontrolünde/düzenlenmesinde görev almışlardır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışma sırasındaki desteklerinden dolayı Büşra Erdem, Bilge Deveci, Ayşe Bıyıklı, Seda Taşkın, Birgül Erbay, Gülce Kabasakaloğlu, Kübra Kayıhan ve Sanam Mustafaeva'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Akbulut, M., Çoklar, H. (2008). Physicochemical and rheological properties of sesame pastes (Tahin) processed from hulled and unhulled roasted sesame seeds and their blends at various levels. *J Food Process Eng*, 31: 488-502, <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2007.00162.x>.

Alifakı, Y.Ö., Şakıyan Demirkol, Ö., İsci Yakan, A. (2018). Gilaburu (*Viburnum Opulus* K.) Meyvesinden Fenolik Bileşiklerin Ultrason Destekli Ekstraksiyonu. *Gıda*, 43(5): 846-855, <https://doi.org/10.15237/gida.GD18069>.

Alifakı, Y.Ö. (2019). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyvesinden Yeni Yöntemlerle Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonu ve Gilaburu Tozunun Mikroenkapsülasyonu. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 291 s.

Awad, T.S., Moharram, H.A., Shaltout, O.E., Asker, D., Youssef, M.M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Res Int*, 48: 410–427, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004>.

Baltacıoğlu, H., Şahin, E. M., Karadağ, E.D. (2019). Şeftali Posasından Ultrason ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Yöntemleriyle Fenolik

- Bileşiklerin Eldesi. *ÖHÜ Müh. Bilim. Derg.* 8(2): 875-881, <https://doi.org/10.28948/ngumuh.570250>.
- Baysal, T., İçier, F. (2012). *Gıda Mübendisliğinde Isıl Olmayan Teknolojiler*. Nobel Yayıncılık, Ankara.
- Both, S., Chemat, F., Strube, J. (2014). Extraction of polyphenols from black tea - Conventional and ultrasound assisted extraction. *Ultrason Sonochem*, 21(3): 1030-1034, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.11.005>.
- Chang, Q, Zuo, Z., Harrison, F., Chow, M.S.S. (2002). Hawthorn. *J Clin Pharmacol*, 42(6): 605-612, <https://doi.org/10.1177/00970002042006003>.
- Chemat, F., Zill-E-Huma, Khan, M.K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrason Sonochem*, 18(4): 813-835, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>.
- Çoklar, H. Akbulut, M. Kılınc. S, Yıldırım, A., Alhassan, I. (2018). Effect of Freeze, Oven and Microwave Pretreated Oven Drying on Color, Browning Index, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Hawthorn (*Crataegus orientalis*) Fruit. *Not Bot Horti Agrobo*, 46(2): 449-456, <https://doi.org/10.15835/nbha46211027>.
- Çoklar, H., Akbulut, M. (2016). Olgunlaşma ile Alıç Meyvesinin (*Crataegus orientalis*) Antioksidan Aktivite, Toplam Fenolik Madde ve Fenolik Profilindeki Değişim. *Meyve Bilimi*, 3: 30-37.
- Dahmoune, F., Spigno, G., Moussi, K., Remini, H., Cherbal, A., Madani, K. (2014). *Pistacia lentiscus* leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. *Ind Crops Prod*, 61: 31-40, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.035>.
- Fanari, F., Muntoni, G., Dachena, C., Carta, R., Desogus, F. (2020). Microwave Heating Improvement: Permittivity Characterization of Water-Ethanol and Water-NaCl Binary Mixtures. *Energies*, 13(18): 4861, <https://doi.org/10.3390/en13184861>.
- Ghasempour, N., Elhami Rad, A.H., Javanmard, M., Azarpazhouh, E., Amin, M. (2019). Optimization of conditions of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from orange pomace (*Citrus sinensis*). *Int J Biol Chem*, 12(2): 10-19, <https://doi.org/10.26577/ijbch-2019-v2-2>.
- Ghitescu, R.E., Volf, I., Carausu, C., Bühlmann, A.M., Gilca, I.A., Popa, V.I. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. *Ultrason Sonochem* 22: 535-541, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.07.013>.
- Goula, A.M., Thymiatas, K., Kaderides, K. (2016). Valorization of grape pomace: Drying behavior and ultrasound extraction of phenolics. *Food Bioprod Process*, 100: 132-144, <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.06.016>.
- Ignat, I., Volf, I., Popa, V.I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem* 126: 1821-1835, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>.
- Kaderides, K., Papaoikonomou, L., Serafim, M., Goula, A.M. (2019). Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction. *Chem Eng Process*, 137: 1-11, <https://doi.org/10.1016/j.cep.2019.01.006>.
- Khan, M.K., Abert- Vian, M., Fabiano-Tixier, A, Dangles, O., Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chem*, 119(2): 851-858, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.046>.
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D.U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends Food Sci Technol*, 15: 261-266, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.001>.
- Kumari, B., Tiwari, B.K., Hossain, M.B., Rai, D.K., Brunton, N.P. (2017). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from potato peels: profiling and kinetic modelling. *Int J Food Sci Technol*, 52(6): 1432-1439, <https://doi.org/10.1111/ijfs.13404>.

- Kusuma, H.S., Altway, A., Mahfud, M. (2018). Solvent-free microwave extraction of essential oil from dried patchouli (*Pogostemon cablin Benth*) leaves. *J Ind Eng Chem*, 58: 343–348, <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.09.047>.
- Kutlu, N., Bicak, C., Ekinci, D., Kilic, E., Erdem, N., Isci, A., Sakiyan, Ö. (2018). Application of response surface methodology to optimize microwave-assisted extraction of total phenolic compounds from Caucasian whortleberry (*Vaccinium arctostaphylos*). *Gıda*, 43 (2): 264-272, <https://doi.org/10.15237/gida.GD17087>.
- Lapornik, B., Prosek, M., Wondra, A.G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *J Food Eng*, 71: 214-222, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.036>.
- Lopez-Avila, V. (1999). Sample preparation for environmental analysis. *Crit Rev Anal Chem*, 29(3): 195-230, <https://doi.org/10.1080/10408349891199392>.
- Lovrić, V., Putnik, P., Kovačević, D.B., Jukić, M., Dragović-uzelac, V. (2017). Effect of Microwave-Assisted Extraction on the Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Blackthorn Flowers. *Food Technol Biotech*, 55(2): 243–250, <https://doi.org/10.17113/ftb.55.02.17.4687>.
- Meda, V., Orsat, V., Raghavan, V. (2017). *Microwave heating and the dielectric properties of foods*. In *The Microwave Processing of Foods* (Second Edition), Woodhead:Cambridge, ISBN; 978-0-08-100528-6.
- Nitthiyah, J., Nour, A.K.R., Akindoyo, J. (2017). Microwave Assisted Hydrodistillation - An Overview of Mechanism and Heating Properties. *Aust J Basic&Appl Sci*, 11(3): 22–29.
- Özbek H.N., Koçak Yanık, D., Fadiloğlu, S., Keskin Çavdar, H., Göğüş, F. (2018). Microwave-assisted extraction of non-polar compounds from pistachio hull and characterization of extracts. *Grasas Aceites*, <https://doi.org/10.3989/gya.0217181>.
- Özcan, M., Haciseferogulları, H., Marakoglu, T., Arslan, D. (2005). Hawthorn (*Crataegus spp.*) fruit: some physical and chemical properties. *J Food Eng*, 69: 409- 415, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.08.032>.
- Pan, X., Niu, G., Liu, H. (2003). Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. *Chem Eng Process*. 42: 129-133, [https://doi.org/10.1016/S0255-2701\(02\)00037-5](https://doi.org/10.1016/S0255-2701(02)00037-5).
- Pettinato, M., Casazza, A.A., Ferrari, P.F., Palombo, D., Perego, P. (2019). Eco-sustainable recovery of antioxidants from spent coffee grounds by microwave-assisted extraction: Process optimization, kinetic modeling and biological validation. *Food Bioprod Process*, 114: 31–42, <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.11.004>.
- Pico, Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *Trends Anal Chem*, Vol. 43: 84-99, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.005>.
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.S., Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, 31(2): 593–606, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.039>.
- Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: A review, *Int J Food Microbiol*, 87(3): 207–216, [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00075-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00075-8).
- Popa, V.I., Dumitru, M., Volf, I., Anghel, N. (2008). Lignin and polyphenols as allelochemicals. *Indl Crops Prod*, 27: 144–149, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.07.019>.
- Quiroz-Reyes, C.N., Aguilar-Mendez, M., Ramirez-Ortiz, M., Ronquillo-De Jesus, E. (2013). Comparative study of ultrasound and maceration techniques for the extraction of polyphenols from cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Revista Mexicana de Ingenier'ia Qu'ımica*, 12(1): 11–18.
- Radojković, M., Moreira, M.M., Soares, C., Fátima Barroso, M., Cvetanović, A., Švarc-Gajić, J., Morals, S. Delerue-Matos, C. (2018). Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from *Morus nigra* leaves: optimization and characterization of the antioxidant activity and phenolic composition. *J Chem Technol Biotechnol*,

93: 1684–1693, <https://doi.org/10.1002/jctb.5541>.

Ruiz-Rodríguez, B.M., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Fernández-Ruiz, V., de Cortes Sánchez-Mata, M., Camara, M., Tardío, J. (2014). Wild blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) fruits as valuable sources of antioxidants. *Fruits*, 69(1), 61-73. <https://doi.org/10.1051/fruits/2013102>.

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Leblebici, Y., Görk, G., Bekat, L. (1989). *Tobumlu Bitkiler Sistematigi*, E.Ü. Fen Fak. İzmir. No: 116, 2. Baskı, 396.

Swamy, G. J., Muthukumarappan, K. (2017). Optimization of continuous and intermittent microwave extraction of pectin from banana peels. *Food Chem*, 220: 108–114, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.197>.

Wei, Z.F., Zhao, R.N., Dong, L.J., Zhao, X.Y., Su, J.X., Zhao, M., Li, L., Bian, Y. J., Zhang, L.J. (2018). Dual-cooled solvent-free microwave extraction of *Salvia officinalis* L. essential oil and evaluation of its antimicrobial activity. *Ind Crops Prod*, 120: 71–76, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.058>.

Xia, T., Zhang, C., Oyler, N.A., Chen, X. (2013). Hydrogenated TiO₂ nanocrystals: a novel microwave absorbing material. *Adv Mater*, 25(47): 6905-6910, <https://doi.org/10.1002/adma.201303088>.

Xu, D.P., Zheng, J., Zhou, Y., Li, Y., Li, S. and Li, H.B. (2017). Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. *Food Chem*, 217: 552-559, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.013>.

Yeşilören Akal, G. (2019). Siyah Havuç Posasından Antosiyanin Ekstraksiyonu. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 217 s.

Zhu, Z., Guan, Q., Guo, Y., He, J., Liu, G., Li, S., Barba, F.J., Jaffrin M.Y. (2016). Green ultrasound-assisted extraction of anthocyanin and phenolic compounds from purple sweet potato using response surface methodology. *Int Agrophys*, 30: 113-122, <https://doi.org/10.1515/intag-2015-0066>.

MODEL SÜTLÜ TATLIDA HOMOJEN OLMAYAN DAĞILIM İLE YAĞ AZALTMA

Müge Baysal, Yeşim Elmacı*

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

Geliş / Received: 19.02.2021; Kabul / Accepted: 02.07.2021; Online baskı / Published online: 14.07.2021

Baysal, M., Elmacı, Y. (2021). Model sütlü tatlıda homojen olmayan dağılım ile yağ azaltma. GIDA (2021) 46 (4) 1016-1025 doi: 10.15237/gida.GD21038

Baysal, M., Elmacı, Y. (2021). Fat reduction by inhomogeneous distribution in model dairy dessert. GIDA (2021) 46 (4) 1016-1025 doi: 10.15237/gida.GD21038

ÖZ

Bu çalışmada, model sütlü tatlıda katmanlı bir yapı oluşturularak homojen olmayan dağılım ile yağ azaltma amaçlanmıştır. Bu amaçla, %5 yağ içeriğine sahip model sütlü tatlı ve yağ içeriği %25 ve %30 azalacak şekilde homojen ve inhomojen dağılıma sahip sütlü tatlı formülasyonları hazırlanmıştır. Aynı yağ içeriğine sahip homojen örneklerin L^* değerinin inhomojen örneklerin L^* değerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Örneklerin a^* ve b^* değerlerinin sırasıyla -2.07 ile -2.51 ve 10.86-12.63 arasında değiştiği ve yağı azaltılmış örneklerin sertlik, dış yapışkanlık, iç yapışkanlık, sakızimsılık, çignenebilirlik ve esneklik değerleri arasında fark olmadığı saptanmıştır. Yağ içeriği %25 azaltılmış homojen ve inhomojen yapıdaki formülasyonların görünüş ve ağızda algılanan kıvam değerleri diğer formülasyonlara göre daha yüksek belirlenmiştir. Inhomojen yapıda, yağ içeriği %25 azaltılmış tatlı örneğinin lezzet açısından en çok tercih edildiği tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, inhomojen katmanlı yapı ile yağ içeriği azaltılmış model sütlü tatlıların homojen dağılım gösteren örneklere göre daha fazla tercih edildiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Sütlü tatlı, yağ azaltma, inhomojen dağılım, homojen olmayan dağılım

FAT REDUCTION BY INHOMOGENEOUS DISTRIBUTION IN MODEL DAIRY DESSERT

ABSTRACT

The aim of this study was to reduce the fat content of model dairy dessert using inhomogeneous distribution by creating a layered structure. For this purpose, a dairy dessert with 5% fat content was chosen as a model, and homogeneous and inhomogeneous distribution formulations were prepared so that the fat content was reduced by 25 and 30%. The L^* value of the homogeneous samples with the same fat content was determined to be higher than the L^* value of the inhomogeneous samples. The a^* and b^* values of the samples varied between -2.07 and -2.51 and 10.86-12.63, respectively. No difference was determined between the hardness, adhesiveness, cohesiveness, gumminess, chewiness, and resilience values of the reduced-fat samples. Appearance and consistency in mouth of 25% reduced fat content homogeneous and inhomogeneous formulations were determined to be higher than other formulations. As a result of the study, it was determined that inhomogeneous layered structure model dairy desserts with reduced fat content were preferred more than the homogeneous distribution samples.

Keywords: Dairy dessert, fat reduction, inhomogeneous distribution, non-homogeneous distribution

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author;

✉ yesim.elmaci@ege.edu.tr

☎ (+90) 232 311 1316

Müge Baysal; ORCID no: 0000-0001-7197-4302

Yeşim Elmacı; ORCID no: 0000-0001-7164-838X

GİRİŞ

Günümüzde obezite ve aşırı kilo, dünya çapında giderek artan bir sağlık sorununa dönüşmekte olup bu durum koroner kalp hastalıkları, yüksek tansiyon, bazı kanser türleri, tip 2 diyabet gibi metabolik bozuklukların gelişmesinin temelini oluşturmaktadır. Bununla birlikte beslenme, sağlık, kilo kontrolü, tüketicilerin fiziksel ve ruhsal sağlığını artırma gibi çeşitli nedenlerle düşük kalorili ürünlere yönelik tüketici talebinin arttığı görülmektedir (Serdaroğlu ve Tömek, 1995; Siró vd., 2008-; Bayarri ve Costell, 2009; Munsters ve Saris, 2014). Tüketiciler, yeterli vücut ağırlığını korumak ve sağlıklı fiziksel yapıya sahip olmak için yeterli duyuşal özelliklere sahip sağlıklı yiyecekleri tercih etmektedir (Verbeke, 2006). Gıda endüstrisi tüketici tercihlerini karşılayacak düşük kalorili, sağlıklı gıda formülasyonlarına ihtiyaç duymaktadır.

Gıda ürünlerinde yağ azaltma, genellikle gıdaların yapısal özelliklerinde istenmeyen değişikliklere neden olmaktadır. Gıda formülasyonlarında yağ içeriğinin azaltılmasına yönelik önerileri dikkate almak için çeşitli stratejiler geliştirilmiştir. Ancak meydana gelen değişikliklerle, yeniden biçimlendirilmiş gıdanın tüketici tarafından kabul edilebilir olması önem taşımaktadır (Syarifuddin vd., 2016). Bu durum göz önüne alındığında, düşük yağ içerikli ürünlerin geliştirilmesi, gıda üreticileri için bir zorluk olmaya devam etmektedir. Lezzet algısını bozmadan tüketicinin istediği düşük yağlı gıda üretimi için birçok çalışma yapılmakta ve bazı çalışmalarda yağ içeriğinin model sistemlerin mekanik ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkisi bildirilmektedir (Mosca vd., 2012). Gıdalarda yağ azalması ile ortaya çıkabilecek sorunları telafi etmek ve istenen özellikleri sağlamak için en çok kullanılan stratejilerden biri, yağ ikameleri veya yağ taklitlerinin kullanılmasıdır. Ayrıca çeşitli yağ ikamelerinin belirli kombinasyonları hazırlanarak da bu durum sağlanabilmektedir (Doğan ve Küçüköner, 1999; Sandrou ve Arvanitoyannis, 2000). Süt bazlı ürünlerde, kısa ve uzun zincirli inülin karışımları (Arcia vd., 2011; Rodriguez Furlan ve Campderros, 2017), süt proteinleri (Borreani vd., 2017; Torres vd., 2018), polidekstroz (Güzeler vd., 2011), soya proteinleri (Liu vd., 2018), maltodekstrin (Güzeler vd., 2011),

λ -carrageenan (Bayarri vd., 2010) yağ ikamesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Gıdalardaki yağ, şeker ve tuzun azaltılması için geliştirilen yöntemlerden biri de, homojen olmayan dağılım ile algılanan tat yoğunluğunu arttırmaktır. Homojen olmayan dağılım, gıda matrisinde değişen konsantrasyonlarda yağ, şeker, tuz gibi ürünlerin eklenmesi ile gıda matrisinin tamamında aynı özelliği göstermeyen farklı katmanlı yapıların oluşturulmasıdır. Jel tabakalarından oluşan bir model sistem kullanılarak yapılan bir çalışmada, şekerin homojen olmayan dağılımının algılanan tatlılık yoğunluğu üzerindeki etkisi araştırılmış homojen olmayan dağılım ile algılanan tatlılık yoğunluğunda azalma olmadan %20 oranında şeker içeriğinin azaltılabileceği tespit edilmiştir (Mosca vd., 2010). Tuzlu atıştırılabilir yiyecekler üzerinde yapılan başka bir çalışmada homojen olmayan dağılıma sahip atıştırılabilirler, homojen yapıda olan ve tuz içeriği %25 oranında arttırılan atıştırılabilirlere göre daha tuzlu bulunmuştur (Emorine vd., 2013).

Bu çalışmada, homojen olmayan dağılım kullanılarak yağ azaltmanın etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla model sistem olarak sütlü tatlı seçilmiş ve yağ azaltmanın etkisi, homojen olmayan dağılıma sahip katmanlı bir yapı oluşturularak araştırılmıştır. Homojen (HOM) ve homojen olmayan (İNHOM) dağılıma sahip sütlü tatlılar, %25 ve %30 oranında yağ içeriği azaltılarak hazırlanmıştır. Son yıllarda yapılan homojen olmayan dağılımla, şeker ve tuz oranını azaltmaya yönelik çalışmalar yapılmakla birlikte yağ ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Model sütlü tatlıda homojen olmayan bir yapı oluşturularak yağ içeriğinin azaltılmasının özgün bir çalışma olduğu ve literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Model sütlü tatlı üretiminde yağsız süt (%0.1 yağlı) (Pınar Süt Mamülleri San. A.Ş.), mısır nişastası (Migros Ticaret A.Ş.), toz şeker (Migros Ticaret A.Ş.), ve su bazlı çilek aroması (Aromsa, Besin Aroma ve Katkı Maddeleri San. ve Tic. A.Ş.) materyal olarak kullanılmıştır. Model

formülasyonda yağ oranının ayarlanması için yağ emülsiyonu hazırlanmış ve bu emülsiyon için ayçiçek yağı (Migros Ticaret A.Ş.), ve peynir altı suyu proteini (whey protein) (Hard Line Nutrition, Kavi Gıda San. ve Tic. Ltd. Şti.) kullanılmıştır.

Yağ emülsiyonunun hazırlanması (o/w)

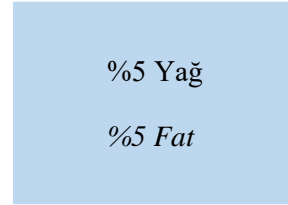
Model sütlü tatlı üretiminde kullanılacak su içinde yağ emülsiyonu hazırlanırken ağırlıkça %1 peynir altı suyu proteini içeren su fazı manyetik bir karıştırıcıda 400 rpm'de 5 dakika karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra karışıma damla damla ağırlıkça %40 ayçiçek yağı ilave edilmiş ve Ultra Turrax karıştırıcıda (Ultra Turrax T25, IKA) 12000 rpm'de yaklaşık 2 saat homojenize edilmiş ve emülsiyon oluşturulmuştur. Daha sonra bu karışım yüksek basınçlı homojenizasyona tabi tutulmuş, yüksek basınçlı homojenizasyon işlemi (GEA Lab Homojenizatör Panda PLUS 2000) ilk geçişte 150 bar basınç uygulanarak ve 3 geçişte toplam 550 bar basınç uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen emülsiyon karışımı, 4°C'de buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiş ve bozulmadan yaklaşık bir hafta süreyle buzdolabında dayanıklılığını sürdürmüştür.

Model sütlü tatlı formülasyonunun hazırlanması

Yağsız süte (0.1 yağ) toz şeker, mısır nişastası, emülsiyon karışımı ve çilek aroması (su bazlı) ilave edilerek elde edilen karışım, homojen hale gelene kadar oda sıcaklığında 1-2 dakika karıştırılmıştır. Elde edilen karışım kısık ateşte yavaş yavaş pişirilmiştir ve karışım 75°C'de koyulaştıktan sonra 1-2 dakika daha karıştırılarak ocaktan alınmıştır. Daha sonra tatlı örnekleri 50 gr'lık tatlı kaplarına doldurularak oda şartlarında soğumaya bırakılmış ve soğutulduktan sonra buzdolabında bekletilmiştir.

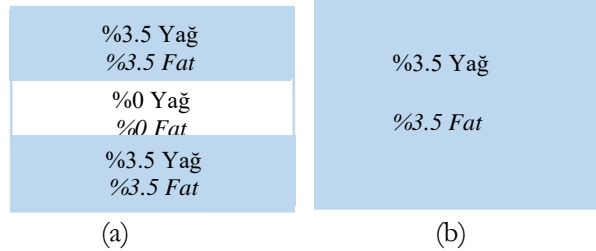
Kontrol örneği (%5 yağlı), yağ içeriği %25 azaltılmış HOM ve İNHOM ile yağ içeriği %30 azaltılmış HOM ve İNHOM örnekleri hazırlanmıştır. Yağ içeriği homojen dağılım göstermeyen sütlü tatlıların hazırlanmasında tatlılar 3 ayrı katman oluşturacak şekilde kaplara doldurulmuştur. Alt ve üst katmanların yağ içeriği eşit tutularak ve sadece orta katmanın yağ içeriği

sıfır olacak şekilde İNHOM örnekler hazırlanmıştır. Hazırlanan Kontrol, HOM3.5, İNHOM 3.5, HOM3.75, İNHOM3.75, model tatlı örneklerinin katmanlı yapısının gösterimi sırasıyla Şekil 1, Şekil 2 ve Şekil 3'te verilmiştir. Çizelge 1'de model sütlü tatlı formülasyonları verilmiştir.



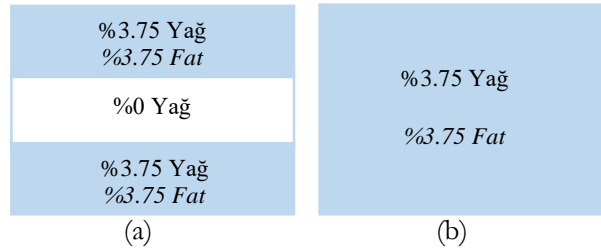
Şekil 1. Homojen dağılıma sahip yağ içeriği %5 olan kontrol örneği kesiti

Figure 1. The control sample with 5% fat content with homogeneous distribution



Şekil 2. a) Homojen dağılıma sahip olmayan yağ içeriği %30 (İNHOM3.5) azaltılmış model sütlü tatlı kesiti b) Homojen dağılıma sahip olan yağ içeriği %30 azaltılmış (HOM3.5) model sütlü tatlı kesiti

Figure 2. a) 30% reduced fat inhomogeneous (İNHOM3.5) model dairy desert b) 30% reduced fat homogeneous (HOM3.5) model dairy desert



Şekil 3. a) Homojen dağılıma sahip olmayan yağ içeriği %25 azaltılmış (İNHOM3.75) model sütlü tatlı kesiti b) Homojen dağılıma sahip olan yağ içeriği %25 azaltılmış (HOM3.75) model sütlü tatlı kesiti

Figure 3. a) 25% reduced fat inhomogeneous (İNHOM3.75) model dairy desert b) 25% reduced fat homogeneous (HOM3.75) model dairy desert

Çizelge 1. Model sütlü tatlı üretiminde kullanılan formülasyonlar
 Table 1. Formulations used in the production of model dairy desserts

Model formülasyon Model formulation	Yağ içeriği %25 azaltılmış 25% reduced fat content	Yağ içeriği %30 azaltılmış 30% reduced fat content		
		İNHOM INHOM	HOM HOM	
Miktar (g) Amount	%3.75 yağlı katman Layer with 3.75% fat	%0 yağlı katman Layer with 0% fat	%3.5 yağlı katman Layer with 3.5% fat	%0 yağlı katman Layer with 0% fat
Yağsız süt (0.1 yağlı) (g) Skimmed milk (0.1 fat)	176.64	176.64	176.64	176.64
Toz şeker (g) Granulated sugar	16	16	16	16
Mısır nişastası (g) Corn starch	10	10	10	10
Çilek aroması (su bazlı) (g) Strawberry flavor (water based)	0.2315	0.2236	0.2236	0.2220
Emülsiyon karışımı (o/w) (g) Emulsion mixture (o/w)	28.95	20.96	-	20.96
			19.43	-
				19.43

Yöntem

Kimyasal analizler

Model sütlü tatlı örneklerinin kuru madde analizi (AOAC, 1995) gravimetrik yöntem ile, yağ içeriği ise AACC (1990)'a göre Soxhlet tekniği kullanılarak çözücü ekstraksiyonu ile gerçekleştirilmiştir.

Renk analizi

Model sütlü tatlı örneklerinin rengi, L^* , a^* ve b^* koordinat sistemi kullanılarak renk ölçüm cihazı (Konica Minolta CR 400, Japonya) ile belirlenmiştir (Peker ve Arslan, 2013). Her bir örnek için 4 farklı noktadan ölçüm alınarak renk analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca tatlı örnekleri karıştırılıp homojen hale getirilerek renk ölçümleri yapılmıştır.

Doku analizi

Model sütlü tatlı örneklerinin dokusal özelliklerinin belirlenmesi doku analizörü (TA.XT Plus, Stable Micro Systems, Ltd. Surry, İngiltere) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sertlik belirlemek

amacıyla sıkıştırma uygulanmıştır (Aytaç, 2017). Örneklerin sertliğini belirlemek için paslanmaz çelik 30 mm perspekt silindirik prob P/30P kullanılmıştır. Analizde kullanılan ölçüm parametreleri; yük hücresi 5 kg, test hızı 2 mm/s, mesafe 10 mm, tetikleme kuvveti 5 g olarak ayarlanmıştır.

Duyusal analiz

Homojen ve homojen olmayan dağılım gösteren model sütlü tatlı örnekleri arasında fark olup olmadığını belirlemek için eşlenmiş kıyaslama testi uygulanmıştır. Ayrıca tatlı örneklerinin kalite farklılıklarını ve farklılık derecelerini belirlemek için puanlama testi uygulanmıştır (Altuğ Onoğur ve Elmacı, 2015). Bu amaçla, 20 panelist tarafından görünüş, lezzet, ağızda kıvam ve genel beğeni 5 puanlık bir değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilmiştir. Panelistler duyu analizi sırasında tatlı örneklerinin en üst tabakasından en alt katmanına kadar örnekten alarak tadımı gerçekleştirmişlerdir. Çizelge 2'de, kullanılan değerlendirme formu verilmektedir.

Çizelge 2. Çilek aromalı sütlü tatlı duyuşal değerlendirmesinde kullanılan form
Table 2. Sensory evaluation form of strawberry flavored dairy dessert

Görünüş Appearance

- 5- Parlak krem rengi, pürüzsüz düzgün yapı, kaşıktan kolay ayrılmayan kıvamda
5- Bright creamy color, smooth and uniform structure, in a consistency that does not easily separate from the spoon
- 4- Parlak krem rengi, pürüzsüz düzgün yapıda hafif azalma, kaşıktan kolay ayrılmayan kıvamda
4- Bright creamy color, slight decrease in smooth, uniform structure, in a consistency that does not easily separate from the spoon
- 3- Parlak krem rengi, pürüzsüz düzgün yapıda azalma, kaşıktan hafif kolay ayrılan kıvamda
3- Bright creamy color, decrease in smooth, uniform structure, in a consistency that easily separated from the spoon
- 2- Hafif mat krem rengi, düzgün olmayan yapı, kaşıktan kolay ayrılan kıvamda
2- Light matte creamy color, non-uniform structure, in a consistency that easily separated from the spoon
- 1- Yüzeyde değişik renk oluşumu, düzgün olmayan yapı, kaşıktan kolay ayrılan kıvamda
1- Different color formation on the surface, non-uniform structure, in a consistency that easily separated from the spoon

Lezzet Flavor

- 5- Kendine özgü tipik çilekli muhallebi lezzetinde
5- Unique typical strawberry dairy dessert flavor
- 4- Çilekli muhallebi lezzetinde hafif azalma
4- Slight decrease in strawberry dairy dessert flavor
- 3- Çilekli muhallebi lezzetinde hafif azalma, hafif margarin lezzeti
3- Slight decrease in strawberry dairy dessert flavor, slight margarine flavor
- 2- Çilekli muhallebi lezzetinde hafif azalma, margarin lezzetinde artış
2- Slight reduction in strawberry dairy dessert flavor, increase in margarine flavor
- 1- Çilekli muhallebi lezzetinde azalma, margarin lezzeti
1- Decrease in strawberry dairy dessert flavor, margarine flavor

Ağızda Kıvam (Kremamsı Yapı, Pürüzlülük, Yapışkanlık) Consistency in Mouth (Creamy texture, smoothness, stickiness)

- 5- Kendine özgü kremamsı doku ve yayılmayan yapıda
5- Unique creamy texture and non-spreadable structure
- 4- Kendine özgü kremamsı doku, hafif yayılan yapıda
4- Unique creamy texture and slightly spreadable structure
- 3- Kremamsı dokuda hafif azalma, yayılan yapıda
3- Slight decrease in creamy texture, spreadable structure
- 2- Kremamsı yapıda azalma, ağza yapışan veya hiç yapışmayan yapıda
2- Decrease in creamy texture, sticky or non-sticky structure in the mouth
- 1- Kremamsı yapıda azalma, ağza çok sıvaşan veya hiç sıvaşmayan ve yayılmayan
1- Decrease in creamy texture, very sticky or non-sticky structure in the mouth

Genel Beğeni Overall Acceptability

- 5- Çok Beğendim
5- Like very much
- 4- Beğendim
4- Like
- 3- Biraz Beğendim
3- Like a little
- 2- Beğenmedim
2- Dislike
- 1- Hiç Beğenmedim
1- Dislike extremely

İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 25.0 paket programı ile %95 güven aralığında yapılmıştır. Çilek aromalı sütlü tatlı örneklerinde

gerçekleştirilen analizler 3 tekrar 2 paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Deneme verileri Duncan çoklu karşılaştırma testi ve varyans analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiş, kuru

madde, renk, doku bağımlı değişken homojen ve inhomojen dağılım ile yağ miktarı bağımsız değişkenler olarak alınmıştır. Duyusal analizlerden eşlenmiş kıyaslama testi sonuçları %5 önem düzeyinde gerekli yanıt sayıları tablosuna göre değerlendirilirken, puanlama testi sonuçları varyans analizi ile değerlendirilmiştir (Altuğ Onoğur ve Elmacı, 2015).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Kimyasal Özellikler

Model sütlü tatlıların kuru madde ve yağ içerikleri Çizelge-3’de verilmiştir. Model tatlıların kuru madde oranları %23.74 ile %24.29 arasında değişmektedir. Kuru madde açısından, HOM3.5

ve İNHOM3.5 örnekleri arasında ve HOM3.75 ile İNHOM3.75 örnekleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$). Sütlü tatlı örneklerinin homojen veya homojen olmayan yapısının kuru madde üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Model sütlü tatlı örneklerinin yağ değerleri arasındaki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). Homojen olmayan dağılıma sahip tatlı örneklerinin (İNHOM3.75 ve İNHOM3.5) yağ içeriğinde %25 ve %30 azaltma ile benzer sonuçlar verdiği ($P > 0.05$) ve homojen olmayan dağılıma sahip örneklerin homojen dağılıma sahip örneklere göre daha düşük yağ içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3. Model sütlü tatlıların kuru madde, yağ içeriği ve renk değerleri¹

Table 3. Dry matter, fat content and color values of model dairy desserts¹

Model formülasyonu <i>Model formulation</i>	Kuru madde (%) <i>Dry matter</i>	Yağ içeriği (%) <i>Fat content</i>	Renk değerleri <i>Color values</i>		
			<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>
Kontrol <i>Control</i>	24.29 ^a ±0.30	4.67 ^a ±0.13	94.56 ^a ±0.01	-2.28 ^b ±0.01	11.09 ^d ±0.02
HOM3.5	23.74 ^b ±0.20	3.20 ^c ±0.01	92.31 ^c ±0.01	-2.07 ^a ±0.01	11.78 ^c ±0.01
İNHOM3.5	23.74 ^b ±0.17	2.06 ^d ±0.14	91.32 ^d ±0.01	-2.51 ^c ±0.25	12.15 ^b ±0.02
HOM3.75	24.27 ^a ±0.37	3.50 ^b ±0.03	93.09 ^b ±0.01	-2.09 ^a ±0.02	12.63 ^a ±0.02
İNHOM3.75	24.22 ^a ±0.55	2.14 ^d ±0.13	90.80 ^e ±0.02	-2.33 ^b ±0.01	10.86 ^e ±0.04

¹: Küçük harfler satırlar arasında olmak üzere istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

²: Lower case letters shows the statistical difference between the lines ($P < 0.05$).

Renk Değerleri

Model sütlü tatlıların L^* , a^* ve b^* değerleri Çizelge 3’de verilmiştir. Sütlü tatlılarda yüksek L^* değeri, ürünün beyazlık özelliğinin yüksek olduğunu göstermektedir (Bahçeci ve Acar, 2020). Sütlü tatlı örneklerinin L^* değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($P < 0.05$). En yüksek L^* değerinin kontrol örneğinde, en düşük L^* değerinin ise İNHOM3.75 örneğinde görüldüğü belirlenmiştir. HOM3.5 ve İNHOM3.5 örnekleri ile HOM3.75 ve İNHOM3.75 örnekleri karşılaştırıldığında, homojen dağılım gösteren örneklerin daha beyaz algılandığı tespit edilmiştir. Model tatlılar arasında $-a^*$ değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). HOM3.5 ve HOM3.75 örneklerinin ise istatistiksel olarak benzer sonuçlar verdiği

belirlenmiştir ($P > 0.05$). Model sütlü tatlı örnekleri arasında b^* değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). En yüksek b^* değeri HOM 3.75 örneğinde görülürken, İNHOM3.75 örneğinin en düşük b^* değerine sahip örnek olduğu bulunmuştur. Yağ içeriği %30 azaltılmış homojen ve homojen olmayan dağılım gösteren örnekler karşılaştırıldığında, İNHOM3.5 örneğinde HOM3.5 örneğine göre daha fazla sarılık tespit edilmiştir. Nitekim limon aromalı sütlü tatlılarda koyulaştırıcı tipi ve konsantrasyonu ile yağ içeriğinin renk, reoloji, *in vivo* aroma salınımı ve duyusal özellikler üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, yağsız tatlı örneklerinde L^* , b^* değerleri düşerken a^* değerlerinin yükseldiği belirtilmektedir (Arancibia vd., 2015).

Doku özellikleri

Model sütlü tatlıların doku analizi sonuçları Çizelge 4'te verilmiştir. Sertlik değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($P < 0.05$), en yüksek yağ içeriğine sahip kontrol örneğinin en düşük sertliğe sahip olduğu ve yağ içeriği %25 azaltılmış homojen olmayan dağılıma sahip tatlı örneğinin (İNHOM3.75) en yüksek sertliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Homojen ve homojen olmayan dağılıma sahip örnekler karşılaştırıldığında, HOM3.5 ve İNHOM3.5 örnekleri ile HOM3.75 ve İNHOM3.75 örneklerinin sertlik değerleri benzer bulunmuştur. Model sütlü tatlıların dış yapışkanlık değerleri incelendiğinde, %5 yağ içeriğine sahip kontrol örneği dışındaki diğer tatlı örneklerinin dış yapışkanlık değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($P > 0.05$). Kontrol, HOM3.5, HOM3.75 ve İNHOM3.5 örneklerinin elastikiyet değerleri arasında anlamlı bir fark ($P > 0.05$) olmadığı belirlenmekle birlikte, yağ içeriği yüksek örneklerde elastikiyet özelliğinin daha fazla olduğu ve en düşük elastikiyet değerinin İNHOM3.75 örneğinde olduğu belirlenmiştir. Gıdaların yapısal bütünlüğünün korunmasında etkili olan iç yapışkanlık özelliğinin model sütlü tatlılarda 0.46 ile 0.54 arasında değiştiği görülmektedir. HOM3.5, HOM3.75 ve İNHOM3.5 örnekleri ile HOM3.5, İNHOM3.5 ve İNHOM3.75 örneklerinin iç yapışkanlık değerlerinin benzer sonuçlar verdiği ($P > 0.05$) ve kontrol örneğinin diğer örneklerden farklı olduğu belirlenmiştir. Farklı yağ içeriğine sahip sütlü tatlıların sakızimsılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). En yüksek sakızimsılık değeri İNHOM3.75 örneğinde bulunmuştur. HOM3.5 ve İNHOM3.5 örnekleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($P > 0.05$) ve benzer sakızimsılık özelliği gösterdiği bulunmuştur. Model sütlü tatlıların çignenebilirlik değerlerinin 164.57 ile 186.33 arasında değiştiği ve farklı yağ içeriğine sahip sütlü tatlıların çignenebilirlik değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($P > 0.05$) olmadığı

görülmüştür. HOM3.5 örneği dışında sütlü tatlı örneklerinin esneklik değerleri arasında anlamlı bir fark ($P > 0.05$) olmadığı, en düşük esnekliğe sahip örneğin HOM3.5 örneği, en yüksek esnekliğe sahip örneklerin ise İNHOM3.75, İNHOM3.5 ile kontrol örneği olduğu belirlenmiştir.

Duyusal özellikler

Eşlenmiş kıyaslama testi, HOM3.5 ve İNHOM3.5 örnekleri ile HOM3.75 ve İNHOM3.75 örnekleri arasında gerçekleştirilmiştir. Eşlenmiş kıyaslama testine göre HOM3.5 ve İNHOM3.5 örnekleri arasında ve HOM3.75 ve İNHOM3.75 örnekleri arasında %5 güven eşiğinde istatistiksel olarak farklılık olduğu, homojen olmayan dağılıma sahip örneklerin homojen dağılım gösteren örneklerden daha yağlı olarak algılandığı belirlenmiştir.

Model sütlü tatlı örneklerinin puanlama testi sonuçları Çizelge 5'te verilmiştir. Sütlü tatlı örneklerinin görünüş değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($P < 0.05$). Panelistler tarafından yağ içeriği en yüksek olan kontrol örneğinin en düşük görünüş değerini aldığı ve ürünün hafif kaşıktan akan kıvamda olduğu tespit edilmiş ve tatlı yüzeyinde homojen olmayan renk dağılımları ifade edilmiştir. HOM3.5 ve İNHOM3.5 örnekleri ile HOM3.75 ve İNHOM3.75 örnekleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($P < 0.05$). Homojen ve homojen olmayan dağılıma sahip örnekler karşılaştırıldığında, homojen olmayan dağılıma sahip örneklerde (İNHOM3.5 ve İNHOM3.75), ağızdan kıvam, homojen dağılıma sahip örneklere göre (HOM3.5 ve HOM3.75) daha yüksek algılanmıştır. Yağ içeriği %25 oranında azaltılmış homojen (HOM3.75) ve homojen olmayan dağılıma sahip örneklerin (İNHOM3.75), %5 yağ içeriğine sahip olan kontrol örneğine göre daha fazla tercih edildiği görülmüştür. Homojen dağılım göstermeyen model sütlü tatlı örneklerinin (İNHOM3.5 ve İNHOM3.75) görünüş ve genel kabul edilebilirlik üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4. Model Sütü tatlı örneklerinin doku analiz sonuçları¹
 Table 4. Texture analysis results of model dairy desserts¹

Model formülasyon Model formulation	Control	HOM3.5	İNHOM3.5	HOM3.75	İNHOM3.75
Sertlik Hardness (g)	356.00 ^c ±18.19	390.44 ^{bc} ±27.99	440.55 ^{ab} ±24.96	436.67 ^{ab} ±23.99	475.52 ^a ±24.24
Dış yapışkanlık Adhesiveness (gs)	-341.26 ^a ±18.97	-398.16 ^b ±23.85	-392.17 ^b ±20.26	-403.75 ^b ±17.91	-417.97 ^b ±30.31
Elastikiyet Springiness (mm)	0.88 ^a ±0.01	0.85 ^a ±0.03	0.84 ^a ±0.04	0.83 ^a ±0.04	0.77 ^b ±0.04
İç yapışkanlık Cohesiveness	0.54 ^a ±0.02	0.48 ^{bc} ±0.02	0.48 ^{bc} ±0.02	0.50 ^b ±0.05	0.46 ^c ±0.02
Sakızimsılık Gumminess (g)	192.04 ^b ±26.69	190.29 ^b ±26.74	209.99 ^b ±23.48	212.26 ^{ab} ±25.71	242.61 ^a ±28.23
Çiğnenebilirlik Cheviness (gs)	168.48 ^a ±24.84	164.57 ^a ±20.47	181.33 ^a ±24.30	176.89 ^a ±30.41	186.33 ^a ±20.86
Esneklik Resilience	0.12 ^a ±0.01	0.09 ^b ±0.02	0.11 ^{ab} ±0.01	0.10 ^{ab} ±0.03	0.11 ^a ±0.02

¹: Küçük harfler sütunlar arasında olmak üzere istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

¹: Lower case letters shows the statistical difference between the lines ($P < 0.05$).

Çizelge 5. Model Sütü tatlı örneklerinin puanlama testi sonuçları¹
 Table 5 Scoring test results of model dairy desserts¹

Model formülasyon Model formulation	Görünüş Appearance	Lezzet Flavor	Ağızda Kıvam Consistency in Mouth	Genel Beğeni Overall Acceptability
Kontrol Control	3.50 ^c ±0.76	2.95 ^d ±0.89	3.15 ^b ±1.27	3.15 ^c ±0.88
HOM3.5	3.85 ^{bc} ±0.93	3.30 ^{cd} ±0.80	3.25 ^b ±0.79	3.25 ^c ±0.64
İNHOM3.5	3.60 ^c ±0.99	4.05 ^{ab} ±0.83	3.30 ^b ±0.86	3.85 ^b ±0.49
HOM3.75	4.55 ^a ±0.69	3.65 ^{bc} ±0.88	4.20 ^a ±0.77	4.05 ^{ab} ±0.69
İNHOM3.75	4.35 ^{ab} ±0.59	4.55 ^a ±0.83	4.50 ^a ±0.69	4.35 ^a ±0.59

¹: Küçük harfler satırlar arasında olmak üzere istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

¹: Lower case letters shows the statistical difference between the lines ($P < 0.05$).

SONUÇ

Model bir sütü tatlı örneğinde katmanlı yapı oluşturularak homojen olmayan dağılım ile yağ azaltma işleminin gerçekleştirildiği bu çalışmada, en yüksek yağ içeriğine sahip kontrol örneğinin yüksek dış yapışkanlık, elastikiyet, iç yapışkanlık ve esneklik değerine sahip olduğu, ancak diğer formülasyonlardan daha yüksek yağ içeriğine sahip olması nedeniyle sertlik değerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda %25 oranında yağ içeriği azaltılmış homojen ve homojen olmayan dağılıma sahip tatlı örneklerinin (HOM3.75 ve İNHOM3.75) diğer tatlı

formülasyonlarına göre görünüş ve ağızda algılanan kıvam değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiş olup, homojen olmayan dağılım ile yağ içeriği %25 oranında azaltılmış sütü tatlı formülasyonu ile tüketicinin algıladığı lezzet değişmeden yağ miktarının azaltılabileceği belirlenmiştir. Homojen olmayan dağılım ile yağ içeriğinin %30 oranında azaltılabileceğinin de söz konusu olabileceği ancak üzerinde çalışılması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışmada seçilen model sütü tatlı dışında başka model örneklerde ileri araştırmaların yapılması da önem taşımaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZARLARIN KATKISI

Müge BAYSAL, laboratuvar analizlerinin takibi, sonuçların değerlendirilmesi ve makalenin yazımını sağlamıştır. Yeşim ELMACI, araştırmanın planlanması, yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesini sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okuyup, incelemiş ve onaylamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: FYL-2019-20683

KAYNAKLAR

AACC (1990). Am Assoc Cereal Chem., 8th Edition, St Paul. The USA.

Altuğ Onoğur, T., Elmacı, Y. (2015). *Gıdalarda Dınyusal Değerlendirme*. Sidas Medya Yayınları, İzmir, Türkiye, 148 s. ISBN: 978-9-9445-6608-7.

AOAC (1995). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 16th Edition, Washington, DC.

Arancibia, C., Castro, C., Costell, E. and Bayarri, S., 2015, Colour, rheology, flavour release and sensory perception of dairy desserts. Influence of thickener and fat content, *LWT- Food Sci. Technol.*, 62(1): 408-416. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.024>

Arcia, P.L., Costell, E., Tarrega, A. (2011). Inulin blend as prebiotic and fat replacer in dairy desserts: Optimization by response surface methodology. *J. Dairy Sci.*, 94(5): 2192-2200. Doi: 10.3168/jds.2010-3873

Aytaç, F. (2017). Doğal tatlandırıcıların (stevia ve akçaağaç şurubu) sütlü tatlıların fiziksel, kimyasal ve tekstürel özellikleri üzerine etkisi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 117 s.

Bahçeci, K.S., Acar, J. (2020). Renk analizi. <http://web.hitit.edu.tr/dosyalar/duyurular/hulya>

cakmak@hititedutr011220189A6L8V9X.pdf (Erişim Tarihi: 18 Kasım 2020).

Bayarri, S., Chuliá, I., Costell, E. (2010). Comparing λ -carrageenan and an inulin blend as fat replacers in carboxymethyl cellulose dairy desserts. Rheological and sensory aspects. *Food Hydrocoll.*, 24(6-7): 578-587. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.02.004>

Bayarri, S., Costell, E. (2009). *Optimising the flavour of low-fat foods, Designing Functional Foods: Measuring and Controlling Food Structure Breakdown and Nutrient Absorption*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, s. 431-452.

Borreani, J., Llorca, E., Quiles, A., Hernando, I. (2017). Designing dairy desserts for weight management: Structure, physical properties and in vitro gastric digestion. *Food Chem.*, 220: 137-144. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.202>

Doğan, İ.S., Küçüköner, E. (1999). Düşük Yağ ve Kalori İçeren Gıdaların Hazırlanmasında Yağ İkamelerinin Rolü. *GIDA*, 24(6): 417-424. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida/issue/6888/92171> (Erişim tarihi: 28 Ocak 2021)

Emorine, M., Septier, C., Thomas-Danguin, T., Salles, C. (2013). Heterogeneous salt distribution in hot snacks enhances saltiness without loss of acceptability. *Food Res. Int.*, 51: 641-647. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.006>

Güzeler, N., Kacar, A., Say, D. (2011). Effect of milk powder, maltodextrin and polydextrose use on physical and sensory properties of low calories ice cream during storage. *Academic Food Journal*, 7: 6-12. Doi: <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.4>

Liu, R., Wang, L., Liu, Y., Wu, T., Zhang, M. (2018). Fabricating soy protein hydrolysate/xanthan gum as fat replacer in ice cream by combined enzymatic and heat-shearing treatment. *Food Hydrocoll.*, 81: 39-47. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.031>

Mosca, A.C., Rocha, J.A., Sala, G., Velde, F., Stieger, M. (2012). Inhomogeneous distribution of fat enhances the perception of fat-related sensory attributes in gelled foods. *Food Hydrocoll.*,

- 27, 448-455. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.11.002>
- Mosca, A.C., van de Velde, F., Bult, J.H.F., van Boekel, M.A.J.S., Stieger, M. (2010). Enhancement of sweetness intensity in gels by inhomogeneous distribution of sucrose. *FQAP*, 21(7): 837-842. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.04.010>
- Munsters, M.J.M., Saris, W.H.M. (2014). Body weight regulation and obesity: Dietary strategies to improve the metabolic profile. *Annu Rev. Food Sci. Technol.*, 5: 39-51. Doi: [10.1146/annurev-food-030212-182557](https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182557)
- Peker, H., Arslan, S. (2013). Effects of addition of locust bean gum on sensory, chemical, and physical properties of low-fat yoghurt. *J Food Agric Env.*, 11-2: 274-277. Doi: <https://doi.org/10.1234/4.2013.4264>
- Rodriguez Furlán, L.T., Campderrós, M.E. (2017). The combined effects of Stevia and sucralose as sugar substitute and inulin as fat mimetic on the physicochemical properties of sugar-free reduced-fat dairy dessert. *Int. Gastron. Food Sci.*, 10: 16-23. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2017.09.002>
- Sandrou, D.K., Arvanitoyannis, I.S. (2000). Low fat/calorie foods: Current state and perspectives. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 40: 427-447. Doi: [10.1080/10408690091189211](https://doi.org/10.1080/10408690091189211)
- Serdaroğlu, M., Tömek, S. (1995). Yağı azaltılmış et ürünleri üretim tekniği. *GIDA*, 20(4): 237-241. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida/issue/6998/93215> (Erişim tarihi: 28 Ocak 2021)
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A. (2008). Functional food product development marketing and consumer acceptance-A review. *Appetite*, 51(3): 456-467. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.05.060>
- Syarifuddin, A., Septier, C., Salles, C., Thomas-Danguin, T. (2016). Reducing salt and fat while maintaining taste: An approach on a model food system. *FQAP*, 59-69. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.08.009>
- Torres, I.C., Amigo, J.M., Knudsen, J.C., Tolkach, A., Mikkelsen, B.Ø., Ipsen, R. (2018). Rheology and microstructure of low-fat yoghurt produced with whey protein microparticles as fat replacer. *Int Dairy J.*, 81:62-71. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.01.004>
- Verbeke, W. (2006). Functional foods: consumer willingness to compromise on taste for health? *FQAP*, 17: 126-131. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2005.03.003>



KUŞBURNU (*Rosa canina*) FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN MİKROENKAPSÜLASYONU

Furkan Erdem, Eda Nur Gündoğan, Merve Silanur Yılmaz*,
İrem Sezgin, Yağmur Summakoğlu, Özge Şakıyan
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 27.02.2021; Kabul / Accepted: 02.07.2021; Online baskı / Published online: 14.07.2021

Erdem, F., Gündoğan, E.N., Yılmaz, M.S., Sezgin, İ., Summakoğlu, Y., Şakıyan, Ö. (2021). Kuşburnu (*Rosa canina*) fenolik bileşiklerinin mikroenkapsülasyonu. GIDA (2021) 46 (4) 1026-1039 doi: 10.15237/gida.GD21046

Erdem, F., Gündoğan, E.N., Yılmaz, M.S., Sezgin, İ., Summakoğlu, Y., Şakıyan, Ö. (2021). Microencapsulation of rosehip (*Rosa canina*) phenolic compounds. GIDA (2021) 46 (4) 1026-1039 doi: 10.15237/gida.GD21046

ÖZ

Bu çalışmada, kuşburnu bitkisinde bulunan fenolik bileşiklerin mikroenkapsülasyonu sırasında kaplama materyali çeşidinin ve çekirdek:kaplama materyali oranının enkapsülasyon verimi ve ısıl stabilite üzerine etkileri incelenmiştir. Kaplama materyali olarak maltodekstrin ve gam arabik kullanılmıştır ve her iki kaplama materyali de fenolik ekstrakt tozları ile ağırlıkça 1:20 ve 1:30 oranlarında karıştırılmıştır. Mikroenkapsülasyon işlemi dondurarak kurutma yoluyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen mikroenkapsüller ısıl stabilitelerinin değerlendirilmesi amacıyla kek hamuruna ilave edilerek pişirme işlemi uygulanmış ve pişirme işlemi sonundaki ısıl stabiliteyi incelenmiştir. En yüksek enkapsülasyon verimi için en uygun kaplama materyalinin gam arabik, çekirdek:kaplama materyali oranının ise 1:20 olduğu belirlenmiştir. Mikroenkapsülasyon işleminin, kullanılan kaplama materyali ve çekirdek:kaplama materyali oranından bağımsız, ısıl stabiliteyi arttırdığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$). En yüksek ısıl stabilite kaplama materyali olarak gam arabik, çekirdek:kaplama materyali oranı olarak da 1:30 kullanıldığında elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Mikroenkapsülasyon, kuşburnu, ısıl stabilite, verim

MICROENCAPSULATION OF ROSEHIP (*Rosa canina*) PHENOLIC COMPOUNDS

ABSTRACT

In this study, the effects of coating material type and core:coating material ratio on encapsulation efficiency and thermal stability of microencapsulated phenolic compounds found in rosehip plant were investigated. Maltodextrin and gum arabic were used as coating materials and both materials were mixed with phenolic extract powders in ratios of 1:20 and 1:30 by weight. The microencapsulation process was carried out by freeze-drying. In order to evaluate the thermal stability of microencapsules, they were added to the cake dough and after baking process, their thermal

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author;

✉ merveyilmaz@ankara.edu.tr

☎ (+90) 312 203 3300/3642

☎ (+90) 312 317 8711

Furkan Erdem; ORCID no:0000-0003-3106-1525

Eda Nur Gündoğan; ORCID no:0000-00001-6005-7605

Merve Silanur Yılmaz; ORCID no:0000-0002-3184-1780

İrem Sezgin; ORCID no:0000-0002-3399-3585

Yağmur Summakoğlu; ORCID no:0000-0003-2661-5436

Özge Şakıyan; ORCID no: 0000-0002-0778-8211

stability was examined. The most suitable coating material and core:coating material ratio, which resulted in the highest encapsulation efficiency, were gum arabic and 1:20, respectively. The microencapsulation process was found to increase the thermal stability regardless of coating material and core:coating ratio ($P < 0.05$). The highest thermal stability was obtained when gum arabic was used as coating material and 1:30 was used as a core:coating material ratio.

Keywords: Microencapsulation, rosehip, thermal stability, yield

GİRİŞ

Rosaceae familyasının *Rosa* cinsine ait olan Kuşburnu (*Rosa canina* L.), Türkiye'nin pek çok yöresinde rahatlıkla yetişebilen yabani gül türlerinin yalancı meyvelerine verilen isimdir (Güler, 1997). Kuşburnu meyvesi, diğer meyvelerle karşılaştırıldığında C vitamini ve fenolik bileşik içeriğinin daha zengin olduğu görülmüştür (Öz vd., 2018). Yapısında bulunan askorbat, beta-karoten, tokoferol, antosiyanin ve diğer fenolik bileşikler sayesinde yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (Stanila vd., 2015). Dünyada yaygın kullanım alanları çay ve reçel üretimi olmakla birlikte, bebek mamasından likör üretimine kadar pek çok uygulaması söz konusu olmasına rağmen yine de kullanımı azdır (Çağlar ve Demirci, 2017). Türkiye'nin hemen her yerinde rahatlıkla yetişebilen kuşburnu meyvesinin kullanım alanı ülkemizde çay ve reçel üretiminden ileri gitmemiştir (Öz vd., 2018).

Kuşburnu meyvesine olan ilginin az olmasına karşın, yapısındaki biyoaktif bileşiklerin önemli bir bölümünü oluşturan fenolik bileşiklere olan ilgi oldukça yüksektir (Ercişli, 1996; Apak vd., 2007; Guimarães vd., 2013). Fenolik bileşiklerin antiinflamatuvar etkisi, antioksidan aktivitesi, antikarsinojen özelliği, antimikrobiyal ve antimutajenik etkileri, yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. (Orhan vd., 2007; Wenzig vd., 2008; Barros vd., 2011; Guimarães vd., 2013; Jesus vd., 2020). Farklı kuşburnu türlerinde yapılan çeşitli çalışmalarda en yüksek fenolik bileşik içeriğine *Rosa canina* L. serotipinde rastlanmıştır (Ercişli, 2007; Murathan vd., 2016). Kuşburnunda bulunan fenolik bileşiklerin başında floroglusinol, quercetin, gallik asit, kafeik asit gelmekte ve büyük bir kısmını apigenin oluşturmaktadır (Stanila vd., 2015; Bhave vd. 2017; Fetni vd., 2020). Bunların yanında kateşin, resveratrol ve klorojenik asit de az miktarda bulunmaktadır (Fetni vd., 2020). Fenolik bileşikler; ışık, oksijen, nem ve sıcaklık gibi oksidasyona sebep olan çevresel etmenlere

karşı oldukça dayanıksızdır (Ballesteros vd., 2017). Bu yüzden, enkapsülasyon işleminin uygulanması ile depolama stabilitelerinin artırılması, termal dayanıklılığının geliştirilmesi ve yapının güçlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Enkapsülasyon işlemi ile bir bileşen, başka bir madde ile kaplanarak bu maddenin içine hapsedilir. Kapsüllerin dış katmanı kaplama materyali, kaplanan materyal ise çekirdek olarak isimlendirilir (Madene vd., 2006). Fenolik bileşiklerde enkapsülasyon, çekirdek materyalin çevresel etmenlere karşı güçlendirilmesi ve reaksiyon stabilitesinin artırılması amacıyla uygulanabildiği gibi bileşiklerin sebep olduğu acı tat ve kokunun maskelenmesi amacıyla da uygulanır (Desai ve Park, 2005). Kullanılacak kaplama materyalinin çekirdek ile uyumlu olması ve reaksiyona sebep olmaması önemlidir. Bu özellikleri sebebiyle maltodekstrin, gam arabik, hidrofobik modifiye nişasta ve kitozan gibi polisakkaritler sıklıkla kaplama materyali olarak tercih edilmektedir (Gouin, 2004; Madene vd., 2006; Ballesteros vd., 2017). Bunların yanı sıra, meyve sularının enkapsülasyonunda maltodekstrin ve gam arabik en sık kullanılan kaplama materyalleridir (Kuck ve Noreña, 2016).

Polisakkarit ve glikoproteinlerin bir karışımı olan gam arabik; sudaki yüksek çözünürlüğü, düşük viskozitesi ve emülsiyon kapasitesinin yüksek olması sebebiyle tercih edilmektedir (Cano-Chauca vd., 2005). Ayrıca, gam arabik içeren karışımların uzun süre ısı işleme maruz bırakılmasıyla proteinli bileşikler çöker ve gamın emülsiyon kabiliyeti artar (López-Franco vd., 2015). Maltodekstrin ise nişasta hidrolizi sonucu ortaya çıkan ve son derece ucuz bir polisakkarittir (Tonon vd., 2009). Polisakkarit olmasına karşın organik çözücülerde çok az çözünür ve bu özelliği ve ucuz olması sebebiyle çok tercih edilir (Khoee ve Yaghoobian, 2017).

Enkapsülasyon uygulaması genellikle kurutma teknikleri kullanılarak gerçekleştirilir. Püskürterek ve dondurarak kurutma, en sık kullanılan iki yöntemdir (Silva vd., 2014). Püskürterek kurutma ucuz ve geniş bir kullanım alanı sunması, işlenen ürüne zarar vermeden çalışabilmesi sebebiyle sık tercih edilir (Wen vd., 2014). Buna karşın dondurarak kurutma, vakum altında ve -55 °C gibi düşük sıcaklıklarda yapılması sebebiyle masraflıdır ancak suyun uzaklaştırılması düşük basınç ve sıcaklıkta gerçekleştirildiği için hücre ve yapısal bileşenler asgari düzeyde zarar görür (Gouin, 2004; Ballesteros vd., 2017). Dondurarak kurutmanın bu özelliği, fenolik bileşikler gibi hassas maddelerin enkapsülasyonunda tercih edilmesinde önemli bir nedendir (Asami vd., 2003; Wen vd., 2014; Ballesteros vd., 2017).

Bu çalışmada, kuşburnu meyvesinden elde edilen fenolik bileşiklerin maltodekstrin ve gam arabik olmak üzere iki farklı kaplama materyali kullanılarak dondurarak kurutma yöntemi ile enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Farklı oranlarda kullanılan kaplama materyallerinin, fenolik bileşiklerin ısıl stabiliteyi üzerine etkisi araştırılmıştır. Mikroenkapsüllerin ısıl stabilitesinin değerlendirmesi amacıyla kapsüller, model gıda olarak kullanılan kek hamurunun içine ilave edilmiş ve en uygun kaplama materyali ile uygun kaplama oranı belirlenmiştir. Böylece, içeriğindeki fenolik bileşiklerin korunması sağlanarak ilave edildiği ürünlerin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi hedeflenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu çalışmada kullanılan kuşburnu meyveleri (*Rosa canina*), Ankara'daki yerel marketlerden kuru halde temin edilmiştir. Kuru haldeki kuşburnu örnekleri, tane içindeki tüylerin uzaklaştırılmasının ardından çekirdekleriyle birlikte öğütülerek toz haline getirilmiş ve 1180 µm'lik elekten geçirildikten sonra +4 °C'de polietilen ambalaj içinde saklanarak depolanmıştır.

Çalışmada kullanılan gallik asit (Sigma-Aldrich), Folin-Ciocalteu reaktifi (Merck), metanol (Merck), etanol (Merck), asetik asit (Merck) ve

sodyum karbonat (Merck) analitik saflıktadır. Enkapsülasyon işlemi için ise gam arabik (akasya gamı) (Alfasol) ve maltodekstrin (Dekstroz eşdeğeri 10-12) (Alfasol) kullanılmıştır. Kek hamuru için kullanılan tuz, kabartma tozu, süt tozu, yumurta akı tozu, kabartma tozu ve un ise Ankara'daki yerel marketlerden temin edilmiştir.

Yöntem

Ekstraksiyon işlemi

Toz haldeki kuşburnu örnekleri, ekstraksiyon işlemi için 1.25:25 (ağırlık:ağırlık (w:w)) oranında çözgen ile karıştırılmış ve çözgen olarak distile su kullanılmıştır. Örnekler, üç kademeli bir soğutma düzeneği ile desteklenmiş mikrodalga ekstraksiyon (General Electric Company, Diegem, Belçika) sistemi ile 360 W mikrodalga gücünde 15 dk. süre ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sürenin belirlenmesinde, ön-denemeler sonucunda elde edilen toplam fenolik madde miktarı dikkate alınmıştır, bu değerin sabitlendiği nokta ekstraksiyon işleminin tamamlandığı nokta olarak belirlenmiştir. Mikrodalga ekstraksiyon işlemi sonunda bitki ekstraktlarının ortalama sıcaklığı 82 °C olarak ölçülmüştür. Elde edilen ekstraktlar gözenek çapı 20 µm olan kaba filtre kağıdı ile filtre edilmiş, amber renkli şişelere doldurulmuş ve dondurarak kurutma işlemi için -18 °C'de dondurulmuşlardır.

Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon) işlemi

Liyofilizasyon işlemi, dondurulmuş örneklerde liyofilizatörde (Taption Group Co. Ltd., Amerika) -55 °C'de, 50 Pa vakum altında, 24 saat süresince yapılmıştır. Toz haline getirilen liyofilize örnekler amber renkli cam şişelerde enkapsülasyon işlemine kadar +4 °C'de depolanmıştır ve liyofilizasyon verimi 0.45 g kuru ekstrakt/100 mL karışım olarak hesaplanmıştır. Bu değer; liyofilizatör işlemi sonucu elde edilen kuru örnek miktarının başlangıçtaki sıvı ekstrakt hacmine bölünmesiyle elde edilmiştir.

Mikroenkapsülasyon işlemi

Mikroenkapsülasyon işleminde kullanılan çekirdek:kaplama materyali oranları ve kek yapımında kullanılan mikroenkapsül tozu miktarı yapılan ön denemelerle belirlenmiştir. Kaplama materyali olarak kullanılan maltodekstrin ve gam

arabik, ağırlıkça %10 olacak şekilde distile su ile karıştırılmıştır. Mikroenkapsülasyon işleminde 1:20 ve 1:30 (w/w) olmak üzere iki farklı çekirdek:kaplama materyali oranı kullanılmıştır. Karışımlar yüksek hızlı homojenizatörde (HG-15A, Wisd, Daihan, Güney Kore) 4000 rpm'de 5 dakika süreyle homojenize edilmiş, ardından 35 W ultrasonik güçte 20 dakika süresince ultrasonikasyona (Sonoplus Ultrasonic Homogenizer, HD 2070, Almanya) maruz bırakılmıştır. Elde edilen karışımlar -18 °C'de dondurulduktan sonra -55 °C'de ve 50 Pa vakum altında 24 saat süresince liyofilizatörde (Taption Group Co. Ltd., Amerika) kurutulmuştur. Kurutulup toz haline getirilmiş örnekler 1180 µm'lik elekten geçirildikten sonra analizlerde kullanılmaya kadar amber renkli cam şişelerde -18 °C'de depolanmıştır. Enkapsülasyon verimliliği, mikroenkapsüllerin toplam fenolik madde miktarı, yüzey fenolik madde miktarı ve ısıl stabilite sonuçları, kullanılan kaplama materyalleri ve kaplama oranına göre değerlendirilmiştir.

Model gıda denemeleri

Mikroenkapsülasyon uygulamaları sonrası mikroenkapsüllerin ve enkapsüle edilmemiş kuşburnu ekstraktı tozunun ısıl stabiliteilerinin karşılaştırılması için kek örnekleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kek formülasyonu, Alifaki (2019) tarafından sunulan formülasyonun düzenlenmiş bir halidir. Kek hamurunun formülasyonunda fenolik bileşenlere olan negatif etkisi nedeniyle şeker kullanılmamıştır (Waterhouse, 2002). Kek hamuru için 100 gram buğday unu kullanılmıştır. Kek karışımı un bazında %25 yağ, %12 yağsız süt tozu, %9 yumurta beyazı tozu, %3 tuz, %5 kabartma tozu ile 140 mL su kullanılarak hazırlanmıştır. Kek hamuru hazırlanırken öncelikle eritilen yağ içerisine 9 g yumurta beyazı ilave edilmiş ve karışım bir dakika süre ile karıştırılmıştır. 100 g una sırası ile 12 g yağsız süt tozu, 3 g tuz ve 5 g kabartma tozu karıştırıldıktan sonra yağlı karışımla birleştirilerek 3 dakika süre ile karıştırılmıştır. 100 g kek hamurunun içine 100 mg enkapsüle edilmemiş ekstrakt tozu veya 100 mg mikro enkapsül tozu ilave edilerek 1 dakika daha karıştırılmış ve elde edilen hamur 35 dakika süreyle 175°C'de pişirilmiştir (Arçelik, MF 35 B,

Türkiye). Pişirme işleminde fırına 100'er g olacak şekilde iki adet kek örneği yerleştirilmiştir. Kontrol grubu olarak ise enkapsüle edilmemiş ekstrakt tozu ve mikroenkapsül tozu içermeyen örnekler hazırlanmıştır. Kekler üç tekerrürlü olarak hazırlanmıştır.

Analizler

Fenolik bileşik miktarı tayini için örnek hazırlama

Yüzey fenolik bileşik miktarı analizi için, 100 mg örnek, 50:50 etanol:metanol (hacim:hacim (v:v)) solüsyonu içerisinde disperse edilmiş, 1 dakika boyunca vortekslenmiş (DAIHAN Scientific Co., Ltd., Korea) ve daha sonra 0.45 µm'lik filtreden geçirilmiştir. Toplam fenolik madde tayini için ise 100 mg örnek, hacimce 50:8:42'lik etanol:asetik asit:su (v:v:v) çözeltisi ile birlikte vorteks karıştırıcıda (Daihan, VM10, Wisd Laboratory Instruments, Güney Kore) 1 dakika karıştırıldıktan sonra 0.45 µm'lik filtreden geçirilmiştir.

Fenolik bileşik miktarı analizi

Yüzey fenolik bileşik miktarının ve toplam fenolik bileşik miktarının analizi Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak yapılmıştır (Singleton ve Rossi, 1965). Toplam fenolik madde değerleri gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru madde olarak belirtilmiştir. Filtreden geçirilen örnekler, distile su kullanılarak 26 kat seyreltilmiştir. 0.1 mL seyreltik örnek, 0.9 mL distile su ve 4 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiş ve 2 dakika sonra 5 mL %7.5'lik NaCO₃ çözeltisi eklenmiştir. 2 saat karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletilen örneklerin UV-VIS spektrofotometrede (Lambda35, Perkin Elmer, ABD) 765 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür.

Gallik asit standart eğrisi için öncelikle 0.5 g/100 mL olacak şekilde stok çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltisinden 0-0.5-1.0-1.5-2-2.5-5 mL alınarak 50 mL'lik balon jöjelere yerleştirilmiş, hacimler distile su ile tamamlanarak derişimleri sırasıyla 0-50-100-150-200-250-500 mg/L olan gallik asit çözeltileri hazırlanmıştır. Çözeltilerin absorbansları UV-VIS spektrofotometrede (Lambda35, Perkin Elmer, ABD) 765 nm dalga boyunda ölçülerek standart

eğri çizilmiştir. Çizilen standart eğriye ait formül $y=0.0014x-0.0076$ olarak, R^2 değeri ise 0.9976 olarak belirlenmiştir.

Enkapsülasyon verimi

Enkapsülasyon verimi eşitlik (1) ile hesaplanmıştır (Çilek vd., 2012):

$$\%EE = \frac{EPC}{TPC} \times 100 \quad (1)$$

Eşitlikte EE; enkapsülasyon verimini (%), EPC: Toplam fenolik bileşik miktarı ve yüzey fenolik bileşik miktarının farkını (mg gallik asit/g kuru madde) ve TPC: toplam fenolik bileşik miktarını (mg gallik asit/g kuru madde) temsil etmektedir. Enkapsülasyon verimliliği için kullanılan Eşitlik 1'de pay ve paydada kaplama materyalinin miktarı aynı anda etkili olduğundan nihai sonucu etkilemediği görölmüş, bu nedenle hesaplamada dikkate alınmamıştır.

Isıl stabilite

Isıl stabilitenin hesaplanmasında eşitlik (2) kullanılmıştır:

$$\%Kayıp = \frac{\text{Hamurdaki toplam fenolik bileşik miktarı} - \text{Kektteki toplam fenolik bileşik miktarı}}{\text{Hamurdaki toplam fenolik bileşik miktarı}} \times 100 \quad (2)$$

Formülasyondan kaynaklanabilecek değeri elimine edebilmek için kontrol kek hazırlanmış ve pişirilmiş ve kontrole ait değeri çıkarılarak enkapsül ve tozdan kaynaklanan fenolik bileşik miktarları kullanılmıştır (Luca vd., 2014).

İstatistiksel analiz

Analizler sonucu elde edilen veriler Minitab 17 istatistik paket programı kullanılarak istatistiksel olarak değeriendirilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ile (ANOVA) grup ortalamaları arasındaki farklar belirlenmiştir ve istatistiksel açıdan önemli bulunan değeri Tukey testi ile $P \leq 0.05$ önem derecesine göre verilmiştir.

Sonuçlar ve tartışma

Yüzey fenolik bileşik miktarı

Farklı kaplama materyalleri ve kaplama oranları kullanılarak mikroenkapsülasyon işlemini uygulanmış kuşburnu örneklerinin yüzey fenolik

bileşik miktarları Şekil 1'de verilmiştir. Analiz sonucunda yüzey fenolik bileşik miktarları gam arabik ile 1:20 ve 1:30 oranlarında kaplanan örnekler için sırasıyla 1.32 ± 0.21 ve 2.19 ± 0.17 ; maltodekstrin ile 1:20 ve 1:30 oranlarında kaplanan örnekler içinse sırasıyla 2.24 ± 0.12 , 1.35 ± 0.19 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Kapsül yüzeyinde fazla miktarda fenolik bileşik bulunması, işlemin düşük verimle gerçekleştiğini ve etkin bir kaplama sağlanamadığını göstermektedir. Gam arabik ile kaplanmış örneklerde kaplama maddesi oranı arttırıldıkça yüzey fenolik bileşik miktarının arttığı görölmüştür ($P < 0.05$). Bu bilgiden yola çıkılarak gam arabik miktarının artmasıyla enkapsülasyon etkinliğinin azaldığı söylenebilir. Maltodekstrin ile kaplanmış örneklerde ise kaplama maddesi oranı arttııkça yüzey fenolik bileşik miktarının azaldığı görölmüş ve bu azalma istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Bu durum maltodekstrin miktarının artmasıyla enkapsülasyon etkinliğinin artması şeklinde açıklanabileceği gibi başlangıç fenolik madde konsantrasyonundaki düşüşle de ilişkilendirilmiştir. Çilek vd. (2012) tarafından vişne posasındaki fenolik bileşiklerin enkapsülasyonu üzerine farklı oranlarda gam arabik ve maltodekstrin kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Maltodekstrin oranı 1:10'dan 1:20'ye çıkartıldığında yüzey fenolik miktarı 14 mg GAE/g kuru maddeden 4.24 mg GAE/g kuru maddeye düşmüştür.

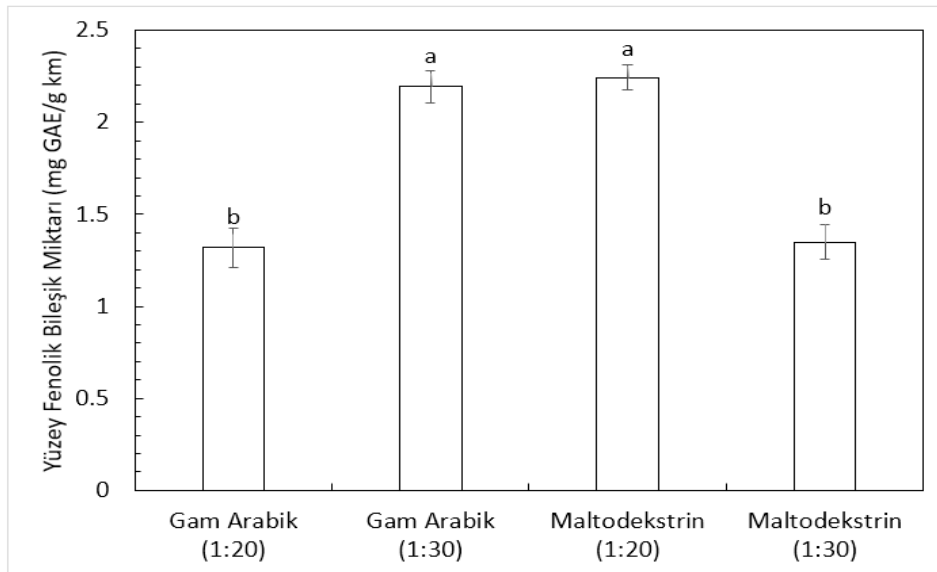
Benzer bir durum Saikia vd. (2015) tarafından *Averrhoa carambola* posasındaki fenolik bileşiklerin maltodekstrin ile ekstraksiyonu üzerine yapılan çalışmada da görölmektedir. Maltodekstrin oranının artmasıyla yüzey fenolik miktarı önemli ölçüde azalmış, 1:10 oranından 1:20 oranına geçişte 129 mg GAE/100 g kuru maddeden 23 mg GAE/100 g kuru maddeye düşmüştür.

Toplam fenolik bileşik miktarı

Mikroenkapsüllerin toplam fenolik madde miktarlarının kaplama maddesi çeşidi ve oranına göre değerişimleri Şekil 2'de sunulmuştur. Elde edilen veriler incelendiğinde kaplama maddesi ve oranının, mikroenkapsüllerdeki toplam fenolik bileşik miktarına etkisinin istatistiki açıdan önemli

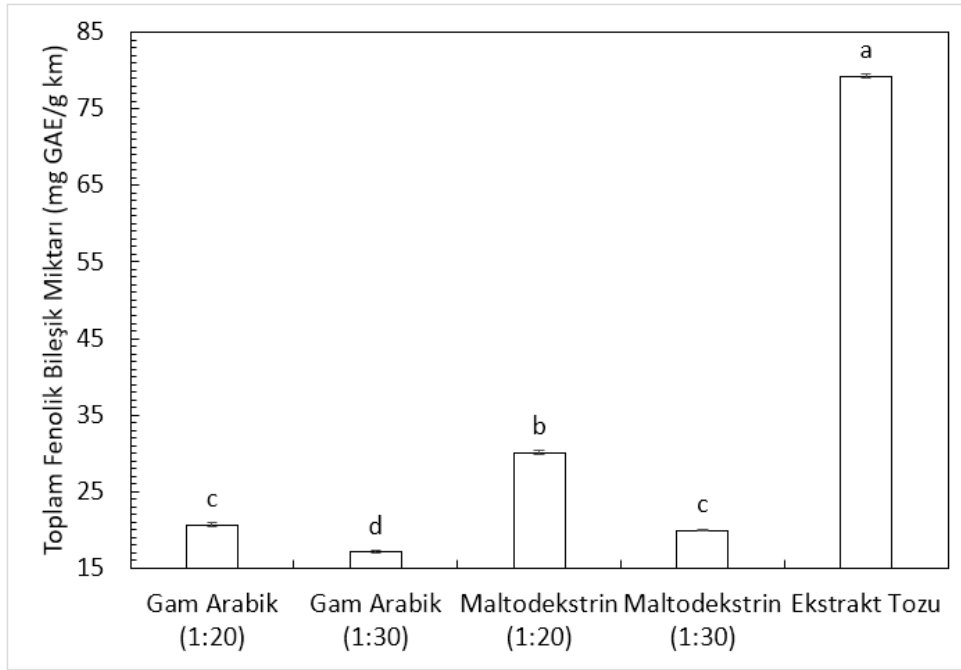
olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Kullanılan gam arabik ve maltodekstrin miktarı arttıkça toplam fenolik madde miktarında azalma görülmüştür. Bu durum, kaplama materyali miktarındaki artışın, fenolik madde konsantrasyonunda azalışa neden olması ile ilişkilendirilmiş ve bu nedenle enkapsülasyon verimi açısından bir yorum yapılamamıştır. Ancak literatürde benzer sonuçları rapor eden pek çok çalışma yer almaktadır. Tomson vd. (2020) bayır turpu suyunun, aralarında maltodekstrinin de bulunduğu kaplama materyalleri kullanılarak mikroenkapsülasyonu üzerine bir çalışma yayınlamışlardır. Yapılan çalışmada 20:80, 50:50 ve 80:20 oranlarında maltodekstrin kullanılarak çekirdek:kaplama materyali oranları denenmiş ve kaplama materyali miktarındaki artışın toplam fenolik bileşik miktarını 6129 ± 15 mg GAE/100 g kuru maddeden 1915 ± 26 mg GAE/100 g kuru maddeye kadar düşürdüğü rapor edilmiştir. Kaplama materyallerinin karışımındaki konsantrasyonlarındaki artışın toplam fenolik bileşik miktarına olumsuz etki yapması kaçınılmazdır. Başka bir ifade ile, toplam fenolik bileşik miktarındaki bu azalış, karışımlar oluşturulurken fenolik bileşik bakımından zengin olan kuşburnu tozunun toplam kuru madde içindeki oranının azalmasından kaynaklandığı

söylenbilir. Bunun yanında enkapsülasyon işlemi aşamalarından homejenizasyon işleminin de fenolik bileşiklerde mekanik hasara neden olabileceği literatürde rapor edilmiştir (Alifakı, 2019). Ayrıca, mikroenkapsülasyon işlemi için kullanılan dondurarak kurutma sırasında fenolik bileşik kaybı, dondurma işlemi ve gıda üzerinde oluşan 1031ehidrasyona stresi ile ilişkilendirilebilir (Papoutsis, 2018). Liyofilizasyon işlemi sonrası gerçekleştirilen parçalama işlemi de bu kayıptan sorumlu tutulmaktadır. Parçalama işlemi sırasında oksijene maruz kalan materyal yüzeyinin artışı fenolik bileşiklerin oksidasyonuna neden olarak kaybına sebebiyet verdiği literatürde farklı yayınlarda rapor edilmiştir (Papoutsis vd., 2018; Baysan vd., 2021). Bu sebeplere ek olarak dondurarak kurutma işlemi sırasında meyve dokularında bulunan bazı enzimlerin serbest kalması sonucunda fenolik bileşiklere zarar verebileceği de bildirilmiştir (Shofian vd., 2011). Ancak bu çalışma kapsamında örneklerin liyofilizasyon ile enkapsülasyonu öncesi gerçekleştirilen mikrodalga ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği sıcaklık ve süre dikkate alındığında inaktive olmayan enzim etkisinin diğer sebeplere göre daha sınırlı düzeyde olduğu düşünülmektedir.



Şekil 1. Farklı kaplama materyalleri ve çekirdek:kaplama materyali oranları ile hazırlanan mikroenkapsüllerin yüzey fenolik bileşik miktarları

Figure 1. Surface phenolics of encapsulated powders with different coating materials and core: coating material ratios



Şekil 2. Enkapsüle edilmemiş ekstrakt tozunun ve farklı kaplama materyalleri ve çekirdek:kaplama materyali oranları ile hazırlanan mikroenkapsüllerin toplam fenolik bileşik miktarları

Figure 2. Total phenolic contents of extract powder and encapsulated powders with different coating materials and core: coating material ratios

Kullanılan farklı kaplama materyalleri karşılaştırıldığında maltodekstrin ile kaplanan örneklerin toplam fenolik bileşik miktarının gam arabikle kaplanana kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, maltodekstrinin daha yüksek çözünürlük ve daha düşük viskozite değerlerine (Sarabandi vd. 2019) sahip olması nedeniyle fenolik bileşikler daha iyi sarması ile açıklanabilmektedir. Sarabandi vd. (2019) tarafından gerçekleştirilen patlıcan kabuğu ekstraktlarının mikroenkapsülasyonu ile ilgili başka bir çalışmada da maltodekstrin ile kaplanmış örneklerde, gam arabik ile kaplanmış örneklerle kıyasla daha yüksek oranda toplam fenolik madde görüldüğü bildirilmiştir. Benzeri şekilde Tolun vd. (2016) üzüm polifenollerinin enkapsülasyonu üzerine yaptıkları çalışmada maltodekstrinin fenolikleri daha iyi sarması nedeniyle daha yüksek toplam fenolik bileşik değerleri elde ettiklerini raporlamışlardır.

Bu çalışmada kuşburnu fenoliklerinin 1:20 oranında maltodekstrin kaplama materyali ile kaplanarak elde edilen mikroenkapsüllerinin toplam fenolik bileşik miktarı diğer ürünlerin

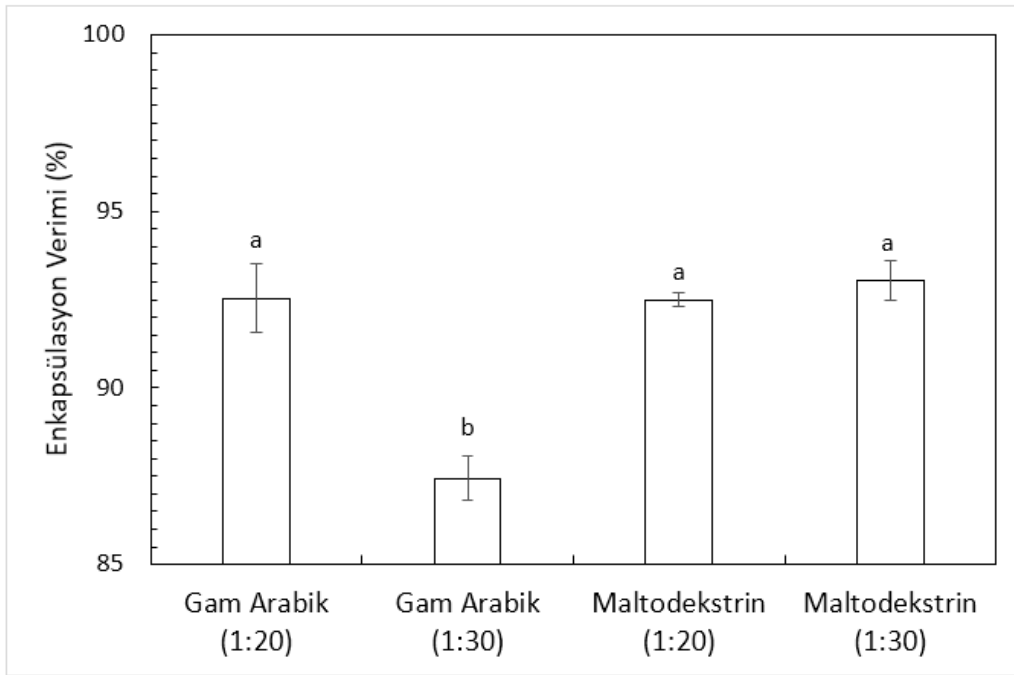
maltodekstrin kullanılarak 1:20 oranında hazırlanmış mikroenkapsülleri ile karşılaştırıldığında *Averrhoa carambola*'dan (2.3 mg GAE/g kuru madde (Saikia vd. 2015)), brokoli yan ürünlerinden (3.50 mg GAE/g kuru madde (Marinelli vd. 2020)) ve gilaburundan (12.67 mg GAE/g kuru madde (Alifakı, 2019)) daha yüksek ancak soğan kabuğundan (209.24 mg GAE/g kuru madde (Akdeniz, 2017)) ve üzüm çekirdeğinden (657.86 mg GAE/g kuru madde (Yadav vd., 2020)) daha düşük olduğu görülmüştür.

Enkapsülasyon verimi

Farklı kaplama maddeleri ve kaplama oranlarının enkapsülasyon verimine etkisi Şekil 3'te sunulmuştur. En yüksek enkapsülasyon verimi (%94.19±0.16) kaplama materyali olarak gam arabığın, çekirdek:kaplama materyali oranı olarak ise 1:20 oranının kullanıldığı örneklerde elde edilmiştir. Gam arabikle kaplanan örneklerde çekirdek:kaplama materyali oranının artmasının enkapsülasyon verimliliğini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür ($P < 0.05$). Maltodekstrin kullanılarak yapılan enkapsülasyon işleminde ise

çekirdek:kaplama materyali oranının artmasıyla azalan enkapsülasyon verimliliği istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Benzeri şekilde, Akdeniz vd. (2017) tarafından soğan kabuğundaki fenolik bileşiklerin enkapsülasyonu ile ilgili sunulan çalışmada maltodekstrin kaplama oranı 1:10'dan 1:20'ye çıkarıldığında enkapsülasyon veriminin istatistiksel olarak önemli derecede değişmediği belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada gam arabik ve maltodekstrin karışımı ile hazırlanan mikroenkapsüllerde ise gam arabik'in, enkapsülasyon verimliliğini azalttığı rapor edilmiştir. Sarabandi vd. (2019) tarafından yapılmış patlıcan kabuğu ekstraktlarının

enkapsülasyonu ile ilgili başka bir çalışmada da maltodekstrin ve gam arabik kaplama materyali olarak değerlendirilmiş, daha yüksek çözünürlük ve daha düşük viskozite değerlerine sahip maltodekstrinle kaplanmış örneklerin enkapsülasyon verimliliğinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Karbonhidrat bazlı bir kaplama materyali olan maltodekstrin ve gam arabik'in karşılaştırıldığı diğer bir çalışmada yine maltodekstrinin üzüm polifenollerini kaplamada daha yüksek verim sergilediği bu durumun maltodekstrinin fiziksel özellikleri nedeniyle fenolikleri daha iyi sarmalamasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Tolun vd. 2016).



Şekil 3. Farklı kaplama materyallerinin ve çekirdek:kaplama materyali oranlarının enkapsülasyon verimine etkisi.

Figure 3. The effect of different coating materials and core: coating material ratios on encapsulation efficiency

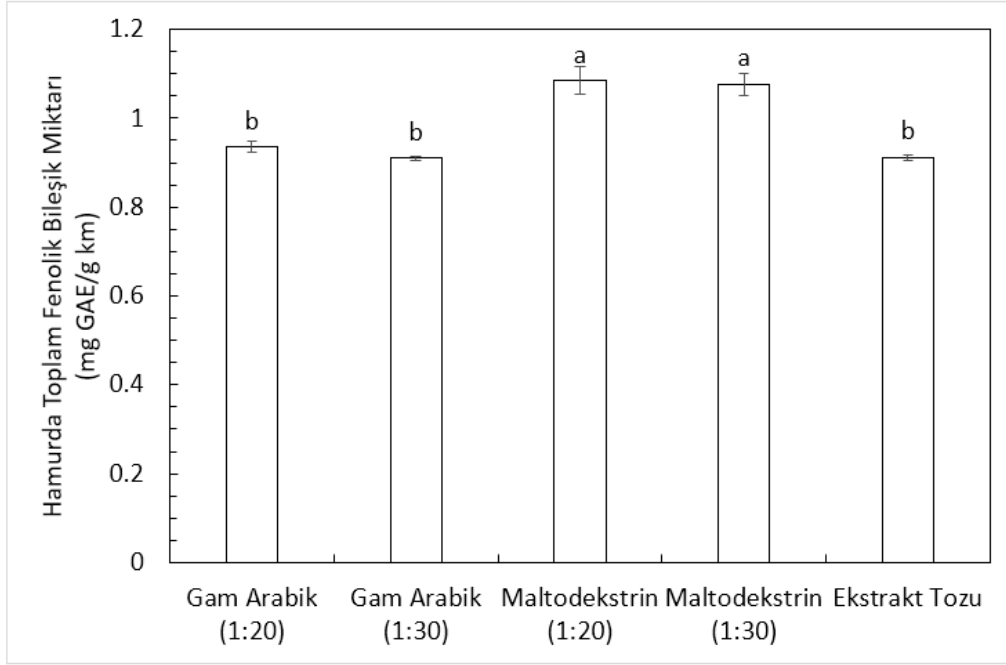
Isıl stabilite

Farklı kaplama materyalleri ve kaplama oranları kullanılarak hazırlanmış mikroenkapsüllerin ve enkapsüle edilmemiş ekstrakt tozunun kek hamuruna eklendikten sonraki toplam fenolik bileşik miktarları Şekil 4'te verilmiştir. Mikroenkapsüller ve enkapsüle edilmemiş ekstrakt tozu, kek hamurunun hazırlanmasının ardından hamura eklenecek karıştırılmıştır. Kaplama materyali olarak gam arabik ya da maltodekstrin kullanılması mikroenkapsül

eklenmiş hamur örneklerinin toplam fenolik madde miktarı üzerinde istatistiksel olarak önemli bir fark oluşturmuştur ($P < 0.05$). Gam arabikle kaplanmış mikroenkapsüllerin eklendiği hamurların toplam fenolik bileşik miktarlarının maltodekstrinle kaplanan mikroenkapsüllerin eklendiklerine göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Kaplama oranının etkisi incelendiğinde ise her iki kaplama materyali için de oranda artışın hamur örneklerinin toplam fenolik bileşik miktarı üzerine etkili olmadığı

tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Enkapsüle edilmemiş ekstrakt tozu eklenen hamur örnekleri, maltodekstrin ile kaplanmış mikroenkapsül eklenen örneklerle karşılaştırıldığında toplam fenolik bileşik miktarının daha düşük bulunması karıştırma ve çırpma sırasında enkapsüle

edilmemiş ekstrakt tozlarının daha çok hasar görmesiyle ilişkilendirilmiştir. Buna ek olarak, enkapsülasyon işlemi sırasında uygulanan homojenizasyon işleminin de fenolik bileşiklere zarar verdiği literatürde bildirilmiştir (Alifaki 2019).

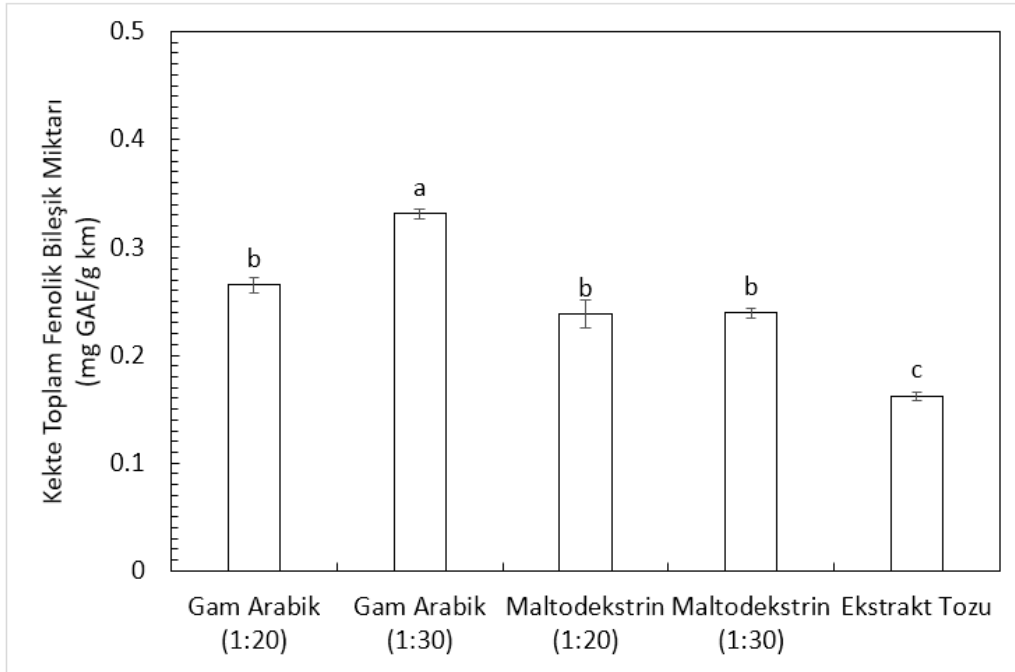


Şekil 4. Farklı kaplama materyalleri ve kaplama oranları ile hazırlanmış mikroenkapsüllerin ve enkapsüle edilmemiş ekstrakt tozunun eklendiği kek hamurlarının toplam fenolik bileşik miktarları

Figure 4. Total phenolic content of extract powder and microcapsules with different coating materials and ratios added cake batter

Farklı kaplama materyali ve kaplama oranları kullanılarak hazırlanan mikroenkapsüllerin eklendiği hamurların pişirilmesi sonucu elde edilen kek örneklerinin toplam fenolik madde miktarları Şekil 5'te verilmiştir. Gam Arabik mikroenkapsüllerinin ilave edildiği kek örneklerinde kaplama oranının toplam fenolik madde miktarına etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). 1:30 kaplama oranına sahip olan numunedeki toplam fenolik madde miktarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda maltodekstrin mikroenkapsüllerinin işlem koşullarının etkisi ile kısmen parçalandığı, gam arabik mikroenkapsüllerinin ise küresel yüzey yapısı sayesinde daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Krishnan vd., 2005). Maltodekstrin mikroenkapsüllerinin ilave edildiği kek

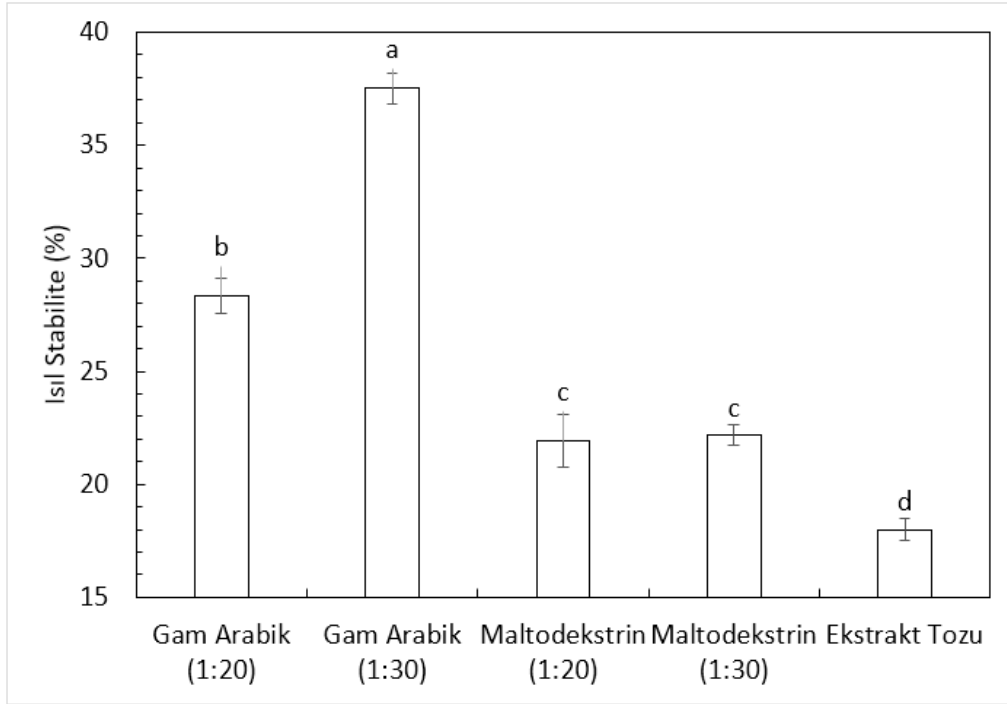
örneklerinde ise kaplama oranının fenolik bileşik miktarı üzerine istatistiksel açıdan önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür ($P < 0.05$). Kaderides vd. (2020) tarafından gerçekleştirilen, portakal kabuğu yan ürünlerinin nar kabuğu ekstraktının enkapsülasyonu için kullanıldığı bir çalışmada ise, mikroenkapsüller ve enkapsüle edilmemiş ekstraktlar kurabiyelerde biyofonksiyonel bileşenler olarak kullanılmıştır. 210°C'de 10 dakika süreyle gerçekleştirilmiş olan pişirme ve sonrasındaki saklama işlemi sırasında fenolik madde içeriği incelenmiş, mikroenkapsül eklenmiş örneklerde %65 ve mikroenkapsüle edilmemiş ekstrakt eklenmiş örneklerde ise %76 kayıp olduğu belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda mikroenkapsülasyon işleminin fenolik bileşik içeriğindeki kaybı azalttığı tespit edilmiştir.



Şekil 5. Farklı kaplama materyali ve kaplama oranları ile hazırlanan mikroenkapsül ve enkapsüle edilmemiş ekstrakt tozu eklenen keklerin pişirme sonundaki toplam fenolik bileşik miktarları
 Figure 5. Total phenolic contents of extract powder and microcapsules with different coating materials and coating ratios added cakes after baking

Farklı kaplama materyalleri ve kaplama oranları kullanılarak hazırlanan mikroenkapsüllerin ve enkapsüle edilmemiş ekstrakt tozunun ısıl stabiliteyi ise Şekil 6'da verilmiştir. Enkapsülasyon işleminin pişirme sırasında toplam fenolik bileşik miktarının korunmasına etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Bir başka deyişle, mikroenkapsülasyon işleminin fenolik bileşiklerin ısıl işlem koşullarının etkisiyle zarar görmesini engellediği tespit edilmiştir. Maltodekstrin mikroenkapsülleri için kaplama oranları arasında ısıl stabilite açısından istatistiksel olarak önemli bir fark görülmezken ($P > 0.05$) gam arabik mikroenkapsüllerinde kaplama oranının ısıl stabiliteyi arttırdığı bulunmuştur ($P < 0.05$). 1:30 çekirdek:kaplama materyali oranı ile kaplanmış mikroenkapsüllerin ısıl stabilitesinin en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu veriler ışığında, ısıl stabilite açısından (%37.51±1.32) en ideal kaplama materyalinin gam arabik ve en uygun çekirdek:kaplama materyali oranının ise 1:30 olduğu sonucuna varılmıştır. Literatürde de benzeri sonuçlar rapor edilmiştir; Suhag vd. (2016) kaplama materyali olarak %35-40-45

oranlarında gam arabik kullanılan bal tozu mikroenkapsüllerini incelemişler ve gam arabik oranındaki artışın örneklerde C vitamininin ısıl stabilitesini arttırdığını bildirmişlerdir. Ballesteros vd. (2017) tarafından yapılan bir başka çalışmada atk kahve çekirdeği ekstraktlarının enkapsülasyonu araştırılmış ve enkapsülasyonun fenolik bileşiklerin ısıl stabilitesini arttırdığı ve gam arabik'in daha verimli olduğu belirtilmiştir. Gong vd. (2020) ise yaptıkları çalışmada tarçın aromasının ısıl stabilitesini arttırmak için ultrasonik destekli mikroenkapsülasyon işlemi uygulamış ve mikroenkapsülasyon işlemi ile aromanın 150-250°C pişirme sıcaklıklarında bile korunduğunu bildirmişlerdir. Luca vd. (2014) ise maltodekstrin ve gam arabik karışımı kullanarak gerçekleştirdikleri enkapsülasyon işleminin, vişneden elde edilmiş olan fenolik bileşiklerin 175°C'de 22 dakika gerçekleştirilen uygulamada ısıl stabilitesini %22.2'den %30.7'ye yükselttiğini belirtmişlerdir.



Şekil 6. Farklı kaplama materyalleri ve kaplama oranları ile hazırlanan mikroenkapsüllerin ve enkapsüle edilmiş kuşburnu ekstraktı tozunun ısıl stabiliteleeri

Figure 6. Thermal stability of extract powder and microcapsules with different coating materials and coating ratios and rosehip extract

Kuşburnu fenolik bileşiklerinin işlem koşullarına karşı stabiliteleeri arttırmak için mikroenkapsülasyon işleminin uygulanması ve uygun kaplama materyali ve kaplama oranlarının (1:20 ve 1:30) incelenmesi sonucu elde edilen verilerin literatüre katkı sağladığı düşünülmektedir. Enkapsülasyon verimi ve ısıl stabilite bir arada değerlendirildiğinde en uygun kaplama materyalinin gam arabik, en uygun çekirdek:kaplama materyali oranının ise 1:30 olduğu sonucuna varılmıştır. Bu şartlar altında hazırlanan mikroenkapsüllerde en yüksek enkapsülasyon verimi 94.19 ± 0.16 , ısıl stabilite değeri ise 37.51 ± 1.32 olarak hesaplanmıştır. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda, belirlenen en uygun işlem koşulları ve kaplama materyali ile hazırlanan mikroenkapsüllerin daha detaylı incelenmesinin, parçacık özelliklerinin, morfolojik yapılarının, saklama stabiliteleerinin ve biyoyararlılıklarının belirlenmesinin uygun olacağı düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

FE, ENG, MSY, İS ve YS deneylerin planlanması ile yapıışında görev almışlar ve taslak metni oluşturmuşlardır. OS danışman olarak çalışma fikrinin oluşmasında, deney tasarımının oluşturulmasında, verilerin değerlendirilmesinde ve taslağın kontrolünde/düzenlenmesinde görev almıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımızın tüm aşamalarında öneri ve bilgilerini paylaşarak çalışmalarımızın yönlendirilmesine katkıda bulunan Yaşar Özlem ALİFAKI'ya en içten teşekkürlerimizi bir borç biliriz.

Bu bitirme tezi 'KUŞBURNU BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN FENOLİK BİLEŞİKLERİN MİKROENKAPSÜLASYONU' başlıklı, 20Ö0443001 proje numaralı Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nce desteklenen proje kapsamında yürütülmüştür.

KAYNAKÇA

Alifakı, Ö.Y. (2019). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) meyvesinden yeni yöntemlerle fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu ve gilaburu tozunun mikroenkapsülasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 274 s.

Akdeniz, B. (2017). Evaluation of different coating materials for encapsulation of phenolic compounds extracted from onion (*Allium cepa*) skin. Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 131 s.

Akdeniz, B., Şumnu, G., Şahin, S. (2017). The effects of maltodextrin and gum arabic on encapsulation of onion skin phenolic compounds. *Chem Eng Trans*, 57: 1891-1896, doi: 10.3303/CET1757316.

Asami, D.K., Hong, Y.J., Barrett, D.B., Mitchell, A.E. (2003). Comparison of the total phenolic and ascorbic acid Content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *J Agric Food Chem*, 51(5): 1237-1241, doi: 10.1021/jf020635c.

Ballesteros, L.F., Ramirez, M.J., Orrego, C.E., Teixeira, J.A., Mussatto, S.I. (2017). Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food Chem*, 237: 623-631, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.05.142.

Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R. (2011). Exotic fruits as a source of important phytochemicals: Improving the traditional use of *Rosa canina* fruits in Portugal. *Food Res Int*, 44(7): 2233-2236, doi: 10.1016/j.foodres.2010.10.005.

Baysan, U., Bastioğlu, A.Z., Coşkun, N.Ö., Takma, D.K., Balçık, E.Ü., Hilal, S.N., Koç, M.

(2021). The effect of coating material combination and encapsulation method on propolis powder properties. *Powder Technol*, 384: 332-341, doi: 10.1016/j.powtec.2021.02.018.

Bhave, A., Schulzova, V., Chmelarova, H., Mrnka, L., Hajslova, J. (2017). Assessment of rosehips based on the content of their biologically active compounds. *J Food Drug Anal*, 25(3): 681-690, doi: 10.1016/j.jfda.2016.12.019.

Cano-Chauca, M., Stringheta, P.C., Ramos, A.M., Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Sci and Emerg Technol*, 6(4): 420-428, doi: 10.1016/j.ifset.2005.05.003.

Çağlar, M.Y., Demirci, M. (2017). Üzümsü meyvelerde bulunan fenolik bileşikler ve beslenmedeki önemi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(11): 18-26.

Çilek, B., Luca, A., Hasirci, V., Şahin, S., Şümmü, G. (2012). Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. *Eur Food Res Technol*, 235(4): 587-596, doi: 10.1007/s00217-012-1786-8.

Desai, K.G.H., Park, H.J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technol*, 23(7): 1361-1394, doi: 10.1081/DRT-200063478.

Ercişli, S. (1996). Gümüşhane ve ilçelerinde doğal olarak yetişen kuşburnuların (*Rosa* spp.) seleksiyon yoluyla ıslahı ve çelikle çoğaltma imkanları üzerinde bir araştırma. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Erzurum, Türkiye, 174 s.

Ercişli, S. (2007). Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chem*, 104(4): 1379-1384, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.01.053.

Fetni, S., Bertella, N., Ouahab, A., Zapater, J.M.M., Fernandez, S.P.T. (2020). Composition and biological activity of the Algerian plant *Rosa canina* L. by HPLC-UV-MS. *Arabian J Chem*, 13(1): 1105-1119, doi: 10.1016/j.arabjc.2017.09.013.

- Gong, C., Lee, M.C., Godec, M., Zhang, Z., Abbaspourrad, A. (2020). Ultrasonic encapsulation of cinnamon flavor to impart heat stability for baking applications. *Food Hydrocoll*, 99: 105316, doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105316.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Sci Technol*, 15(7-8): 330–347, doi: 10.1016/j.tifs.2003.10.005.
- Guimarães, R., Barros, L., Calheta, R.C., Carvalho, A.M., Queiroz, M.J.R.P., Ferreira, I.C.F.R. (2013). Bioactivity of different enriched phenolic extracts of wild fruits from northeastern Portugal: A comparative study. *Plant Foods Hum Nutr*, 69(1): 37–42, doi: 10.1007/s11130-013-0394-5.
- Güler, S. (1997). Doğu Anadolu Bölgesi'nde doğal yayılış gösteren kuşburnu (*Rosa L.*) türleri, yetiştirme teknikleri ve kullanım alanları. Doğu Anadolu Ormanlık Araştırma Müdürlüğü Yayınları, Teknik Rapor Serisi No. 2, Erzurum, Türkiye, 59 s.
- Kaderides, K., Mourtzinou, I., Ghoul, A.M. (2020). Stability of pomegranate peel polyphenols encapsulated in orange juice industry by-product and their incorporation in cookies. *Food Chem*, 310: 125849, 10.1016/j.foodchem.2019.125849.
- Khoee, S., Yaghoobian, M. (2017). Niosomes: a novel approach in modern drug delivery systems. *Nanostructures for Drug Delivery*, 207-237, doi: 10.1016/B978-0-323-46143-6.00006-3.
- Krishnan, S., Bhosale, R., Singhal, R.S. (2005). Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydr Polym*, 61(1): 95-102, doi: 10.1016/j.carbpol.2005.02.020.
- Kuck, L.S., Noreña, C.P.Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chem*, 194: 569-576, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.08.066.
- López-Franco Y.L., Gooycolea F.M., Lizardi-Mendoza, J. (2015). Gum of *Prosopis Acacia* species. *Polysaccharides*, 1-20, doi: 10.1007/978-3-319-03751-6_14-1.
- Luca, A., Çilek, B., Hasırcı, V., Şahin, S., Şumnu, G. (2014). Storage and baking stability of encapsulated sour cherry phenolic compounds prepared from micro- and nano-suspensions. *Food Bioprocess Technol*, 7(1): 204–211, doi: 10.1007/s11947-013-1048-1.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release - a review. *Int J Food Sci Technol*, 41(1): 1–21, doi: 10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x.
- Marinelli, V., Spinelli, S., Angiolillo, L. Nobile, M.A.D., Conte, A. (2020). Emerging techniques applied to by-products for food fortification. *J Food Sci Technol*, 57: 905–914, doi: 10.1007/s13197-019-04123-8.
- Murathan, Z.T., Zarifkhosroshahi, M., Kafkas, E., Sevindik, E. (2016). Characterization of bioactive compounds in rosehip species from east anatolia region of Turkey. *Ital J Food Sci*, 28(2): 314-325.
- Orhan, D.D., Harvetioğlu, A., Küpeli, E., Yeşilada, E. (2007). In vivo anti-inflammatory and antinociceptive activity of the crude extract and fractions from *Rosa canina* L. fruits. *J Ethnopharmacol*, 112(2): 394-400, doi: 10.1016/j.jep.2007.03.029.
- Öz, M., Baltacı, C., Deniz, İ. (2018). Gümüşhane yöresi kuşburnu (*Rosa canina* L.) ve siyah kuşburnu (*Rosa pimpinellifolia* L.) meyvelerinin C vitamini ve şeker analizleri. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(2): 284-292, doi: 10.17714/gumusfenbil.327635.
- Papoutsis K., Golding, J.B., Vuong, Q., Pristijono, P., Stathopoulos, C.E., Scarlett, C.J., Bowyer, M. (2018). Encapsulation of citrus by-product extracts by spray-drying and freeze-drying using combinations of maltodextrin with soybean protein and ι -carrageenan. *Foods*, 7(7): 115-127, doi: 10.3390/foods7070115.
- Saikia, S., Mahnot, N.K., Mahanta, C.L. (2015). Optimisation of phenolic extraction from *Averrhoa carambola* pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray

- and freeze drying. *Food Chem*, 171: 144-152, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.08.064.
- Sarabandi, K., Jafari, S.M., Mahoonak, A.S., Mohammadi, A. (2019). Application of gum arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source. *Int J Biol Macromol*, 140: 59-68, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.133.
- Shofian, N.M., Hamid, A.A., Osman, A., Saari, N., Anwar, F., Dek, M.S.P., Hairuddin, M.R. (2011). Effect of freeze-drying on the antioxidant compounds and antioxidant activity of selected tropical fruits. *Int J Mol Sci*, 12(7), 4678–4692, doi: 10.3390/ijms12074678.
- Silva, P.T.D., Fries, L.L.M., Menezes, C.R.D., Holkem, A.T., Schwan, C.L., Wigmann, É.F., Bastos, J.O., Silva, C.B. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciênc. Rural*, 44(7): 1304-1311, doi: 10.1590/0103-8478cr20130971.
- Stanila, A., Diaconeasa, Z., Roman I., Sima, N., Maniutiu, D., Roman, A., Sima, R. (2015). Extraction and characterization of phenolic compounds from rose hip (*Rosa canina* L.) using liquid chromatography coupled with electrospray ionization - mass spectrometry. *Not Bot Horti Agrobo*, 43(2): 349-354, doi: 10.15835/nbha43210028.
- Suhag, Y., Nayik, G.A., Nanda, V. (2016). Effect of gum arabic concentration and inlet temperature during spray drying on physical and antioxidant properties of honey powder. *J Food Meas Charact*, 10(2): 350-356, doi: 10.1007/s11694-016-9313-4.
- Tolun, A., Altıntaş, Z., Artık, N. (2015). Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: development and characterization. *J Biotechnol*, 239: 23-33, doi: 10.1016/j.jbiotec.2016.10.001.
- Tomsone, L., Galoburda, R., Kruma, Z., Durrieu, V., Cinkmanis, I. (2020). Microencapsulation of Horseradish (*Armoracia rusticana* L.) Juice using spray-drying. *Foods*, 21(9): 1332-1349, doi: 10.3390/foods9091332.
- Tonon, R.V., Brabet, C., Pallet, D., Brat, P., Hubinger, M.D. (2009). Physicochemical and morphological characterisation of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) powder produced with different carrier agents. *Int J Food Sci Technol*, 44(10): 1950–1958, doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.02012.x.
- Waterhouse, A.L. (2002). Determination of total phenolics. *Curr Protoc Food Anal Chem*. 6(1): I1.1.1-I1.1.8.
- Wen, J., Chen, G., Alany, R.G. (2014). Theories and concepts of nano-materials, nano- and microencapsulation. *Nano Microencapsul Foods*. 15-42, doi: 10.1002/9781118292327.ch2.
- Wenzig, E.M., Widowitz, U., Kunert, O., Chrubasik, S., Bucar, F., Knauder E., Bauer, R. (2008). Phytochemical composition and in vitro pharmacological activity of two rose hip (*Rosa canina* L.) preparations. *Phytomedicine*, 15(10): 826-835, doi: 10.1016/j.phymed.2008.06.012.
- Yadav, K., Bajaj, R.K., Mandal, S., Mann, B. (2020). Encapsulation of grape seed extract phenolics using whey protein concentrate, maltodextrin and gum arabica blends. *J Food Sci Technol*, 57: 426-434, doi: 10.1007/s13197-019-04070-4.

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION CONDITIONS OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM *ALCHEMILLA VULGARIS* USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

Sercan Özbek Yazıcı*

Burdur Mehmet Akif Ersoy, University, Health Science Faculty, Nutrition and Dietetics Department, Burdur, Turkey

Received / Geliş: 28.02.2021; Accepted/ Kabul: 07.06.2021; Published online/ Online baskı: 17.07.2021

Özbek-Yazıcı, S. (2021). Optimization of the extraction conditions of phenolic compounds from *Alchemilla vulgaris* using response surface methodology. GIDA (2021) 46 (4) 1040-1052 doi: 10.15237/gida.GD21047

Özbek-Yazıcı, S. (2021). *Alchemilla vulgaris*'ten fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimizasyonu. GIDA (2021) 46 (4) 1040-1052 doi: 10.15237/gida.GD21047

ABSTRACT

The object of this study is to determine the best solvent and optimum extraction conditions for extraction of maximum phenolic compounds from *Alchemilla vulgaris* leaves. Extractions were carried out using solvents with different polarities. Box-Behnken Design was used to optimize extraction conditions including extraction time, temperature, and liquid/solid ratio. In the study, extract obtained with acetone-water indicated the highest total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and antioxidant activity. Optimum extraction conditions for both responses were found as 168 min, 48.5 °C, and liquid/solid ratio of 41:1. The maximum TPC and TFC values were determined as 7.17 mg GAE/gdw and 3.63 mg QE/gdw under optimum extraction conditions. Concentrations of five phenolic compounds analyzed by HPLC increased significantly after optimization. The results indicated that optimizing extraction conditions is critical for quantification of phenolic compounds. The present model can contribute to food industry where phenolic compounds have potential use as biopreservatives.

Keywords: *Alchemilla vulgaris*, antioxidant activity, Box-Behnken design, extraction optimization, phenolic compounds

***ALCHEMILLA VULGARIS*'TEN FENOLİK BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ YANIT YÜZEY YÖNTEMİ KULLANILARAK OPTİMİZASYONU**

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, *Alchemilla vulgaris* bitkisinin yapraklarından maksimum fenolik bileşik ekstraksiyonu için en iyi çözücünün ve optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesidir. Ekstraksiyonlar, farklı polaritelere sahip çözücüler kullanılarak gerçekleştirildi. Box-Behnken tasarımı (BBD), ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve sıvı / katı oranı içeren ekstraksiyon koşullarını optimize etmek için kullanıldı. Çalışmada aseton-su ile elde edilen ekstrakt, en yüksek toplam fenolik içerik (TPC), toplam flavonoid içerik (TFC) ve antioksidan aktivite göstermiştir. Her iki yanıt için optimum ekstraksiyon koşulları, 168 dakika, 48.5 °C ve 41:1 sıvı / katı oranı olarak bulundu. Optimum ekstraksiyon koşulları altında maksimum TPC ve TFC değerleri 7.17 mg GAE / gdw ve

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: sozbekyazici@hotmail.com

☎ (+90) 248 213 3554

☎ (+90) 248 213 3503

Sercan Özbek Yazıcı; ORCID no: 0000-0003-3406-4291

3.63 mg QE / gdw olarak belirlendi. HPLC ile analiz edilen beş fenolik bileşiğin konsantrasyonlarının, optimizasyondan sonra önemli ölçüde arttığı bulundu. Sonuçlar, ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesinin fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi için önemli olduğunu göstermektedir. Mevcut model, fenolik bileşiklerin biyo-koruyucu olarak potansiyel kullanıma sahip olduğu gıda endüstrisine katkıda bulunabilir.

Anahtar kelimeler: *Alchemilla vulgaris*, antioksidan aktivite, Box-Behnken tasarımı, ekstraksiyon optimizasyonu, fenolik bileşikler

INTRODUCTION

Today, plants are becoming increasingly popular related to their potential as a source of bioactive compounds. These compounds promote various health benefits and inhibit or reduce the risk of human diseases due to their antioxidant activities (Sepahpour et al., 2020). Among the phytochemical substances, many polyphenols with antioxidant properties exist in plants have been shown to be antibacterial, anti-inflammatory, and anti-tumor agents (Pham et al. 2019). In addition, polyphenols, which are natural antioxidants, have increased their use in the food and pharmaceutical industry instead of synthetic antioxidants (Sousa et al. 2019).

Extraction is a crucial step to obtain biologically active compounds (Pham et al. 2019). However, there is no standard method for the extraction of phenolics. This problem is due to the great diversity of these compounds, which give them different physicochemical properties (Sousa et al. 2019). For extraction, there are different extraction methods including traditional methods such as maceration and modern methods such as microwave extraction, ultrasound extraction. Although modern methods have ensured efficient extractions, they are expensive or/and have certain disadvantages (Cacique et al., 2020). For instance, the main disadvantages of microwave extraction method are: unbalanced heating and/or overheating of extracts cause thermal degradation of phenolic acids. In addition, it has been reported that ultrasonic waves may cause the degradation of some phenolic acids and the formation of reactive hydroxyl radicals (Al Jitan et al. 2018). Maceration which is one of the oldest traditional extraction methods is used commonly due to its simple methodology and low cost (Uysal et al., 2019). The disadvantages of this method are the large volume of solvents, the long processing time (Cacique et al., 2020). The extraction of

phenolic compounds from plants are affected by various factors including extraction time, extraction temperature, extraction solvent and solvent concentration (Ahmed et al., 2020). Therefore, it seems necessary to optimize extraction conditions using the appropriate solvent type for each plant sample to obtain the maximum yield.

Response Surface Methodology (RSM) has been broadly employed to design, analyze, and predict extraction conditions. The conventional one-factor-at-a-time approach of optimization is neglected the combined interaction of variables and does not guarantee obtaining optimal conditions. To solve this problem, statistical approaches such as Box-Behnken Design (BBD), which is one of RSM, have offered the opportunity to predict optimum extraction conditions and understand the interactions among extraction parameters (Belwal et al., 2016; Pham et al., 2019).

Alchemilla L. genus that belongs to the Rosaceae family is a perennial herbaceous plant and a popular garden herb commonly known as Lady's Mantle. It is reported that *Alchemilla* species are traditionally used to treat gynecological and gastrointestinal diseases and have diuretic, anti-inflammatory, antioxidant and anti-influenza properties (Acet and Özcan 2018; Hwang et al. 2018; Tasić-Kostov et al. 2019). A previous study demonstrated wound-healing properties of *A. vulgaris* associated with promitotic activity in epithelial cells and myofibroblasts (Shrivastava et al. 2007). Neagu et al. (2015) found that the *A. vulgaris* extract showed high acetylcholinesterase and high tyrosinase inhibitory effects: They suggested that it could be extremely useful in the treatment of degenerative diseases due to these properties of *A. vulgaris* extract. In one of the recent studies, *A. mollis* was found to protect from

UVB. Therefore, it has been suggested that *A. mollis* may be useful as a functional food for preventing photoaging in human skin caused by UVB (Hwang et al., 2018).

Alchemilla species are rich in flavonoids, phenolic acids, and tannins, which are proven to be responsible for some pharmacologic activities (Renda et al., 2017). Previous studies have revealed that *Alchemilla* sp. have high phenolic content and good antioxidant properties (Acet and Özcan 2018; Hwang et al. 2018; Tasić-Kostov et al. 2019). However, there is a deficiency in the studies focusing on the optimization of extraction conditions for maximum phenolic compounds extraction from *A. vulgaris*. Therefore, the aim of the present study is to determine the best solvent and to optimize extraction conditions for extraction of maximum phenolic compounds from *A. vulgaris* leaves by using maceration extraction method. The BBD was employed to predict the model and to optimize the extraction conditions (temperature, time, liquid/solvent ratio) based on total phenolic and flavonoids content. In addition, the variation of phenolic compounds in the extracts obtained before and after optimization was analyzed using HPLC.

MATERIAL AND METHODS

Plant Material and Extraction

A. vulgaris was obtained in June 2020 from the local market. The leaves of *A. vulgaris* were ground in a domestic blender and sieved to yield a powder with average particle diameter of 0.423 mm.

Maceration method was used for extracting phenolic compounds of *A. vulgaris* leaves. To define the best extraction solvent, extracts were prepared using pure methanol, pure ethanol, pure acetone, water, and aqueous mixtures of acetone, methanol, or ethanol (50%). The ground plant samples (1 g) were extracted with the appropriate solvent (10 mL) in a water bath at 30 °C and for 120 min after the mixture was vortexed. After the extraction procedure, the mixture was then centrifuged at 2000 x g for 5 min, and the supernatant was collected for analysis. The supernatant was stored at -18 °C until analyzed. The best solvent was determined based on

maximum TPC, TFC yields, and antioxidant activities (DPPH radical scavenging activity, ferric reducing power).

Total Polyphenol Content Determination

In the extracts, TPC was determined by using the Folin–Ciocalteu method (Mouratoglou et al. 2016). Gallic acid was used as standard, and the results are expressed in milligrams of gallic acid equivalent (GAE) per gram dry plant weight (mg GAE/g dw).

Flavonoid Content Determination

A previously published methodology was employed (Mouratoglou et al. 2016). The total flavonoid concentration was calculated from a quercetin calibration curve. Total flavonoid content was indicated as mg quercetin equivalents (QE) per g of dry plant weight (dw) (mg QE/g dw).

DPPH Free Radical Scavenging Assay

The free radical scavenging activity of extracts was assumed by DPPH· (Sánchez-Moreno et al., 2003). The percentage of DPPH radical remaining against extract concentration was then plotted to obtain the amount necessary to decrease the initial DPPH radical concentration by 50% (IC₅₀). IC₅₀ value was defined as extract concentration, providing 50% inhibition of mg dry plant sample per mL (mg (dw)/mL).

Ferric Reducing Power Assay

The Oyaizu method (1986) was used to determine ferric reducing power. The antioxidant capacity of extracts was expressed as EC₅₀. The EC₅₀ value (the effective concentration at which the absorbance was 0.5) was calculated from the graph of absorbance at 700 nm against extract concentration (mg (dw)/mL).

Optimization of Extraction Process using a Statistical Approach

In the study, firstly, the best solvent for the maximum phenolic yield was determined. After that, optimization of extraction conditions to increase phenolic yield was aimed using a statistical approach. The solvent defined to be the

best for extraction was used for extraction in the optimization step.

For optimization of extraction conditions, three independent variables were evaluated based on total phenolic compound and total flavonoid compound of extracts from *A. vulgaris* by using Box Behnken Design. The independent variables and their intervals were determined according to the literature research (Erurygur et al. 2018, Uysal

et al. 2019, Ahmed et al., 2020, Cacique et al. 2020). The variables were extraction time (A: 60-180 minutes), incubation temperature (B: 30-70 °C), and liquid/solid ratio (C: between 10:1 and 70:1). For BBD analyses, three levels as high (+1), medium (0) and, low (-1) were described. The code and the real value of each variable are presented in Table 1.

Table 1. Levels of independent variables tested in Box-Behnken design and their experimental designs levels for optimization of extraction conditions

Symbol	Variable	Units	Coded levels		
			-1	0	+1
A	Time	min	60	120	180
B	Temperature	°C	30	50	70
C	Liquid / Solid ratio		10	40	70

BBD experiments were conducted for optimization. Experimental design method was carried out by 17 experiments with five center

points to test the reproducibility of the test results. Table 2 represents the designs, and results of the experiment runs.

Table 2. Experimental design based Box-Behnken design for optimization of extraction conditions

Run order	Extraction Time (min)	Extraction Temperature (°C)	Liquid/Solid Ratio	TPC* (mgGAE/gdw)	TFC* (mgQE/gdw)
1	120.00	30.00	70.00	3.99	2.07
2	120.00	50.00	40.00	7.02	3.01
3	60.00	50.00	70.00	3.11	1.11
4	120.00	50.00	40.00	6.83	3.39
5	120.00	50.00	40.00	7.12	3.27
6	180.00	50.00	70.00	6.23	3.01
7	60.00	30.00	40.00	2.47	1.11
8	60.00	50.00	10.00	2.81	1.11
9	180.00	70.00	40.00	7.25	2.61
10	120.00	50.00	40.00	6.82	3.11
11	180.00	50.00	10.00	5.54	3.04
12	60.00	70.00	40.00	4.57	1.75
13	180.00	30.00	40.00	5.95	3.76
14	120.00	70.00	10.00	5.43	1.97
15	120.00	30.00	10.00	4.91	2.01
16	120.00	50.00	40.00	7.11	3.17
17	120.00	70.00	70.00	6.63	1.61

*Experimental results

The response function coefficients were defined by regression using the experimental data and

Design-Expert V7 trial version. For three variable systems, the model equation is as follows:

$$Y = \beta_0 + \beta_1A + \beta_2B + \beta_3C + \beta_{11}A^2 + \beta_{22}B^2 + \beta_{33}C^2 + \beta_{12}AB + \beta_{13}AC + \beta_{23}BC \quad (1)$$

Where Y is the predicted response (TPC and TFC), β_0 is the model constant; A, B, and C are independent variables; β_1 , β_2 , and β_3 are linear coefficients, β_{11} , β_{22} , and β_{33} are the quadratic coefficients and β_{12} , β_{13} , β_{23} are the cross-product coefficients. A, B, C are the independent variables. The coefficients of determination R^2 , adjusted R^2 , and predicted R^2 were used to determine the suitability of the developed mathematical polynomial equation. In addition, the three-dimensional (3-D) response surface graphs were plotted to illustrate the interaction of two variables (Figure 1). Lastly, experiments were made to confirm TPC and TFC values under the optimum extraction conditions predicted by BBD.

HPLC Analyses

Phenolic compounds (ellagic acid, catechin, chlorogenic acid, gallic acid, p-hydroxybenzoic acid) in the extracts were analyzed using high performance liquid chromatography (HPLC). This process was carried out as described in our previous study (Yazıcı et al., 2020). The results were expressed as $\mu\text{g/g}$ dry weight (dw) of *A. vulgaris* leaves.

Statistical Analyses

Statistical analyses were carried out with SPSS 20. Data are expressed as the mean \pm SD. One-way ANOVA was used to analyze the differences among extracts obtained with different solvents. The differences shown by data were significant ($P < 0.05$). Correlations among variables were performed with Pearson's correlation test.

RESULTS AND DISCUSSION

Solvent Selection for Extraction

The phenolic compounds have various chemical properties due to variations in type, number, and position of the functional groups. Therefore the solubility of these compounds can be affected by various solutions (Sepahpour et al., 2020). It is also reported that the polarity of solvents has a crucial role in the solubility of phenolic compounds (Haminiuk et al., 2014; Sepahpour et

al., 2020). Therefore, the choice of solvent for extraction is essential as it affects the type and amount of phenolic compound recovered.

Ethanol, methanol, and acetone which are polar organic solvents are used mostly for extraction (Coklar and Akbulut 2017; Park et al., 2019). However, using water for bioactive compounds extraction may be a safer option for pharmaceutical and food applications (Shelembe et al., 2012). This study investigates the impact of solvent type on the extraction of the phenolic compounds, using seven solvents in the process: acetone, ethanol, methanol, water, and aqueous mixtures of acetone methanol, or ethanol (1:1 v/v). Table 3 shows the TPC, TFC, and antioxidant activities of the extracts obtained with different solvents. All extracts were found to have significant total phenolic contents ranged from 1.08 mg to 4.83 mg GAE/g dw. There were significant differences in TPC and TFC of extracts obtained with different solvents ($P < 0.05$). Flavonoids and phenolics contents had similar extraction patterns, acetone-water extract exhibited the highest amount of TPC and TFC (4.83 mg GAE/g dw; 1.91mg QE/gdw respectively). However, water extract demonstrated the lowest amount of TPC and TFC (1.08 mg GAE/g dw; 0.68 mg QE/gdw, respectively) ($P < 0.05$). Polyphenols effectively dissolved in organic solvents which are less polar than water (Haminiuk et al., 2014). In the study, the differences in the phenolic content of the extracts obtained with different solvents could be attributed to solvents' polarities. In this work, the solvents used in terms of polarity can be put in order as water > methanol > ethanol > acetone (Coklar and Akbulut 2017). This study shows that the most efficient solvent for extraction of TPC and TFC from *A. vulgaris* is acetone-water, followed by ethanol-water and methanol-water. Similar results were reported by Al-Farsi and Lee (2008). In that, they reported that flavonoid and phenolic contents from date seeds were extracted highest with 50% acetone followed by ethanol, methanol, and their aqueous 50% solutions. In addition, aqueous solvent mixtures were found to be better than mono-component solvent for phenolic extraction. Polar solvents are mostly

utilized for recovering phenolic compounds from plant material. The most suitable solvents are aqueous mixtures containing ethanol, methanol, and acetone (Do et al., 2014). It was reported that addition of water to solvent may cause to increase the polarity and swell plant materials by allowing the solvent to easily penetrate the solid matrix

(Park et al., 2019). Similarly, Yilmaz et al., (2006) reported that aqueous mixtures of acetone, methanol, or ethanol were more effective than a mono-component solvent (water, acetone, methanol, or ethanol) for the extraction of phenolic compounds.

Table 3. Effect of solvent type on total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and antioxidant activities of extracts from *A. vulgaris***

Solvents	TPC *	TFC*	IC ₅₀ *	EC ₅₀ *
	mgGAE/g dw	mg QE/gdw	mg (dw)/mL	mg(dw)/mL
Acetone	3.04 ^{cd}	1.49 ^b	0.19 ^{cd}	3.15 ^d
Methanol	2.21 ^e	0.91 ^c	0.59 ^a	5.98 ^a
Ethanol	2.56 ^{de}	0.89 ^c	0.43 ^b	4.33 ^c
Water	1.08 ^f	0.68 ^c	0.62 ^a	6.23 ^a
Acetone-water	4.83 ^a	1.91 ^a	0.11 ^d	2.13 ^e
Methanol-water	3.44 ^{bc}	1.32 ^b	0.31 ^c	5.35 ^b
Ethanol-water	3.94 ^b	1.47 ^b	0.24 ^{cd}	3.34 ^d

*Values are mean ±SD (n=3). Different letter within the same column show differences of means among the extracts obtained with different solvent ($P<0.05$).

** Extracts was obtained at 30 °C and 10:1 of liquid/solid ratio for 120 min in water bath.

Alchemilla species are rich in phenolic compounds, which are responsible for some of the pharmacological activities (Renda et al., 2017). Vlaisavljević et al. (2019) evaluated the phytochemical profile and antioxidant properties of extracts from *A. vulgaris* obtained with methanol, ethanol, ethyl-acetate, and water. They obtained the highest TPC (9.65 mg GAE/g dw) with ethyl acetate. Murathan (2018) found that the total phenolic content in *A. sericata* was 427.2 mg/100g, while the total flavonoid content was 29.52 mg/100g. Denev et al. (2014) found that the total flavonoid content of the methanol extracts from *A. sericata* was 1831 mg/100g. Acet and Özkan (2018) reported that the higher phenolic content from *A. ellenbergiana* was found in methanol extract (777.2 mg/g extract GAE) and ethanol extract (750 mg/g extract GAE) than ethyl-acetate and hexane extracts. The change in the phenolic content of *Alchemilla* species can be explained by several factors such as environmental and genetic effects, plant organ, extraction method, and storage conditions (Rebey et al., 2012).

The phenolic compounds can play an important role in neutralizing and absorbing free radicals

(Borra et al., 2013). The effects of solvents on antioxidant activity of extracts were mostly attributed to the content change of total phenolic (Zhu et al., 2018). In this study, the antioxidant activities of extracts were evaluated with reducing power and DPPH assays. The lowest EC₅₀ or IC₅₀ means the highest antioxidant capacity. The DPPH IC₅₀ values in extracts varied from 0.11 to 0.62 mg (dw)/mL. Acetone-water extract showed higher radical scavenging activity, followed by acetone extract. EC₅₀ values of reducing power varied from 2.13 to 6.23 mg (dw)/mL. Similarly, ferric reducing power of acetone-water extract was the highest and significantly different from other extracts ($P<0.05$), followed by acetone extract. The extracts obtained with water and methanol exhibited significantly lesser antioxidant activity ($P<0.05$). Solvents dissolve substances with similar polarities (Wakeel et al., 2019). These differences in the antioxidant activity of the extracts obtained with solvents of different polarities may be related to with the variety of antioxidant compounds extracted. Similarly, in another study, the water extract of *A. vulgaris* showed significantly lower anti-radical activity compared to other extracts (Vlaisavljević et al., 2019).

Acetone–water mixture is reported as an effective solvent for the antioxidants (Yılmaz et al, 2006; Nasr et al., 2019). In this study, acetone-water extract with the highest TPC and TFC showed the best antioxidant activity. In contrast to our finding, methanol extracts of *Alchemilla* species are reported to have high antioxidant activities (Usta et al., 2013; Denev et al., 2014; Boroja et al., 2018; Murathan, 2018). These different results may be attributed to the extraction method and conditions that affect the antioxidant activities of the extract (Do et al., 2014).

In addition, Pearson's correlation coefficient indicated that TPC and TFC had a negative correlation with IC₅₀ of DPPH scavenging activities ($r = -0.883, -0.946$; respectively, $P < 0.01$) and EC₅₀ of reducing power capacities ($r = -0.816, -0.862$, respectively; $P < 0.01$). Previous studies found the correlation between TPC with DPPH scavenging activity and reducing power capacity (Tusevski et al. 2014). Phenolic compounds are majorly responsible for the antioxidant activity of plant (Zhao et al., 2014). The results of the study indicate that phenolic compounds may be the responsible for the antioxidant activity of extracts. As a result, phenolic content and antioxidants activity were

observed to be affected by the solvent type. Acetone-water extract with the highest TPC and TFC showed the best antioxidant activity in the study. Therefore, optimization of phenolic compound extraction from *A. vulgaris* was carried out using acetone-water as solvent.

Optimization of Extraction Conditions using BBD

Maceration is the easy and simple method for the recovery of bioactive compounds (Uysal et al. 2019). Many factors have been established to influence the extraction efficiency, such as solvent type, and solid to solvent ratio, extraction temperature, and time (Eruygur et al. 2018, Uysal et al. 2019, Ahmed et al., 2020, Cacique et al. 2020). In this study, 50% acetone-water was used for extraction of phenolic compounds from *A. vulgaris* in optimization. Extraction parameters including extraction time, extraction temperature, and liquid/solid ratio were improved extraction in the next step for optimal TPC and TFC yield by BBD (Table 2). BBD was employed to define the optimum level of parameters that provided maximum total phenolic and total flavonoid extractions and to understand the relationships between the extraction parameters with TPC, and TFC.

Table 4. ANOVA results for quadratic model obtained by BBD

Source	Df	TPC		TFC	
		F-Value	Prob > F	F-Value	Prob > F
Model	9	191.96	< 0.0001*	88.63	< 0.0001*
A-Extraction Time	1	749.35	< 0.0001*	438.42	< 0.0001*
B-Extraction Temperature	1	223.57	< 0.0001*	8.30	0.0236*
C- Liquid/Solid Ratio	1	8.38	0.0232*	0.89	0.3779
AB	1	6.65	0.0365*	52.15	0.0002*
AC	1	1.58	0.2490	0.015	0.9071
BC	1	46.70	0.0002*	2.87	0.1340
A2	1	327.85	< 0.0001*	36.52	0.0005*
B2	1	53.18	0.0002*	73.41	< 0.0001*
C2	1	247.29	< 0.0001*	157.29	< 0.0001*
Lack of Fit	3	1.27	0.3970	0.34	0.7980

* Significant parameter.

The variance analysis of the quadratic regression models designed for optimum TPC and TFC suggested that the models were statistically

significant, as shown in Table 4 ($P < 0.05$). The fitted second-order polynomial equation

illustrating the TPC and TFC yields by using response surface analysis is given in Eq. (2 and 3).

$$\begin{aligned} \text{TPC} = & +6.98 + 1.50 * A + 0.82 * B + 0.16 * C - \\ & 0.20 * A * B + 0.098 * A * C + 0.53 * B * C \\ & 1.37 * A^2 - 0.55 * B^2 - 1.19 * C^2 \end{aligned} \quad (2)$$

$$\begin{aligned} \text{TFC} = & +3.19 + 0.92 * A - 0.13 * B - 0.041 * C - 0.45 * A * B - \\ & 7.500 \text{E-}003 * A * C - 0.10 * B * C - 0.36 * A^2 - 0.52 * B^2 - \\ & 0.76 * C^2 \end{aligned} \quad (3)$$

The statistical significance of model terms is assumed by their respective *P*-value. Also, “The Lack of Fit F-value” is a special diagnostic test for adequacy of a model. Non-significant lack of fit is desirable. In the study, the predicted R^2 (0.96 and 0.96 respectively) and adjusted R^2 values for TPC and TFC (0.99 and 0.99, respectively) were in Figure 1.

reasonable agreement with the value of R^2 (0.99 and 0.98, respectively). The values of R^2 imply a correlation between the experimental results and predicted values (Uysal et al., 2019).

The statistical analysis indicates that the evaluated variables have a significant effect on TPC and TFC. Values of “Prob > F” less than 0.05 indicate that model terms are remarkable. In this case A, B, C, AB, BC, A2, B2, C2 are significant model terms for TPC. In addition, A, B, AB, A2, B2, C2 are significant model terms for TFC (Table 4). The effects of extraction time, extraction temperature, and liquid/solid ratio on TPC and TFC were illustrated in 3-D response surface graphs. The 3-D plot graphical representations are shown in Figure 1.

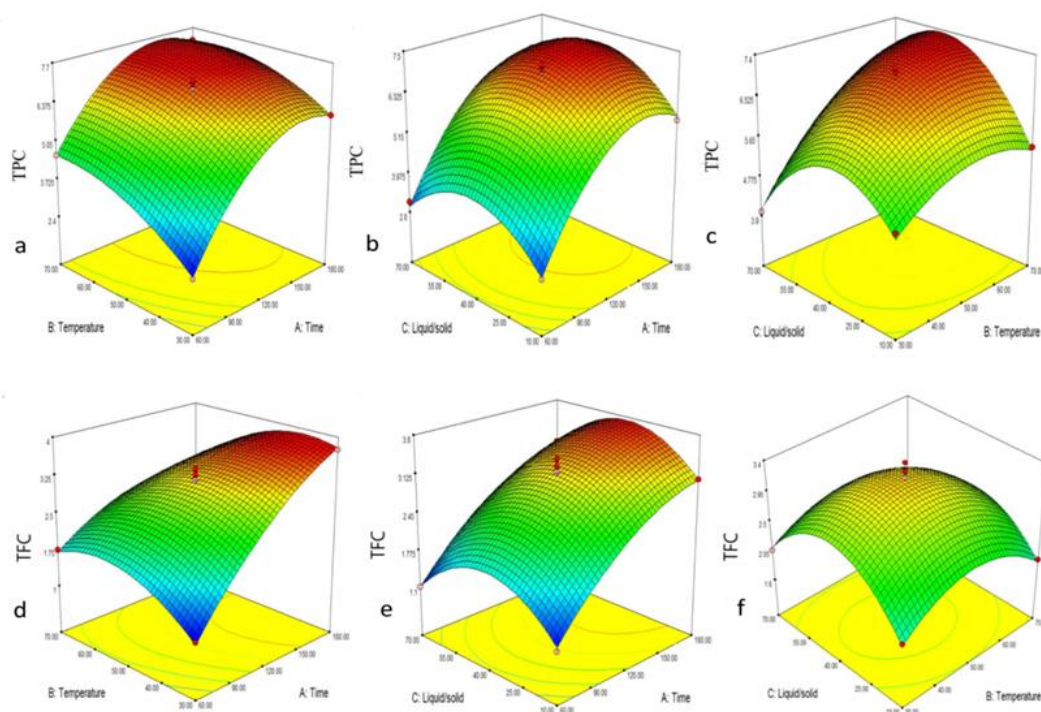


Figure 1. Response surface plots (3D) showing the interaction effect of variables on total phenolic content (a,b,c), and total flavonoid content (d,e,f).

The TPC results obtained under different conditions were in the range from 2.47 to 7.25 mg/g GAE (Table 2). The lowest TPC was obtained at 30 °C in 40:1 liquid/solid ratio for

60 min (Run 7), while the parameters for the highest TPC were 70 °C, 40:1 liquid/solid ratio and 180 min (Run 9). As seen in Figure 1a, the effect of extraction temperature is positive on

TPC. Considering the interactive effect of variables, the interaction between time and temperature (A*B) showed a remarkable effect on TPC ($P < 0.05$). The TPC significantly increased with increasing extraction temperature and time. As seen in Figure 1a, and c, TPC increased in the range of about 55 to 65 °C; however, the amount of TPC tended to remain constant after 65 °C. In line with our results, Shi et al. (2003) found extraction temperature of 65 °C to be the best for extracting phenolic compounds from grape seeds. The increase in the amount of TPC in parallel with the temperature is corresponded with literature (Silva et al., 2007; Belwal et al. 2016). According to Figure 1a, TPC increased until 150 min. After this duration, the level of the phenolic content began to decline. The results show that extending the time of extraction might lead to a decline in TPC due to the applied extraction temperature, which may degrade the phenolic with the extended extraction time (Ahmadian-Kouchaksaraie et al., 2016).

In the study, the TPC increases significantly increasing until 40:1 liquid/solid ratio ($P < 0.05$) (Figure 1c). The liquid/solid ratio which gave the highest TPC was 40:1 mL/g. In addition, the interaction between extraction temperature and liquid/solid ratio (B*C) showed a remarkably positive effect on TPC ($P < 0.05$), but there was no significant interaction between liquid/solid ratio and extraction time (A*C) ($P > 0.05$) (Table 4).

Similarly, extraction time (A), and extraction temperature (B) profoundly influenced TFC ($P < 0.05$), but the liquid/solid ratio had no significant effect on TFC ($P > 0.05$) (Table 4). Figure 1d shows that the TFC increased in parallel to the extraction time. The maximum TFC was observed at about 45 °C. An increase in the yield of flavonoid was achieved with the increase of extraction time at lower temperatures. The prolonged extraction time increases the chances of decomposition of phenolics (Belwal et al. 2016). The highest TFC (3.76 mgQE/gdw) was obtained at 30°C for 180 min (Run 13, Table 2). The increase in extraction temperature might be increased mass transfer improved with

penetration of solvent into the plant matrix (Belwal et al. 2016). Interestingly, a negative interaction between extraction time and temperature (A*B) was obtained for the TFC. It may be attributed that the long extraction time, and sustained exposure to the high temperature increase the loss of phenolic compounds by oxidation (Al-Farsi and Lee, 2008).

After optimization, an improvement in antioxidant capacities was expected. The DPPH scavenging activity and ferric reducing power capacity were found as 0.073 mg (dw)/mL and 1.09 mg (dw)/mL, respectively. The finding implies that optimization of extraction conditions increases phenolic compounds, which have high antioxidant capacity.

Validation and Determination of Optimal Conditions for Extraction of Phenolic Compounds

The optimal conditions were determined by maximizing the desirability of the responses (TPC and TFC yields) using Design Expert software, and the validity of models was evaluated. These optimal conditions were used for the extraction process. The optimum conditions for TPC and TFC in a single experiment were extraction time (168 min), extraction temperature (48.5 °C), and liquid/solid ratio (41:1). The predicted TPC and TFC values under optimal conditions were 7.25 mg GAE/gdw and 3.72 mg QE/gdw, respectively. These predictions were validated by experiments in which 7.17 mg GAE/gdw of TPC and 3.63 mg QE/gdw of TFC were obtained. Experimental results for TPC and TFC values are in agreement with the predicted values.

HPLC Analyses of Phenolic Compounds

A. vulgaris mostly comprise phenolic acids (ellagic acid, gallic and chlorogenic acid, *p*-Hydroxybenzoic acid), flavonoids (catechin, quercetin) and flavonoid glycosides (rutin, avicularin, and tiliroside), as reported in the previous studies (Duckstein et al., 2012; Boroja et al, 2018; Vlaisavljević et al., 2019). In this study, five phenolic compounds in the extracts obtained before and after optimization were analyzed using HPLC. The concentration of all phenolic

compounds evaluated in this study increased significantly after optimizing the extraction conditions (Table 5). Especially ellagic acid increased from 171.92 to 3724.65 µg/g dw. Zhang et al., (2010) found that the extraction conditions have a significant effect on the extraction yield of ellagic acid from *Platycarya strobilacea*. They found that the ellagic acid yield increased in parallel to extraction time, liquid/solid ratio and extraction temperature. Similarly, the present study showed that extraction time, temperature and liquid/solid ratio positively influenced TPC.

The order of phenolic compounds were; ellagic acid > catechin > chlorogenic acid > gallic acid > p-hydroxybenzoic acid (Table 5). Our finding is in line with the previous studies showing that ellagic acid is the main phenolic component in leaves of *A. vulgaris* (Møller et al., 2009; Neagu et al., 2015; Ilić-Stojanović et al., 2017; Boroja et al, 2018). On the contrary, the 80% acetone extract from aerial parts of *A. glabra* was found to contain gallic acid (63mg/100g), 3,4-hydroxybenzoic acid (135mg/100g), chlorogenic acid (80mg/100g), catechin (250 mg/100 g), epicatechin (524 mg/100 g) and rutin (1057 mg/100 g) but not ellagic acid (Denev et al.2014).

Table 5. The concentrations of selected phenolic compounds in *A. vulgaris* extracts obtained after and before optimization of extraction conditions

Compound	Retention time (min)	UV band (nm)	Concentration* (µg/g dw)	Concentration ** (µg/g dw)
Gallic acid	6,8	280	0.65	11.89
Chlorogenic acid	15,7	280	78.65	109.6
p-hydroxybenzoic acid	18,2	320	2.98	8.41
Ellagic acid	47,7	240	171.92	3724.65
Catechin	15	280	88.77	137.64

*Concentrations of phenolic compounds in extract obtained before optimization

** Concentrations of phenolic compounds in extract obtained after optimization

As a result, the study shows that different extraction conditions affect the concentrations of phenolic compounds. In addition, *A. vulgaris* extracts seem to have high and rich phenolic content. The biological activity of *A. vulgaris* extracts may be attributed to their phenolic profile.

Conclusion

The results of the study indicate that solvents play an important role in the extraction, and acetone-water (50%) was the most efficient solvent for phenolic extraction from *A. vulgaris* leaves. The response surface methodology was successfully employed to optimize the extraction conditions (extraction temperature, time, and liquid/solid-ratio). It was observed that TPC yields significantly affected by liquid/solid ratio, extraction time, and temperature, while the most important factors affecting TFC yield were extraction time and temperature. The optimal extraction conditions were found to be extraction

temperature of 48.5 °C, time of 168 min, and liquid/solid ratio of 41:1. The TPC and TFC values under optimal conditions were 7.17 mg GAE/gdw and 3.63 mg QE/gdw, respectively. In addition, five phenolic compounds were quantified in extracts by HPLC. Concentrations of all phenolic compounds evaluated in this study are found to increase after optimization of extraction conditions. The study confirmed the high phenolic content of extracts from *A. vulgaris* parallel with high antioxidant activity.

The results suggest that optimizing the extraction conditions is critical for accurate quantification of phenolic compounds in *A. vulgaris*. This study can be useful to the development of industrial extraction processes to enhance the efficacy of a large-scale extraction system.

CONFLICT OF INTEREST: The author expresses no conflict of interest associated with this work.

REFERENCES

- Acet, T., Özcan, K. (2018). Aslanpençesi (*Alchemilla ellenbergiana*) Ekstrelerinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi. *GUFBED*, 8(1): 113-121.
- Ahmadian-Kouchaksaraie, Z., Niazmand, R., Najafi, M.N. (2016). Optimization of the subcritical water extraction of phenolic antioxidants from *Crocus sativus* petals of saffron industry residues: Box-Behnken design and principal component analysis. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 36: 234-244, doi: 10.1016/j.ifset.2016.07.005.
- Ahmed, M.I., Xu, X., Sulieman, A.A., Mahdi, A.A., Na, Y. (2019). Effect of extraction conditions on phenolic compounds and antioxidant properties of koreeb (*Dactyloctenium aegyptium*) seeds flour. *J Food Meas Charact*, 1-10, doi.org/10.1007/s11694-019-00328-9.
- Al-Farsi, M.A., Lee, C.Y. (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chem*, 108 (3): 977-985, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.009.
- Al Jitan, S., Alkhoori, S.A., Yousef, L.F. (2018). Phenolic acids from plants: extraction and application to human health. *Stud. Nat Pro Chem*, 58, 389-417.
- Belwal, T., Dhyani, P., Bhatt, I.D., Rawal, R.S., Pande, V. (2016). Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Berberis asiatica* fruits using response surface methodology (RSM). *Food Chem*, 207:115-124, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.03.081.
- Boroja, T., Mihailović, V., Katanić, J., Pan, S.P., Nikles, S., Imbimbo, P., Bauer, R. (2018). The biological activities of roots and aerial parts of *Alchemilla vulgaris* L. *S Afr J Bot*, 116: 175-184, doi: 10.1016/j.sajb.2018.03.007.
- Borra, S.K., Gurumurthy, P., Mahendra, J. (2013). Antioxidant and free radical scavenging activity of curcumin determined by using different in vitro and ex vivo models. *J Med Plant Res*, 7(36): 2680-2690, doi: 10.5897/JMPR2013.5094.
- Cacique, A. P., Barbosa, É. S., Pinho, G. P. D., Silvério, F. O. (2020). Maceration extraction conditions for determining the phenolic compounds and the antioxidant activity of *Catbaranthus roseus* (L.) G. Don. *Ciência e Agrotecnologia*, 44: e017420, doi.org/10.1590/1413-7054202044017420.
- Coklar, H., Akbulut, M. (2017). Anthocyanins and phenolic compounds of *Mabonia aquifolium* berries and their contributions to antioxidant activity. *J Funct Foods*, 35: 166-174.
- Denev, P., Kratchanova, M., Ciz, M., Lojek, A., Vasicek, O., Blazheva, D., Nedelcheva, P., Vojtek, L., Hyrs, P. (2014). Antioxidant, antimicrobial and neutrophil-modulating activities of herb extracts. *Acta Biochimica Plonica*, 61: 359-367.
- Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S., Ju, Y.H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limonophila aromatica*. *J Food Drug Anal*, 22(3): 296-302.
- Duckstein, S.M., Lotter, E.M., Meyer, U., Lindequist, U. (2012). Phenolic Constituents from *Alchemilla vulgaris* L. and *Alchemilla mollis* (Buser) Rothm. at Different Dates of Harvest. *Z. Naturforsch., C. J. Biosci*, 67(11-12): 529-540, doi: 10.1515/znc-2012-11-1201.
- Eruygur, N., Dincel, N. G. K., Kutuk, N. (2018). Modeling of Total Phenolic contents in Various Tea samples by Experimental Design Methods. *Open Chem J*, 16(1), 738-744, doi.org/10.1515/chem-2018-0082, doi.org/10.1515/chem-2018-0082.
- Haminiuk, C.W.I., Plata-Oviedo, M.S.V., de Mattos, G., Carpes, S.T., Branco, I.G. (2014). Extraction and quantification of phenolic acids and flavonols from *Eugenia pyriformis* using different solvents. *J Food Sci Technol*, 51(10): 2862-2866, doi: 10.1007/s13197-012-0759-z.
- Hwang, E., Ngo, H.T., Seo, S.A., Park, B., Zhang, M., Yi, T.H. (2018). Protective effect of dietary *Alchemilla mollis* on UVB-irradiated premature skin aging through regulation of transcription factor NFATc1 and Nrf2/ARE pathways. *Phytomedicine*, 39: 125-136.

- Ilić-Stojanović, S., Nikolić, V., Kundaković, T., Savić, I., Savić-Gajić, I., Jocić, E., Nikolić, L.J. (2017). Thermosensitive hydrogels for modified release of ellagic acid obtained from *Alchemilla vulgaris* L. extract. *Int J Poly Mater*, 67(9): 553-563, doi: 10.1080/00914037.2017.1354202.
- Møller, C., Hansen, S.H., Cornett, C. (2009). Characterisation of tannin-containing herbal drugs by HPLC. *Phytochem Anal*, 20: 231–239, doi: 10.1002/pca.1119.
- Mouratoglou, E., Malliou, V., Makris, D.P. (2016). Novel glycerol-based natural eutectic mixtures and their efficiency in the ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from agri-food waste biomass. *Waste Biomass Valorization*, 7(6): 1377-1387.
- Murathan, Z.T. (2018). Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi ekolojik koşullarında yetişen bazı tıbbi bitkilerin biyokimyasal içeriği ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. *Balıkesir Üniv Fen Bilim Enst Derg*, 20(2): 51-60.
- Nasr, A., Zhou, X., Liu, T., Yang, J., Zhu, G.P. (2019). Acetone-water mixture is a competent solvent to extract phenolics and antioxidants from four organs of *Eucalyptus camaldulensis*. *Turkish J Biochem*, 44(3): 231-239, doi: 10.1515/tjb-2018-0438.
- Neagu, E., Paun, G., Albu, C., Radu, G.L. (2015). Assessment of acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant activity of *Alchemilla vulgaris* and *Filipendula ulmaria* extracts. *J Taiwan Inst Chem Eng*, 52: 1–6, doi: 10.1016/j.jtice.2015.01.026.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on Product of Browning Reaction: Antioxidative Activities of Products of Browning Reaction Prepared from Glucoseamine. *Japanese J Nutr Diet*, 44(6): 307-315.
- Park, B. I., Kim, J., Lee, K., Lim, T., Hwang, K. T. (2019). Flavonoids in common and tartary buckwheat hull extracts and antioxidant activity of the extracts against lipids in mayonnaise. *J Food Sci Technol*, 56(5): 2712-2720.
- Pham, N.M.Q., Vuong, Q.V., Bowyer, M.C., Scarlett, C.J. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions for phenolic compounds and antioxidant capacity from Tuckeroo (*Cupaniopsis anacardioides*) fruit. *Sep Sci Tech*, 55(17): 3151-3160, doi: 10.1080/01496395.2019.1673413.
- Rebey, I.B., Bourgou, S., Debez, I.B.S., Karoui, I.J., Sellami, I.H., Msaada, K., Marzouk, B. (2012). Effects of extraction solvents and provenances on phenolic contents and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. *Food Bioprocess Tech*, 5(7): 2827-2836.
- Renda, G., Özel, A., Barut, B., Korkmaz, B., Şoral, M., Kandemir, Ü., Liptaj, T. (2017). Bioassay Guided Isolation of Active Compounds from *Alchemilla barbatiflora* Juz. *Rec Nat Prod*, 12: 1-7.
- Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., de Ancos, B., Cano, M.P. (2003). Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. *J Sci Food Agric*, 83: 430–439.
- Shrivastava, R., Cucuat, N., John, G. W. (2007). Effects of *Alchemilla vulgaris* and glycerine on epithelial and myofibroblast cell growth and cutaneous lesion healing in rats. *Phytother Res*, 21(4): 369-373.
- Sepahpour, S., Selamat, J., Abdul Manap, M.Y., Khatib, A., Abdull Razis, A.F. (2018). Comparative analysis of chemical composition, antioxidant activity and quantitative characterization of some phenolic compounds in selected herbs and spices in different solvent extraction systems. *Molecules*, 23(2): 402, doi: 10.3390/molecules23020402.
- Shelembe, J.S., Cromarty, D., Bester, M.J., Minnaar, A., Duodu, K.G. (2012). Characterisation of phenolic acids, flavonoids, proanthocyanidins and antioxidant activity of water extracts from seed coats of maramba bean [*Tylosema esculentum*]—an underutilised food legume. *Int J Food Sci Tech*, 47(3): 648-655.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J., Young, J.C., Bryan, M., Wu, Y. (2003). Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. *J Food Agric Environ*, 1(2): 42-7.

- Silva, E.M., Rogez, H., Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Sep Pur Tech*, 55(3): 381-387.
- Sousa, M.S.B., Júnior, J.M.L., de Souza Buarque, D. (2019). Optimization of the extraction of polyphenols and antioxidant capacity from *Byrsonima crassifolia* (L.) kunth fruit by response surface methodology. In Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds. *IntechOpen*, doi:10.5772/intechopen.83457.
- Tasić-Kostov, M., Arsić, I., Pavlović, D., Stojanović, S., Najman, S., Naumović, S., Tadić, V. (2019). Towards a modern approach to traditional use: in vitro and in vivo evaluation of *Alchemilla vulgaris* L. gel wound healing potential. *J Ethnopharmacol*, 238: 111789, doi: 10.1016/j.jep.2019.03.016.
- Tusevski, O., Kostovska, A., Iloska, A., Trajkovska, L., Simic, S.G. (2014). Phenolic production and antioxidant properties of some Macedonian medicinal plants. *Cent Eur J Biol*, 9(9): 888-900, doi: 10.2478/s11535-014-0322-1.
- Usta, C., Yildirim, A.B., Turker, A.U. (2014). Antibacterial and antitumour activities of some plants grown in Turkey. *Biotech & Biotech Equip*, 28(2): 306-315.
- Uysal, S., Cvetanović, A., Zengin, G., Zeković, Z., Mahomoodally, M.F., Bera, O. (2019). Optimization of maceration conditions for improving the extraction of phenolic compounds and antioxidant effects of *Momordica Charantia* L. leaves through response surface methodology (RSM) and artificial neural networks (ANNs). *Anal Lett*, 52(13): 2150-2163. doi:10.1080/00032719.2019.1599007.
- Vlaisavljević, S., Jelača, S., Zengin, G., Mimica-Dukić, N., Berežni, S., Miljić, M., Stevanović, Z.D. (2019). *Alchemilla vulgaris* agg.(Lady's mantle) from central Balkan: antioxidant, anticancer and enzyme inhibition properties. *RSC Advances*, 9(64): 37474-37483.
- Yazıcı Özbek, S., Ozmen, I., Yildirim, B., Genc, H., Ozeloglu, B., Gülsün, M., Ozcaka, S. (2020). Biochemical Composition of *Lathyrus* L. Seeds: Antioxidant Activities, Phenolic Profiles, β -ODAP and Protein Contents. *Legum Res*, 43: 723-727, doi: 10.18805/LR-516.
- Yılmaz, Y., Toledo, R.T. (2006). Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *J Food Comp Anal*, 19(1): 41-48, doi: 10.1016/j.jfca.2004.10.009.
- Zhang, L.L., Xu, M., Wang, Y.M., Wu, D.M., Chen, J.H. (2010). Optimizing ultrasonic ellagic acid extraction conditions from infructescence of *Platycarya strobilacea* using response surface methodology. *Molecules*, 15(11):7923-7932, doi: 10.3390/molecules15117923.
- Zhao, H.X., Zhang, H.S., Yang, S.F. (2014). Phenolic compounds and its antioxidant activities in ethanolic extracts from seven cultivars of Chinese jujube. *Food Sci Humm Well*, 3(3-4), 183-190.
- Zhu, D., Wang, C., Zhang, Y., Yang, Y., Shang, Y., Niu, X., Wei, Z. (2018). Insight into solvent effects on phenolic content and antioxidant activity of bamboo leaves extracts by HPLC analysis. *J. Food Meas Charact*, 12(3): 2240-2246, doi: 10.1007/s11694-018-9840-2



ETTE TAZELİĞİN BELİRLENMESİ: YENİ YAKLAŞIMLAR

Pelin Talu Özkaya*, **Seval Dağbağlı**, **Semra Kayaardı**

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

Geliş / Received: 22.04.2021; Kabul / Accepted: 21.06.2021; Online baskı / Published online: 17.07.2021

Talu Özkaya, P., Dağbağlı, S., Kayaardı, S. (2021). Ette tazeliğin belirlenmesi: Yeni yaklaşımlar. *GIDA* (2021) 46 (4) 1053-1067 doi: 10.15237/gida.GD21078.

Talu Özkaya, P., Dağbağlı, S., Kayaardı, S. (2021). Detection of meat freshness: New approaches. *GIDA* (2021) 46 (4) 1053-1067 doi: 10.15237/gida.GD21078.

ÖZ

Sağlıklı beslenme anlayışı ile taze ve kaliteli gıdaya ulaşma talebi son zamanlarda giderek artmaktadır. Gıdaların tazeliğini ve kalitesini yitirmeye başlamış olması, tüketici güvenini ve memnuniyetini sarsmakla kalmamakta, ürünün risk durumuna göre tüketicinin sağlığını da tehlikeye atmaktadır. Beslenmede akla ilk gelen temel gıda maddelerinden olan et gibi besleyici ve ekonomik değeri yüksek bir gıdanın tazeliğinin belirlenmesinde zamanla yarış söz konusudur. Ne var ki, bu amaca yönelik klasik yöntemler fazla malzeme, işgücü ve zaman harcanan zorlu bir analiz sürecini beraberinde getirmekte, bu nedenle sözü geçen dezavantajların giderildiği alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Hatta tazelikteki değişimin izlenmesinde tüketicinin de dahil edildiği gerçek zamanlı tespitler mümkün hale getirilmeye çalışılmaktadır. Bu derlemede, çeşitli et ve et ürünlerinin tazeliğini belirlemeye yönelik özellikle renk indikatörleri, sensörler ve biyosensörler gibi yeni yaklaşımlar ele alınmıştır.

Anahtar kelimeler: Et, tazelik, renk indikatörleri, sensör, biyosensör

DETECTION OF MEAT FRESHNESS: NEW APPROACHES

ABSTRACT

Recently, there has been an increasing demand for fresh and high quality food as a result of healthy eating awareness. Depending on the risk status of the product, consumer health and safety get into danger as well as breaking consumer reliance and satisfaction due to the foods which have started to become unfresh and lose quality at the time of purchasing. Nutritious and economically valuable foods such as meat has been one of the major product groups which is needed to be checked for its freshness against time. However, classical methods require much labor and chemical usage as well as being time consuming. Therefore, there has been a need for alternative methods which can eliminate present disadvantages. Moreover, it is aimed to make possible real time detection of meat freshness including consumer based controls. This review evaluates new detection methods such as color indicators, sensors and biosensors to determine freshness of several kinds of meat.

Keywords: Meat, freshness, color indicators, sensor, biosensor.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: pelin.ozkaya@cbu.edu.tr

☎: (+90) 236 201 2013

☎: (+90) 236 201 2020

Pelin Talu Özkaya; ORCID no: 0000-0001-6198-8313

Seval Dağbağlı; ORCID no: 0000-0001-9465-0116

Semra Kayaardı; ORCID no: 0000-0003-1747-0976

GİRİŞ

Gıdalarda tazelik, ürün bünyesindeki mikrobiyal gelişim, açığa çıkan metabolitler ve kimyasal değişimler doğrultusunda şekillenmekte olup bu kapsamda gıdalardaki genel tazelik indikatörleri glukoz, organik asitler, etanol, uçucu azotlu bileşikler, ATP yıkılma ürünleri, karbondioksit, sülfürlü bileşikler, diasetil, amonyak, biyojen aminler, toksinler, enzimler gibi maddelerdir (Öksüztepe ve Beyazgül, 2015; Kocaman ve Sarımehtemtoğlu, 2010; Purma ve Serdaroğlu, 2006). Tazelikte meydana gelen değişimlerin duyu organlarımız ile algılanacak hale gelmeden saptanması ise hem gıda güvenirliliği ve tüketicinin korunması hem de olası ekonomik kayıpların öngörülmesi/önlenmesi bakımından büyük önem taşımaktadır (Fu vd., 2019).

Et ve et ürünleri, temel besin unsurları ve nem miktarı yüksek gıdalar olarak bozulmaya son derece yatkın gıdalar arasındadır. Bu gıdaların depolanma süresince enzimatik ve/veya mikrobiyal kaynaklı oksidatif dönüşümler sonrasında protein, yağ ve karbonhidratlarının yıkılmasına bağlı olarak uçucu ve naoh kokuya neden olan maddeler açığa çıkmaktadır (Jia vd., 2019). Etin tazeliği toplam uçucu bazik azot (Total Volatile Basic Nitrogen; TVB-N), hipoksantin/ksantin, biyojen aminler, hidrojen sülfür (H₂S), pH, mikrobiyolojik parametreler (toplam mezofilik aerobik canlı sayısı) ile belirlenmektedir. Bu parametreler/maddeler, indikatör özellik gösteren unsurların başlıcaları olmakla beraber birbirleriyle de ilişkilidir (Fu vd., 2019). Örneğin, etin tazeliğini yitirmesi sürecinde meydana gelen kimyasal değişimlerin önemli bir bölümü mikrobiyolojik temellidir. Mikroorganizmaların proteolitik aktiviteleri sonucu serbest aminoasit zincirleri oluşmakta, bunlar da kolaylıkla oksidatif deaminasyon, dekarboksilasyon ve desülfürizasyona uğrayarak NH₃, CO₂ ve H₂S oluşturmaktadır. Bunlardan, azotlu bileşiklerin yaygın formları arasında NH₃, di- ve tri-metil amin bulunmakta olup bu gazların tamamı toplam uçucu bazik azot (TVB-N) olarak tanımlanmakta (Kuswandi ve Nurfawaidi, 2017) ve bu maddelerin konsantrasyonu arttıkça kademeli bir pH yükselmesi de söz konusu olmaktadır (Pacquit vd., 2006).

Diğer tazelik kriterlerinden biyojen aminler, gıdanın bünyesindeki spesifik aminoasitlerin, mikrobiyal yol ile dekarboksilasyonundan açığa çıkan düşük molekül ağırlıklı bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle gıdanın niteliği ve taşıdığı mikrobiyal yük, biyojen amin oluşumunda belirleyici sayılmaktadır (Lazaro vd., 2015). Biyojen aminler, bozulmanın ilerleyen safhalarında yüksek konsantrasyonlarda oluşmakta iken ette diğer tazelik indikatörleri olan hipoksantin veya ksantin ise hayvanın kesimini müteakip kaslarda birikmeye başlamaktadır (Albeda vd., 2017). Hipoksantin/ksantin ise, ATP yıkılma ürünlerindedir. ATP, önce inosin monofosfata (IMP) parçalanmakta, sonra da inosin ve hipoksantine yıkılmakta, oksidasyonun ilerlemesiyle ksantin ve son ürün olarak ürik asit oluşmaktadır (Karim vd., 2019). Ksantin/hipoksantin tayinine yönelik çalışmalarla ilgili olarak literatüre bakıldığında Devi vd. (2013)'nin balık, tavuk, domuz ve sığır etinde ksantin tespiti için Au (altın) elektrodun Ag (gümüş) nanopartiküller/sistein ile modifikasyonundan elde ettiği amperometrik biyosensörü veya Albelda vd. (2017)'nin domuz eti için ksantin oksidaz ile grafen-TiO₂ bazlı elektrokimyasal hipoksantin biyosensörü gibi çeşitli et ve et ürünleri için geliştirilen ve yeni yaklaşımlara örnek teşkil eden araştırmalar görülmekteyse de hipoksantin/ksantin tayinine yönelik olarak kırmızı ve beyaz etle yapılan araştırmaların, balık ve deniz ürünleri için yapılan çalışmalardan daha az olduğu dikkati çekmektedir. Balık ve deniz ürünlerinde tazeliğin saptanmasında uçucu azotlu bileşiklerin, genellikle bozulma sürecinin orta veya geç evresi için belirleyici olduğu ifade edilirken, ATP yıkım ürünlerinin balık ölür ölmez oluşan ilk biyokimyasal ürünler olması nedeniyle bunların oluşum düzeyinin, bozulmanın erken aşamaları için daha aydınlatıcı olduğuna işaret edilmektedir (Saraç, 2011). Nitekim Metin vd. (2002) de alabalık burgerlerini 28 gün soğukta depolamışlar ve depolama boyunca ürünlerdeki değişimleri incelemişlerdir. Araştırmada duyu değerlendirmelere ve hipoksantin düzeyine göre 21. gün itibarıyla bozulma gerçekleştiği halde TVB-N değerlerinin düşük kaldığı, pH değerlerinin de depolama süresince düşüş

gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmada olduğu gibi etin tazeliğini belirlemede uygun indikatörü bilmenin yanı sıra söz konusu indikatör maddenin tayin yöntemi de önemlidir. Çünkü tayin yöntemleri seçilirken bu yöntemlerin tespit limitleri, basit/kompleks olması gibi faktörler dikkate alınmaktadır. Literatürde, tazelik indikatörlerinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarla pek çok teknik geliştirilmiştir. Bu derlemede, etin tazeliğinin belirlenmesinde kullanılan başlıca tayin yöntemlerinin yanı sıra özellikle bu konudaki yeni yaklaşımlar hakkında bilgiler verilmiştir.

ETİN TAZELİĞİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN BAşLILCA TAYİN YÖNTEMLERİ

Etin tazelik kriterlerinden herhangi birinin belirlenmesinde kromatografik, spektrofotometrik, titrimetrik yöntemlerin yanı sıra pH ölçümleri ve mikrobiyolojik analiz yöntemleri temel oluşturmaktadır. Titrimetrik yöntemde, iyi bir örnek homojenizasyonu, aranan maddenin ekstraksiyonu ve ekstraktın uygun kimyasallarla titrasyonundan elde edilen sarfiyatın kullanıldığı hesaplama ile sonuca ulaşılmaktadır. Nitekim Qiao vd., (2017), tavuk etinde TVB-N tespitini bu yöntemle yapmışlarsa da analiz süreci kapsamlı bir hazırlık gereksinimini beraberinde getirmektedir (Wojnowski vd., 2017). Öte yandan spektrofotometrik yöntem ile hipoksantin belirlenebilmekte (Albeda vd., 2017), pH ölçümü de etin kalitesini belirlemede yararlanılan kimyasal yöntemler arasında gösterilmekte (Kuswandi ve Nurfawaidi, 2017), fakat pH ölçümü her zaman doğru yönlendirmemekte veya tek başına yeterli olmamaktadır (Metin vd., 2002). Mikrobiyolojik yöntemler de ilgili standartlarda belirlenen şekilde uygulanarak (TS 6582-2 EN ISO 6888-2, TS 2664 gibi) tazeliğin seyri hakkında fikir vermekle beraber yine emek ve zaman kaybının söz konusu olduğu ifade edilmektedir (Wojnowski vd., 2017). Kromatografi, tazelik kriteri tespitinde kullanılan yöntemlerden bir diğeridir. Yüksek basınç sıvı kromatografisi ile şenman (2007), gökkuşağı alabalığında biyojen aminlerin, Saraç (2011) ise Atatürk Baraj Gölü'nden avlanan pullu sazan (*Carasobarbus luteus*) ve karaca (*Capoeta trutta*) balıklarında hipoksantin miktarını

belirlemişlerdir. Son yıllarda ise var olan kromatografik yöntemler geliştirilerek türevlendirme işlemini hızlandıran ve örneklerden biyojen aminlerin ekstraksiyon verimini yükselten dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi ile kanatlı etleri, domuz eti ve biftek gibi çeşitli et örneklerinde GC-MS ile biyojen amin tespiti gerçekleştirilmiştir (Wojnowski vd., 2019).

Sonuç olarak, klasik yöntemler doğruluk ve geçerlilik bakımından yaygın olarak kullanılmakta ise de (Wu vd., 2019), özellikle kromatografik yöntemler için belirtilen maliyetli olma, nitelikli iç gücü gereksinimi ve fazla zaman alması gibi dezavantajların yanı sıra (Yazdanparast vd., 2019) titrimetrik yöntemlerde olduğu gibi kapsamlı bir örnek hazırlama (Wojnowski vd., 2017) ve analiz sürecinin (öğütme, filtrasyon, gerekli kimyasalların temini, titrasyon çözeltilerinin hazırlanması, titrasyon; Fishler, 1995) söz konusu olması, yeni yaklaşımlar arayışında temel oluşturmaktadır.

ETİN TAZELİĞİNİ BELİRLEMEDE YENİ YAKLAşIMLAR

Etin tazeliğinin belirlenmesinde kullanılan başlıca tayin yöntemlerinin işgücü, zaman ve kimyasal sarfiyatı gibi gereksinimleri azaltarak bu sürecin hızlandırılması hedeflenmektedir. Buna ek olarak, tüketici bazında da tazeliğin belirlenmesini mümkün kılacak daha ekonomik, pratik ve aynı zamanda hassas yeni yaklaşımlara yönelim dikkati çekmektedir (Wu vd., 2019). Bu yeni yaklaşımlar arasında sensörler (biyosensörler, yenilebilir sensörler; Zhai vd., 2020a) ve renk indikatörleri (Ezati vd., 2020) başta olmak üzere elektronik burun (Rajamaki vd., 2004), torimetre (Sujiwo vd., 2018), NIR-MIR (near- middle infrared teknolojisi; Sinelli vd., 2010) gibi alternatif ölçüm cihazları ve teknikler yer almaktadır.

Renk indikatörleri ve sensörler

Akıllı ambalajlama teknolojisinin dayandığı temeller arasında sensörler ve indikatörlerin olduğu ifade edilmekte (Zhai vd., 2019), bunlardan yararlanarak tazelik tespitinin tüketici bazında dahi yapılabilirliği mümkün görülmektedir. Tazeliğin yitirilmesine paralel olarak kolaylıkla fark edilecek bir görsel değişimin ortaya çıkması ile gerçek zamanlı bir izleme

sağlanmakta, bu da sensör veya indikatörlerin ambalaj materyaline entegrasyonu ile gerçekleştirilmektedir. Sensörler ve renk indikatörleri, küçük farklar ile birbirinden ayrılmaktadır. Renk indikatörleri, ürünün durumuna göre çıplak gözle görülebilen renk değişimleri üzerinden kalitatif ve yarı-kantitatif tespit araçları (Zhai vd., 2019) olarak tanımlanmakta ve pH gibi değişimlere duyarlılık göstermekte iken, sensörler spesifik bir hedef maddeyi algılayıp kaydeden analitik cihazlar olarak (Deligöz vd., 2017) tanımlanmaktadır. Her ikisi de akıllı ambalajlama teknolojisinin ortak çatısı altında pek çok çalışmanın çıkış noktası olmuştur.

İndikatörler, bir gıdadaki kimyasal değişimi ve bu değişimin boyutunu, sahip olduğu spesifik özellikler doğrultusunda renk değiştirerek ortaya koyan maddelerdir. Bunlar, sentetik kimyasal indikatörler ve doğal kolorimetrik indikatörler olmak üzere temelde iki gruptur. Ayrıca, indikatör üretiminde yararlanılan tekniklere ve yeniliklere paralel olarak hassasiyeti arttırılan gelişmiş renk indikatörleri de bulunmaktadır (Wu vd., 2020). Ne var ki metil kırmızısı, kresol kırmızısı, bromkresol yeşili, bromkresol moru, klorofenol, bromtimol mavisi ve ksilenol gibi sentetik boya türlerinin toksik ve hatta bazılarının karsinogenik olması, sağlığı ve çevreyi tehdit etme potansiyeli nedeniyle araştırmacıları doğal kaynakların kullanımına yönlendirmektedir (Roy ve Rhim, 2020). Bu nedenle bitkiler ve köklü sebzeler başta olmak üzere çeşitli kaynaklardan elde edilen kurkumin, betanin, antosiyanin ve klorofil gibi doğal renk maddeleri, tazelığın belirlenmesine yönelik çalışmalarda, özellikle pH değişimlerine hassasiyetleri nedeniyle kullanılan maddelerdir.

Günümüzde doğal kaynaklardan elde edilen indikatörlere olan yönelim, pek çok akıllı ambalaj çalışmasının çıkış noktasını oluşturmaktadır. Doğal renk maddeleri içerisinde antosiyaninlerin tazelığı belirlemeye yönelik çalışmalarda kullanılan başlıca madde grubu olması, bozulmaya paralel olarak açığa çıkan maddelere hassasiyetinin fazla olmasına dayandırılmaktadır. Yapılan kolorimetrik bir sensör çalışmasında kırmızı turp (*Raphanus sativus* L.) ve siyah pirinç (*Oryza sativa* L. *indica*) ekstraktlarından antosiyanin, ıspanak

(*Spinacia oleracea*) ve kış yasemeni (*Jasminum nudiflorum*) ekstraktlarından ise klorofil ve karoten doğal pigmentleri elde edilmiştir. Bu pigmentler domuz etinde biyojen amin varlığını belirleme amacıyla kullanılmış ve domuz etinde mikrobiyal faaliyete bağlı oluşan biyojen amin varlığına en duyarlı pigmentin siyah pirinç ekstraktındaki antosiyaninler olduğu belirlenmiş olup bu performansın, analitler ile antosiyanin molekülünün hidroksil ve karbonil grupları arasındaki etkileşimden ileri geldiği öne sürülmüştür (Huang vd., 2014). Siyah pirinç kepeği antosiyaninleri yakın zamanda balık etinin tazelığını belirleme amacıyla yapılan jelatin/okside kitin nanokristalleri içerikli akıllı ambalaj çalışmasında da başarılı sonuç vermiştir (Ge vd., 2020). Çeşitli et ürünlerinin tazelığını belirlemeye yönelik olarak yapılan başka çalışmalarda da, mor patates (Wei vd., 2017; Jiang vd., 2020; Chen vd., 2020a), mor domates (Li vd., 2021), dut (Zeng vd., 2019), *Echium amoenum* (Mohammadinejad vd., 2020), kırmızı kabak (Vo vd., 2019; Liu vd., 2021; Chen vd., 2021), siyah havuç (Moradi vd., 2019), yabanmersini ve kırmızı üzüm kabuğu posası (Kürek vd., 2019), gül (Kang vd., 2019), bamya çiçeği (Zhai vd., 2017; Zhang vd., 2021) gibi çeşitli kaynaklardan elde edilen ve kolorimetrik özelliğinden başarılı biçimde yararlanılabilen antosiyaninler kullanılmıştır.

Antosiyaninler ve diğer renk pigmentleri, ambalaj materyallerine entegre edilerek kullanılmaktadır. Yapısal ve kimyasal özellikleri dikkate alınarak amaca uygun seçilen doğal veya sentetik boya temelli bir indikatörün film haline getirilmesi bir dizi işlemlerle gerçekleştirilmektedir. Akıllı ambalajlamada kullanılan indikatör film üretimine ait çeşitli teknikler mevcuttur. Bir polimer/biopolimer içerisine renk indikatörü ilave edilip dökme yöntemi (Roy ve Rhim, 2020) veya laminasyon tekniği ile film oluşturulduğu (Lee vd., 2020) çalışmaları, bu tekniklere örnek teşkil etmektedir. Bir başka çalışmada ise kurkuminin LDPE (düşük yoğunluklu polietilen) ile ekstrüde edilmesiyle kolorimetrik film elde edilirken (Zhai vd., 2020b), mısır gluteni bazlı (zein) alizarin pigment çözeltisinden elektroöğirme tekniği ile nanosensör bazlı, pH

indikatörü özelliğine sahip bir akıllı ambalaj üretilmiştir (Aghaei vd., 2020).

Balık eti için yapılan bir çalışmada, karboksi metil selüloz/nişasta kompozitine tatlı mor patateslerden elde edilen antosiyaninler entegre edilmiş ve özellikle amonyağın açığa çıkmasına bağlı olarak gerçekleşen pH değişimi rengin kırmızıdan mavi-yeşile dönmesiyle izlenmiştir (Jiang vd., 2020). Jelatin/polivinil alkol matrikse entegre edilmiş karadut ekstraktı antosiyaninleri ile de benzer bir çalışma yapılmış, uçucu azotlu bileşiklerin varlığında elde edilen indikatör film renginin parlak kırmızıdan koyu yeşile döndüğü belirlenmiştir (Zeng vd., 2019). Antosiyaninlerin temini daha önce de bahsedildiği gibi farklı kaynaklardan yapılabilmekte olup karideslerle yapılan bir çalışmada *Echium amoenum* antosiyaninleri, bakteriyel selüloz içerisinde immobilize edilerek pH değişimine duyarlı bir indikatör olarak kullanılmıştır (Mohammadinejad vd., 2020). Dilimlenmiş domuz etlerinin ambalajlanmasında kırmızı kabak antosiyaninleri, kitosan/polivinil alkol matriks içerisinde (Vo vd., 2019), yaban mersini ve kırmızı üzüm kabuğu posası ekstraktından elde edilen antosiyaninler ise kitosan ve karboksi metil selüloz matriks içerisinde (Kürek vd., 2019) kullanılmış ve tavuk etinin tazeliğinin belirlenmesinde başarılı olunmuştur. Antosiyaninler ile akıllı indikatör film yapımında kitosanın yanı sıra nişasta, j-karragenan, pullulan, agar, jelatin, vb. polisakkaritler ve çeşitli biyopolimer matriksler kullanılabilir (Roy ve Rhim, 2020).

Kurkumin zerdeçaldan elde edilen, baharat ya da renk maddesi olarak kullanılan doğal bir renk indikatörü olup son zamanlarda antosiyaninlerin yanı sıra oldukça ilgi çekmekte ve eskiye göre daha fazla araştırmaya konu olmaktadır (Chen vd., 2020b). Balık ve deniz ürünlerinin tazeliğini belirlemeye yönelik olarak yapılan bir kolorimetrik film çalışmasında, kitosan/okside kitin nanokristallerinden oluşan matrikse entegre edilen kurkuminden yararlanılmıştır (Wu vd., 2019). Aynı ürün grubu için uçucu aminlerin varlığına duyarlı olan kurkumin, polivinil prolidon (PVP) ve etil selüloz/polietilen oksit (PEO) polimer çözeltisine ilave edilmiş ve bu polimer ile

elektroeğirme tekniği kullanılarak üretilen nanofilmlerden farklı bir kolorimetrik indikatör elde edilmiş olup (Luo vd., 2020), kurkumin ve sülfür nanopartiküllerinin kullanıldığı pektin bazlı bir indikatör film çalışmasında, üretilen filmin karides ambalajlanmasında kullanımının uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Ezati ve Rhim, 2020). Zhai vd. (2020b) ise ekstrüde LDPE-kurkuminden kolorimetrik film üreterek, sığır ve balık eti üzerinde TVB-N'e duyarlı bir akıllı ambalaj çalışması yapmışlar; özellikle de filmin bozulmaya paralel olarak açık sarıdan açık kahverengiye dönen amonyak sensörü olarak işlev gösterdiğini belirtmişlerdir. Zhang vd. (2021), tatlı su karidesleri (*Macrobrachium rosenbergii*) ile yaptığı bir çalışmada agar ve polivinil alkol bazlı yapıya kurkumin ilavesiyle stabilitesi yüksek bir ambalaj elde etmişler ve ambalaj renginin, amonyak varlığında sarıdan kırmızıya döndüğünü bildirmişlerdir.

Alizarin, Türk kırmızısı olarak da anılmakta ve kökboyası bitkisinden elde edilen, alkolde çözünebilen bir renk maddesi olarak tanımlanmaktadır (Ezati vd., 2020). Yapılan bir çalışmada, selüloz/kitosan bazlı filmde kolorimetrik indikatör olarak alizarin kullanılmış ve bu filmin sığır eti kıymasındaki pH değişimini hassas biçimde belirleyebildiği görülmüştür (Ezati vd., 2019). Alizarin ve farklı selüloz çeşitleri ile kompozit yapı oluşturulduğu bir başka çalışmada da; bu kompozit yapının UV-görünür bölge özelliklerinin, radikalleri yakalama aktivitesinin ve ısı stabilitesinin geliştii belirlenmiştir. Bu formdaki indikatör filmin, paketli et ürünlerinin ambalaj ortamındaki asidik veya bazik gaz oluşumuna bağlı pH değişimlerine oldukça duyarlı ve geri dönüşümlü renk geçişlerini mümkün kılan (pH 2-12 arası sarıdan mora renk dönüşümü) iyi bir alternatif olduğu sonucuna varılmıştır (Ezati vd., 2020).

pH değişimlerine duyarlılığı olan maddelerin kullanıldığı indikatör çalışmalarından biri de şikoninle yapılan ve domuz eti ile balık etinin paketlenmesine yönelik gerçekleştirilen bir araştırmadır (Ezati vd., 2021). Şikonin, bitkisel kaynaklı (*Lithospermum erythrorhizon*) bir farmasötik olup yara, yanık vb. tedavisinde kullanılan anti inflamatuvar, antibakteriyel, anti tümör,

antioksidan vb. çeşitli fonksiyonlara sahip bir doğal naftokinon pigmentidir (Topçu ve Çölgeçen, 2015). Ezati vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada bu madde, selüloz tabaka üzerine adsorbe edilmek suretiyle indikatör film bünyesine alınarak akıllı ambalaj üretiminde kullanılmıştır. Çalışmada, şikoninin selüloza çapraz bağlanmış olduğu FTIR ile görüntülenmiş, kağıt materyale bu maddenin entegrasyonu ile antioksidan aktivitenin, ısıl stabilitenin ve suya dayanıklılığın arttığı görülmüştür. pH değişimine oldukça duyarlı ve stabil olduğu belirtilen filmin, ortam pH'sına bağlı olarak kırmızıdan maviye döndüğü ve bu sonuçlar nedeni ile akıllı ambalaj bünyesinde kullanılabilir olduğu bildirilmiştir.

Doğal pigmentlerin kaynak ve çeşitlerinin de zaman içerisinde çoğaldığı söylenebilir. Nitekim, spirulina bunlardan bir tanesidir. Spirulina, günümüzde gıda takviyesi olarak da piyasada varlık göstermekte olup pH hassasiyeti yüksek β -karoten, tokoferol, fikosiyenin, fikoeritrin ve klorofil pigmentleri bakımında zengin, karakteristik mavi-yeşil renkli bir mikroalg olarak tanımlanmaktadır (Lafarga vd., 2020). Spirulinadan mavi renkli fikosiyenin pigmentini elektroçirme tekniği ile poli laktik asit (PLA) / (PEO) ultra ince nanoliflere entegre eden Moreira vd. (2018)'nin çalışması veya spirulinayı biyokütle (biyomas) halinde polimer nanolifler içerisine enkapsüle ederek kullanmak suretiyle kolorimetrik pH indikatörü üreten Kuntzler vd. (2020)'in çalışması, akıllı ambalaj teknolojisi çerçevesinde iyi birer örnek teşkil etmektedir.

Doğal veya sentetik indikatörlerin dünya çapında yaygınlaştığı söylenemese de ticari boyuta ulaşabilmiş olan az sayıdaki örneği göz ardı etmemek gerekir. Kırmızı et ve kanatlı etlerinde pH değişimi ve biyojen aminlerin varlığına duyarlı antosiyenin bazlı indikatörler ile üretilen sensörler, deniz ürünlerinde uçucu aminlerin varlığına duyarlı tazelik indikatörü ve ambalajlı kanatlı etleri için üretilen hidrojen sülfür varlığına duyarlı indikatörler ticari olarak kullanılmaktadır (Ahmed vd., 2018).

Tazelik kriterlerini belirlemede kullanılan bir başka yaklaşım olan sensörler ise geleceğin akıllı paketleme sistemleri için en umut verici ve

yenilikçi teknoloji olarak kabul edilmektedir (Takma ve Nadeem, 2019). Literatür incelendiğinde, çeşitli et ve et ürünleri için geliştirilmiş ve farklı materyallerin kullanıldığı pek çok sensör çalışması bulunmaktadır. Metal nanopartiküllerin çeşitli matrikslere hapsedilmesiyle üretilen kolorimetrik sensörler, bu alandaki uygulamaların dikkat çeken bir bölümünü oluşturmaktadır. Tavuk etinde gerçek zamanlı bir izleme için gümüş (Ag) nanopartiküllerin kullanıldığı gellan gam bazlı kolorimetrik hidrojen sülfür sensörü (Zhai vd., 2019) bunlardan biridir. Zhai vd., (2020a)'nın çalışmasında, agar (AG), antosiyenin (AN), gellan gam (GG) ve TiO_2 nanopartiküllerinden çift katmanlı filmler halinde ürettikleri sensörler karşılaştırılmıştır. AG/GG, AG-AN/GG, AG-AN/GG-%0.5 TiO_2 , AG-AN/GG-%1 TiO_2 ve AG-AN/GG-%2 TiO_2 olan kombinasyonlar içerisinde gerek kolorimetrik özellikler bakımından stabilitesi gerekse bazik gazlara (amin) duyarlılık bakımından AG-AN/GG-%2 TiO_2 bileşiminin en başarılı kombinasyon olduğu belirlenmiştir.

Öte yandan, etin tazeliğini belirlemeye yönelik optik temelli bir sensör çalışmasında, silikon matrikse pH indikatörü özellikli iyon çifti (lipofilik iyon çifti: anyon karakterli pH indikatörü ve kuaterner amonyum katyonu, silikon elastomerin iç katmanına homojen dağıtılarak) immobilize edilerek yapılan ve özellikle amonyaga duyarlılık gösteren ambalaj ortamındaki gazların asidik-bazik karakterindeki değişim belirlenerek ette tazeliğin seyri gözlenmeye çalışılmıştır (Werner vd., 1995).

Mikrobiyolojik durumun incelenmesine yönelik olarak geliştirilen sensörler de var olmakla beraber, bu çalışmaların önemli bir bölümü patojenler ve toksinlerini tespit etme amaçlı olduğundan, tazeliğin izlenmesine yönelik tasarımlar az sayıdadır. Zohora vd. (2013), elektronik burun cihazına kalay sensörü entegre ederek etlerdeki mikrobiyolojik kontaminasyonun belirlenmesini sağlayan tasarım ile bakteriyel yükün %98 oranında tespitini sağlamışlardır. Mercan balığında mezofilik bakteriler ve *Enterobacteriaceae* tespitine yönelik olarak

geliştirilen kolorimetrik sensör (Zaragoza vd., 2013) de tazeliği belirleme odaklı çalışmalar arasındadır.

Doğal renk indikatörlerinde ifade edildiği gibi tüketiciye güven veren antosiyanin, kurkumin gibi pek çok meyve, sebze ve çiçeklerin görünür bölgedeki doğal boyar maddeleri yenilebilir sensörler kapsamında da değerlendirilmektedir (Halonen vd., 2020). Kolorimetrik tespit gerçekteştirmek için Dudnyk vd., (2018)'nin çalışmasında kırmızı kabaktan elde edilen ve antosiyanin içeren ekstrakta pektin ilavesiyle oluşturulan film, ambalaj materyaline entegre edilmiştir. Sığır eti, tavuk eti, balık eti, karides gibi farklı et çeşitlerinin tazeliğini yitirmesiyle tepe boşluğundaki miktarı giderek artan aminlerin varlığı, bu filmin renginin mordan sarıya dönmesiyle belirlenmiştir. Ian vd., (2020) ise aminlerle etkileşime giren ve meyve ekstraktlarında doğal olarak bulunan genipin maddesini, biyojen amin varlığını tespit etmek üzere yenilebilir Ca-aljinata immobilize ederek tavuk etinin tazeliğini belirlemek amacıyla kullanmışlardır. Elde edilen kolorimetrik sensördeki genipin, soğukta (4° C) muhafaza edilen örneklerde putresin, kadaverin, tiramin ve histaminle reaksiyon vererek koyu mavıye dönüşmektedir.

Et ve et ürünlerinin tazeliğini belirlemeye yönelik sensör ve indikatör çalışmalarının tamamı; hızlı, güvenilir, ürün durumundaki değişimi kolaylıkla fark edilir hale getiren, zararsız ve ekonomik bir ambalaj oluşturma çabasında birleşmektedir. Bir yandan da bu teknolojinin hammaddesi olan renk maddelerinden özellikle doğal kaynaklı olanlarının mümkün olabildiğince stabil kalması, beklenen işlevi göstermeleri açasından önem taşımakta olup her bir maddenin farklı dış etkenlerden farklı ölçüde etkilendiği bilinmektedir. Örneğin kurkumin ışığa duyarlı iken betanin ve antosiyanin ısıya duyarlılık göstermektedir (Etxabide vd., 2021).

Sonuç olarak, akıllı ambalajlar geliştirilirken bu maddelerin tutunacağı uygun matriksler oluşturularak en iyi performansla sahip filmler üretilmeye çalışılmaktadır. Zhai vd. (2019)'nin,

tavuk ve balık etinin akıllı ambalajlanmasında kullandığı hidrojen sülfür sensörünün belirginliği, 4°C/ 8 günlük depolama sürecinde tüketicinin çıplak gözle fark edebileceği şekilde azalmaktadır. Alizadeh-Sani vd., (2020)'nin kuzu etiyle yaptıkları akıllı ambalaj çalışmasında, antosiyanin içerkli indikatör katman, ürünün tazeliğini yitirmesine paralel olarak koyu kırmızı görünümünden soluk şeftali bir tona dönmektedir. Ezati ve Rhim (2020)'nin karideslerle yapmış olduğu çalışmasında ise depolama başlangıcında tekdüze renge sahip olan kurkumin içerkli filmin orta kısmı, 36. saatte koyulaşarak tazelik değişiminin algılanmasını sağlamıştır.

Tüm bu çalışmalardan ayrıca, tüketici beklentilerine sağlık ve çevre duyarlılığının da eklenmesiyle doğal pigmentlerin yanı sıra biyobozunur polimerlerle yapılan çalışmalar da literatürde yer bulmaya başlamıştır. Nitekim Latos-Brozio ve Masek (2020)'nin çalışmasında, klorofil, kurkumin, lutein ve karoten gibi doğal renklendiriciler ile yenilenebilir ve biyobozunur özellik taşıyan polimer matriksleri (polilaktid ve polihidroksibütirat) kullanarak ürettikleri ambalaj malzemesinin alternatif olabileceği öne sürülmüştür. Söz konusu çalışmada, ambalaj malzemesinin ısıl ve mekanik özelliklerinin de gelişerek ısıl oksidasyon, UV ve havanın etkisiyle de renk değişimlerinin meydana geldiği, böylece ambalaja yönelik klasik beklentilerin ötesinde çevre dostu ve çok fonksiyonlu bir üretim gerçekteştiği ifade edilmiştir. Söz konusu çalışmalar, umut vadeden yönleri ve sağlayacağı avantajlara karşı birtakım dezavantajlar veya geliştirilmesi gereken yönleri de içermektedir. Nitekim, akıllı ambalaj bünyesinde kullanılacak olan maddenin stabilite sorunları ve maliyete etkisi dikkati çekmektedir. Ayrıca, ambalajın içerisinde kullanılan malzemelerin ürün bileşimi ve duyuusal özellikler üzerine etkisi, sağlık üzerindeki potansiyel etkileri ve aynı zamanda yasal düzenlemelerdeki yeri gibi unsurların tam anlamıyla belirlenmesi gerekmektedir (Takma ve Nadeem, 2019).

Biyosensörler

Biyosensörler, sensörlerden farklı olarak biyolojik algılama birimine sahiptir. Biyosensörler, biyolojik

tanıma elemanı ile analiz edilecek olan hedef molekülün etkileşime girmesi sonucu oluşan biyokimyasal yanıtı, ölçülebilir fiziksel bir sinyal haline dönüştüren küçük algılayıcı cihazlar olarak tanımlanmaktadır (Kıvrak, 2019). Etin tazelik kriterlerinden olan hipoksantin / ksantin (Reza vd., 2014), biyojen amin (Verma vd., 2019), kreatin (Fazial vd., 2018) gibi maddelerin analizi amacıyla biyosensör teknolojilerinden yararlanılmış olan pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar içerisinde analiz olarak özellikle hipoksantin ve ksantin seçildiği tasarımlara sıklıkla rastlanmaktadır. Nitekim Albelda vd. (2017)'nin çalışması, domuz etine yönelik olarak ksantin oksidaz ile grafen-TiO₂ bazlı elektrokimyasal hipoksantin biyosensörü örneklerinden biri olup biyosensör tasarımlarının farklı tasarımlar ve malzemelerle çeşitlendirilmesi de mümkündür. Bunlardan, Chen vd. (2017)'nin geliştirdiği renk dönüşümlü (multicolor) biyosensör, çıplak gözle algılanabilecek bir reaksiyon mekanizmasına göre tasarlanmıştır. Kullanılan altın nano çubuk yüzeyleri (GNR: Gold Nano Rod), demir varlığında hipoksantin oksidasyonu ile açığa çıkan hidrojen peroksitin etkisiyle renk değişimi olarak algılanacak bir plazmon rezonans (SPR) değişimine girmektedir.

Bir başka yüzey plazmon rezonans (SPR) bazlı biyosensör örneği de Tantalum (v) oksit (Ta₂O₅) nano-yapıları içerisinde ksantin oksidaz enziminin hapsedilmesiyle elde edilen fiber optik ksantin biyosensörüdür (Kant vd., 2018). Donuk deniz ürünleri için geliştirilmiş olan, ksantin oksidazın bakır bazlı metal-organik yapıda nanolif film üzerine immobilize edilmesiyle elde edilen elektrokimyasal nanosensörler (Wang vd., 2019) de son yıllarda geliştirilen tasarımlara örnek teşkil etmektedir. Yazdanparast vd. (2019)'ın, poli (L-aspartik asit)/çok katmanlı karbon nanotüp modifiyeli camı karbon elektroda immobilize ettikleri ksantin oksidaz enzimini içeren biyosensör tasarımı da, balık etinde ksantin tespiti için başarılı olmuştur. Chen vd. (2019) ise daha geniş bir ürün grubu olarak su ürünleri için platin nanopartiküller ile geliştirdiği biyosensör ile hipoksantin tespitinde hızlı sonuç alınmasını mümkün kılmıştır. Mustafa vd. (2021) ise, geliştirdikleri seryum oksit bazlı hipoksantin

biyosensörü ile daha düşük maliyet, pratik kullanım ve analiz performansında artış gibi kazanımlar elde ederek aktif kullanıma uygun yeni jenerasyon bir tasarımın öncüsü olmuştur.

Her ne kadar hipoksantin ve ksantin analizine yönelik biyosensör çalışmaları fazla olsa da, literatürde diğer tazelik kriterlerini tespit edebilen biyosensör çalışmaları da mevcuttur. Bunlar içerisinde biyojen aminlerin tespitine yönelik geliştirilen enzim biyosensörleri bulunmakta olup bu biyosensörlerin tasarımında amin oksidaz, transglutaminaz, diamin oksidaz, putresin oksidaz gibi enzimler kullanılarak üretilen elektrokimyasal biyosensörler mevcuttur (Park vd., 2015; Verma vd., 2019). Hatta, bu biyosensörlerin biyojen amin tespitini laboratuvar ölçekli bir analiz olmaktan çıkarak saha testi konumuna getirebileceği ön görülmektedir (Verma vd., 2019). Nitekim Vanegas vd. (2018), fermente edilmiş ve edilmemiş balık eti ezmelerinin de (fish paste) dahil olduğu gıda ürünleri için geliştirdikleri tasarımda, diamin oksidaz enzimini kullandıkları elektrokimyasal biyosensör ile biyojen amin tespitini başarıyla gerçekleştirmişlerdir. Buna karşın, her biyosensör çalışmasının beklenen performansı sağlayamadığını belirtmek de yerinde olacaktır. Örneğin, bir kemilüminesans (kimyasal ışım) biyosensör çalışmasında biyojen amin tespiti, enzimatik (putresin/diamin oksidaz) etkileşime dayanmakta olup sığır, domuz, tavuk, hindi ve balık olmak üzere beş ayrı et örneği ile çalışılmış ancak örneklerin ön hazırlığına ilişkin veya biyosensörün girişim yapmaması yönünde ek çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (Miklicanin ve Valzacchi, 2017).

Tazeliğin belirlenmesinde farklı hedef moleküllerin de baz alındığı çalışmalar bulunmaktadır. Domuz etinde tazeliği belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada, glukoz hedef molekül olarak alınmış ve modifiye altın elektroda poliglutamam-glukoz oksidaz kompleksi kaplanmak suretiyle bir biyosensör üretilmiştir (Ahmed vd., 2018). Balık etinde tazeliğin tespit edilmesi amacıyla hedef molekülün kreatin olduğu bir diğer çalışmada ise biyolojik ajan olarak kreatinaz ve üreaz olmak üzere iki enzimden yararlanılmış ve reflektans ölçümüne dayalı bir

optik kreatin biyosensörü elde edilmiştir (Fazial vd., 2018).

Gerek sinyal dönüştürücü gerekse elektrot tasarımıdaki farklılıklarla aynı veya farklı analitleri tespit etmeye yönelik, farklı performans özelliklerine sahip çok çeşitli biyosensör çalışması yapılabilmekte iken bunlardan bazıları tek bir et eşitdi, bazıları da birden fazla et eşitdi için kullanılabilir niteliktedir. Her tasarımın kendi içerisindeki gcl ve zayıf yönleri irdelenerek gelinen noktanın ileriye taşınması ve analiz sürecinin kolaylaştırılmasına çalışılmaktadır.

Ambalajlı et ürünleri için ticari ölçekte kullanımı olan biyosensörler mevcuttur; ancak bunlar, patojen varlığını tespit amaçlı kullanılanlardır. Bu biyosensörlerde, ambalaja entegreli bir barkod membranına patojen antikoru fikse edilmekte ve ilgili patojenin varlığına bağlı olarak barkodun okunabilirliği azalmakta, yani barkod silinmeye başlamaktadır (Ahmed vd., 2018). Esasen patojen kontaminasyonun tazelik kavramı ile doğrudan bağlantısı olmadığı için bu yöndeki çalışmalar detaylandırılmamıştır. Ne var ki, tazeliğin belirlenmesine yönelik olarak gelinen noktada biyosensörlerin tam anlamıyla yaygınlaştığı söylenememektedir. Biyosensör çalışmalarında maliyetli denemeler ve üretilcek biyosensörün işlevsellik bakımından minyatürize edilme gerekliliği, uygun destek materyalinin seçimi ve biyoajanın immobilizasyonundaki zorluklar, seçicilik ve tespit limitinin (LOD) her biyosensörde beklentileri karşılamaması gibi sorunlar mevcuttur (Asal vd., 2018). Ayrıca oklu analit lmlene gibi kesinlik ve güvenilirliği artıran çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu da, bozulmanın erken aşamalarını saptamak açısından önem taşımakta, tazeliğin yitirmeye başlandığı fakat ürünün tüketime uygunsuz hale gelmediği evrenin de belirlenmesini mümkün kılacaktır (Ghasemi-Varnamkhasti vd., 2018).

Diğer Yeni Yaklaşımlar

Etin tazeliğinin belirlenmesine yönelik yeni yaklaşımlar, ürün içeriğindeki bakteri sayısı ve duyuasal özelliklerin irdelenmesini temel alan alternatif teknikleri de içermektedir. Bu tekniklerden başlıcaları elektronik dil/burun, torimetre gibi ölçüm cihazları, NIR veya MIR

(Near veya Middle Infrared) tekniği, hiperspektral görüntüleme olarak sıralanabilir. Bunlar içerisinde elektronik burun, depolama süresince etten salınan uçucu bileşenlerin lmlenmesine dayanmaktadır. NIR veya MIR ise spektroskopik verilerin temel bileşen analizine dayalı iken hiperspektral görüntüleme, canlı bakteri dağılımının nicel olarak analiz edildiği bir tekniktir. Son olarak torimetre; hassas, portatif ve kullanımı kolay bir enstrüman olup hayvansal dokulardaki elektriksel özelliklerin değişimini ölçmek suretiyle etin tazeliğini belirlemede başarıyla kullanılmaktadır (Sujiwo vd., 2019). Literatürde bu yöntemler kullanılarak farklı et eşitleri ile yapılan çalışmalar mevcuttur. Örneğin, taze ton balığı, vakum ambalajlı sığır eti (Dobrucka ve Cierpiszewski 2014) ve modifiye atmosferle paketlenen tavuk eti parçalarının (Rajamaki vd., 2004) kalitesinin, elektronik burun sistemi ile başarılı şekilde tespit edildiği bildirilmiştir. NIR ve MIR tekniğinin kullanıldığı bir başka çalışmada da, yüksek oksijen içerikli modifiye atmosfer ile paketlenen (%30 CO₂ ve %70 O₂) dana kıyması örneklerinin kalitesindeki değişim, bilgisayar skorlarının zamana karşı modellenmesinden elde edilen depolama süresi/sıcaklık çıktılarıyla sınıflandırılmıştır (Sinelli vd., 2010). Tavuk etinin tazeliğini belirlemeye yönelik olarak yapılan bir çalışmada ise uçucu bazık azot miktarı ve mikrobiyal sayının torimetre değerleri ile paralellik gösterdiği ortaya konmuştur (Sujiwo vd., 2018). rnekleri çoğaltmak mümkün olmakla beraber, bu kapsamda yapılan çalışmaların başarısı değerlendirildiğinde, söz konusu yeni yaklaşımların belli bir noktaya ulaştığı görülmektedir. Buna karşılığ, diğer pratik yöntemlerin aksine bu yaklaşımların tüketicieye ulaşma ve hatta tüketim anına dek tazeliğin izlenmesini sağlama gibi bir iddiaya sahip olmadığı, saha ya da laboratuvar ölçekli tespitlerin yapılmasında yararlı olacağı öngörülmektedir.

SONUÇ

Son yıllarda artış gösteren tazelik sorunları ve gıda zehirlenmeleri gündemde önemli bir yer bulmaktadır. Ayrıca et gibi besleyici ve ekonomik değer yüksek bir gıdanın tazeliğinin en hızlı, kolay ve doğru şekilde belirlenmesi, olası kayıp ve

zararların öngörülmesi ve önlenmesi bakımından önem taşımaktadır.

Titrimerik, spektrofotometrik, kromatografik, mikrobiyolojik yöntemler gibi geleneksel yöntemlerde karşılaşılan zorlukların giderilmesi ve evsel/tüketici düzeyindeki tespitlerin mümkün kılınması adına yapılan araştırmalarda sensörler ve indikatörlerin başı çektiği yeni teknolojilere yönelim gerçekleşmekte, geliştirilen sistemler ambalaja entegre edilerek tüketiciyle buluşturulmaya çalışılmaktadır. Bu yöndeki çalışmalarda, tazelik değişiminin çıplak gözle fark edilecek şekilde belirgin ve gerçek zamanlı olarak ortaya çıkarılmasına yönelik pek çok başarılı örnek mevcuttur. Bunun yanı sıra biyosensörler, tazelik kriteri olarak seçilen herhangi bir analiti hassasiyetle algılayan analitik cihazlar olarak son zamanlarda önemli bir alternatif haline gelmiş ve tasarımsal farklılıklarla bu cihazların performansı oldukça arttırılmıştır. Öte yandan giderek artan sağlık bilinci ve doğal kaynaklardan elde edilen materyallerin tüketiciye güven vermesi yönüyle yenilebilir sensörler ve farklı çalışma prensipleri ile son yıllarda öne çıkan NIR & MIR, torimetre, elektronik burun gibi alternatif cihazlar da öne çıkmaktadır.

Çalışılan her yeni yaklaşımda, tazelik kriterinin kolayca tespit edilmesi ve analiz sürecinin kolaylaştırılmasının yanı sıra tüketicinin de tazeliği kolayca anlayabileceği ambalajların geliştirilmesine çalışılmaktadır. Akıllı ambalajlama teknolojisiyle özdeşleşen bu yeniliklerin, ürüne dair gerçek zamanlı bir gözlem sağlamak ve tüketici güvenini pekiştirmek gibi getirileri olsa da akıllı ambalajlama uygulamalarının çeşitli nedenlerle ülkemiz de dahil olmak üzere dünya genelinde beklenen ticari boyuta geçememiş olduğu görülmektedir. Hatta, et ve et ürünleri için olabildiğince hızlandırılması istenen tazelik tespit sürecinde, çeşitli dezavantajlarına rağmen klasik yöntemlere başvurulmakta, yeni yaklaşımların daha tercih edilir konuma geçmesi adına yol katedilmesi gerektiği ve bu nedenle gelişmeye açık olduğu görülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

PTÖ literatürü taradı ve SD ile beraber yazdı. SK makalenin son halini okudu ve onayladı.

KAYNAKLAR

Aghaei, Z., Ghorani, B., Emadzadeh, B., Kadkhodae, R., Tucker, N. (2020). Protein-based halochromic electrospun nanosensor for monitoring trout fish freshness. *Food Control* (111): 107065.

Ahmed, I., Lin, H., Zou, L., Li, Z., Brody, A. L., Qazi, I., M., Lv, L., Pavase, T. R., Khan, M. U., Khan, S., Sun, L. (2018). An overview of smart packaging technologies for monitoring safety and quality of meat and meat products. *Packag Tech Sci* (31):449–471. doi: 10.1002/pts.2380.

Albeda, J. A. V., Uzunoglu, A., Santos, G. N. C., Stanciu, L. A. (2017). Graphene-titanium dioxide nanocomposite based hypoxanthine sensor for assessment of meat freshness. *Biosens Bioelectron* (89): 518–524.

Alizadeh-Sani, M., Tavassoli, M., Mohammadian, E., Ehsani, A., Khaniki, G. J., Priyadarshi, R., Rhim, J-W. (2020). pH-responsive color indicator films based on methylcellulose/chitosan nanofiber and barberry anthocyanins for real-time monitoring of meat freshness. *Int J Biol Macromol* S0141-8130(20)34871-6. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.231>.

Asal, M., Özen, Ö., Şahinler, M., Baysal, H. T., Polatoğlu, İ. (2018). An overview of biomolecules, immobilization methods and support materials of biosensors. *Sensor Rev*, <https://doi.org/10.1108/SR-04-2018-0084>

Chen, Z., Lin, Y., Ma, X., Guo, L., Qiu, B., Chen, G., Lin, Z. (2017). Multicolor biosensor for fish freshness assessment with the naked eye. *Sensor Actuat B-Chem* (252): 201-208.

Chen, S., Wu, M., Lu, P., Gao, L., Yan, S., Wang, S. (2020a). Development of pH indicator and antimicrobial cellulose nanofibre packaging film based on purple sweet potato anthocyanin and oregano essential oil. *Int J Biol Macromol* (149): 271-280.

Chen, M., Yan, T., Huang, J., Zhou, Y., Hu, Y. (2021). Fabrication of halochromic smart films by

- immobilizing red cabbage anthocyanins into chitosan/oxidized-chitin nanocrystals composites for real-time hairtail and shrimp freshness monitoring. *Int J Biol Macromol* (179): 90-100.
- Chen, J., Yu, L., Yan, F., Wu, Y., Huang, D., Weng, Z. (2019). A fluorescent biosensor based on catalytic activity of platinum nanoparticles for freshness evaluation of aquatic products. *Food Chem* (310): 125922.
- Chen, H., Zhang, M., Bhandari, B., Yang, C. (2020b). Novel pH-sensitive films containing curcumin and anthocyanins to monitor fish freshness. *Food Hydrocoll* (100): 105438.
- Deligöz, E., Bilge, N. (2017). Sütle Gelen Tehdit: Aflatoksin M1. *Turjaf* 5 (8): 846-857.
- Devi, R., Batra, B., Suman, L., Yadav, S. (2013). A method for determination of xanthine in meat by amperometric biosensor based on silver nanoparticles/cysteine modified Au electrode. *Process Biochem*, 48(2): 242-249.
- Dobrucka, R., Cierpiszewski, R. (2014). Active and Intelligent Packaging Food Research and Development- A Review. *Pol J Food Nutr Sci*, 64(1): 7-15.
- Dudnyk, I., Janecek, E. R., Joset, J. V., Stellacci, F. (2018). Edible sensors for meat and seafood freshness. *Sensor Actuat B-Chem* (259): 1108-1112.
- Etxabide, A., Kilmartin, P. A., Mate, J. I. (2021). Color stability and pH-indicator ability of curcumin, anthocyanin and betanin containing colorants under different storage conditions for intelligent packaging development. *Food Control* (121): 107645.
- Ezati, P., Bang, Y., Rhim, J-W. (2021). Preparation of a shikonin-based pH-sensitive color indicator for monitoring the freshness of fish and pork. *Food Chem* (337): 127995.
- Ezati, P., Rhim, J-W. (2020). pH-responsive pectin-based multifunctional films incorporated with curcumin and sulfur nanoparticles. *Carbohydr Polym* (230): 115638.
- Ezati, P., Rhim, J-W., Moradi, M., Tajik, H., Molaei, R. (2020). CMC and CNF-based alizarin incorporated reversible pH-responsive color T indicator films. *Carbohydr Polym* (246): 116614.
- Ezati, P., Tajik, H., Moradi, M. (2019). Fabrication and characterization of alizarin colorimetric indicator based on cellulose-chitosan to monitor the freshness of minced beef. *Sensor Actuat B-Chem* (285): 519-528.
- Fazial, F. F., Tan, L. L., Zubairi, S. I. (2018). Bionzymatic creatine biosensor based on reflectance measurement for real-time monitoring of fish freshness. *Sensor Actuat B-Chem* (269): 36-45.
- Fisher, F. (1995). Commission decision of 8 March 1995, fixing the total volatile basic nitrogen (TVB-N) limit values for certain categories of fishery products and specifying the analysis methods to be used. *Official Journal of the European Communities*. Retrieved from <http://data.europa.eu/eli/dec/1995/149/oj>.
- Fu, L., Wang, A., Zhang, H., Zhou, Q., Chen, F., Su, W., Yu, A., Ji, Z., Liu, Q. (2019). Analysis of chicken breast meat freshness with an electrochemical approach. *J. Electroanal. Chem* (855): 113622.
- Ge, Y., Li, Y., Bai, Y., Yuan, C., Wu, C., Hu, Y. (2020). Intelligent gelatin/oxidized chitin nanocrystals nanocomposite films containing black rice bran anthocyanins for fish freshness monitorings. *Int J Biol Macromol* (155): 1296-1306.
- Gahasemi-Varnamkhasti, M., Apetrei, C., Lozano, J., Anyogu, A. (2018). Potential use of electronic noses, electronic tongues and biosensors as multisensor systems for spoilage examination in foods. *Trends Food Sci Technol* (80): 71-92.
- Halonen, N., Pálvolgyi, P. S., Bassani, A., Fiorentini, C., Nair, R., Spigno, G., Kordas, K. (2020). Bio-Based Smart Materials for Food Packaging and Sensors – A Review. *Bio-Based Smart Material* (7) article 82 doi: 10.3389/fmats.2020.00082.
- Huang X.W., Zou X.B., Shi J.Y. (2014). Determination of pork spoilage by colorimetric gas sensor array based on natural pigments. *Food Chem* (145): 549-554.

- Ian, M., Fiona, J., Christopher B., C. (2020). An edible genipin-based sensor for biogenic amine detection. *J Chem Tech Biotechnol*, <https://doi.org/jctb.6556>
- Jia, S., Li, Y., Zhuang, S., Sun, X., Zhang, L., Shi, J., Hong, H., Luo, Y. (2019). Biochemical changes induced by dominant bacteria in chill-stored silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and GC-IMS identification of volatile organic compounds. *Food Microbiol* Dec. (84): 103248. doi: 10.1016/j.fm.2019.103248.
- Jiang, G., Hou, X., Zeng, X., Zhang, C., Wu, H., Shen, G., Li, S., Luo, Q., Li, M., Liu, X., Chen, A., Wang, Z., Zhang, Z. (2020). Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) lam) anthocyanins for monitoring fish freshness. *Int J Biol Macromol* (143): 359–372.
- Karim, N, U., Kennedy, J. T., Linton, M., Patterson, M., Watson, S., Gault, N. (2019). Determination of nucleotide and enzyme degradation in haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and herring (*Clupea harengus*) after high pressure processing. *PeerJ* (7): e7527 doi: 10.7717/peerj.7527
- Kang, S., Wang, H., Xia, L., Chen, M., Li, L., Cheng, J., Li, X., Jiang, S. (2020). Colorimetric film based on polyvinyl alcohol/okra mucilage polysaccharide incorporated with rose anthocyanins for shrimp freshness monitoring. *Carbohydr Polym* (229): 115402.
- Kant, R., Tabassum, R., Gupta, B. D. (2018). Xanthine oxidase functionalized Ta₂O₅ nanostructures as a novel scaffold for highly sensitive SPR based lif optic xanthine sensor. *Biosens Bioelectron* (99): 637–645.
- Kıvrak, E. (2019). Klinik Analizlere Yönelik Aptamer Tabanlı Elektrokimyasal Biyosensör Tasarımı. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal teknolojiler Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 134 s.
- Kocaman, N., Sarımehtemtoğlu, B. (2010). Gıdalarda Akıllı Ambalaj Kullanımı. *Vet Hekim Der Derg* 81(2): 67-72.
- Kuntzler, S. G., Costa, J. A. V., Brizio, A. P. D. R., de Moraes, M. G. (2020). Development of a colorimetric pH indicator using nanofibers containing T Spirulina sp. LEB 18. *Food Chem* (328): 126768.
- Kuswandi, B., Nurfawaidi, A. (2017). On-package dual sensors label based on pH indicators for real-time monitoring of beef freshness. *Food Control* (82): 91-100.
- Kürek, M., Hlupic, L., Scetar, M., Bosiljkov, T., Galic, K. (2019). Comparison of two pH-responsive color-changing bio-based films containing wasted fruit pomace as a source of colorants. *J Food Sci*, 84(9): 2490–8. doi: 10.1111/1750-3841.14716.
- Lafarga, T., Fernandez-Sevilla, J. M., Gonzalez-Lopez, C., Acien-Fernandez, F. G. (2020). Spirulina for the food and functional food industries. *Food Res Int* (137): 109356.
- Latos-Brozio, M., Masek, A. (2020). The application of natural food colorants as indicator substances in T intelligent biodegradable packaging materials. *Food Chem Toxicol* (135): 110975.
- Lazaro, C.A., Junior, C.A.C., Canto, A.C.V.C.S., Monteiro, M., L., G. (2015). Biogenic amines as bacterial quality indicators in different poultry meat species. *LWT- Food Science and Techn* (60): 15-21.
- Lee, K., Baek, S., Kim, D., Seo, J. (2019). A freshness indicator for monitoring chicken-breast spoilage using a Tyvek® T sheet and RGB color analysis. *Food Packaging and Shelf Life* (19): 40–46.
- Li, Y., Wu, K., Wang, B., Li, X. (2021). Colorimetric indicator based on purple tomato anthocyanins and chitosan for application in intelligent packaging. *Int J Biol Macromol* (174): 370-376.
- Liu, D., Cui, Z., Shang, M., Zhong, Y. (2021). A colorimetric film based on polyvinyl alcohol/sodium carboxymethyl cellulose incorporated with red cabbage anthocyanin for monitoring pork freshness. *Food Packaging and Shelf Life* (28): 100641.

- Luo, X., Lim, L-T. (2020). Curcumin-loaded electrospun nonwoven as a colorimetric indicator for volatile amines. *LWT - Food Science and Technology* (128): 109493.
- Metin, S., Erkan, N., Varlık, C. (2002). The Application of Hypoxanthine Activity as a Quality Indicator of Cold Stored Fish Burgers. *Türk J Vet Anim Sci* (26): 363-367.
- Miklicanin, E. O., Valzacchi, S. (2017). Development of new chemiluminescence biosensors for determination of biogenic amines in meat. *Food Chem* (235): 98–103.
- Mohammadalinejad, S., Almasi, H., Moradi, M. (2020). Immobilization of Echiium amoenum anthocyanins into bacterial cellulose film: A novel colorimetric pH indicator for freshness/spoilage monitoring of shrimp. *Food Control* <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107169>.
- Moradi, M., Tajik, H., Almasi, H., Forough, M., Ezati, P. (2019). A novel pH-sensing indicator based on bacterial cellulose nanofibers and black carrot anthocyanins for monitoring fish freshness. *Carbohydr Polym* (222): 115030.
- Moreira, J. B., Terra, A. L. M., Costa, J. A. V., de Morais, M. G. (2018). Development of pH indicator from PLA/PEO ultrafine fibers containing pigment of microalgae origin. *Int J Biol Macromol* (118) Part B: 1855-1862.
- Mustafa, F., Othman, A., Andeescu, S. (2021). Cerium oxide-based hypoxanthine biosensor for Fish spoilage monitoring. *Sensor Actuat B-Chem* (332): 129435.
- Öksüztepe, G. ve Beyazgül, P. (2015). Akıllı Ambalajlama Sistemleri ve Gıda Güvenliği. *F.U. Sağ. Bil. Vet. Derg.* 29(1): 67 – 74.
- Pacquit, A., Lau, K. T., McLaughlin, H., Frisby, J., Quilty, B., & Diamond, D. (2006). Development of a volatile amine sensor for the monitoring of fish spoilage. *Talanta*, 69(2): 515-520.
- Park, Y. V., Kim, S. M., Lee, J. Y., Jang, W. (2015). Application of biosensors in smart packaging. *Mol Cell Toxicol* (11): 277-285 Doi: 10.1007/s13273-015-0027-1
- Purma, Ç., Serdaroğlu, M. (2006). Akıllı Ambalajlama Sistemlerinin Gıda Sanayiinde Kullanımı. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu, Türkiye 49-52 s.
- Qiao, L., Tang, X., Dong, J. (2017). A feasibility quantification study of total volatile basic nitrogen (TVB-N) content in duck meat for freshness evaluation. *Food Chem* (237): 1179–1185.
- Rajamäki T., Alatomı H., Titvanen T., Skyttä E., Smolander M., Ahvenainen R. (2004). Application of an electronic nose for quality assessment of modified atmosphere packaged poultry meat. *Food Control* (17): 5–13.
- Reza, K.K., Singh, N., Yadav, S.K., Singh, M.K., Biradar, A.M. (2014). Pearl shaped highly sensitive Mn₃O₄ nanocomposite interface for biosensor applications. *Biosens Bioelectron* (62): 47-51.
- Roy, S., Rhim, J-W. (2020). Anthocyanin food colorant and its application in pH-responsive color change indicator films. *Crit Rev Food Sci Nutr*. Doi: 10.1080/10408398.2020.1776211.
- Saraç, A. (2011). Atatürk Baraj Gölü'nde yaşayan *Carasobarbus luteus* ve *Capoeta ruttia*' da balık tazeliğinin tespiti. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, Türkiye, 56 s.
- Sinelli, N., Limbo, S., Torri, L., di Egidio, V., Casiraghi, E. (2010). Evaluation of freshness decay of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaged at different temperatures using NIR and MIR spectroscopy. *Meat Sci* (86): 748–752.
- Sujiwo, J., Kim, D., Jang, A. (2018). Relation among quality traits of chicken breast meat during cold storage: Correlations between freshness traits and torrymeter va- lues. *Poult Sci* (97): 2887–2894.
- Sujiwo, J., Kim, H-J., Song, S-O., Jang, A. (2019). Relationship between quality and freshness traits and torrymeter value of beef loin during cold storage. *Meat Sci* (149): 120–125.
- Şenman, N. H. (2007). Gökkuşadı alabalıklarında (*onchornycus mykiss*) biyojen aminlerin HPLC ile saptanması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri

- Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 57 s.
- Takma, D. K., Nadeem, H. Ş. (2019). Gıdalarda akıllı ambalajlama teknolojisi ve güncel uygulamalar. *GIDA* 44(1): 131-142. Doi: 10.15237/gida.GD18106.
- Topçu, Ş., Çölgeçen, H. (2015). Bitki sekonder metabolitlerinin biyoreaktörlerde üretilmesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8(2): 09-29.
- Vanegas, D., Patino, L., Mendez, C., Oliveira, D.A., Torres, A.M., Gomes, C.L., McLamore, E.S. (2018). Laser scribed graphene biosensor for detection of biogenic amines in food samples using locally sourced materials. *Biosensors*, 8(2): 42.
- Verma, N., Hooda, V., Gahlaut, A., Gothwal, A., Hooda, V. (2019). Enzymatic biosensors for the quantification of biogenic amines: a literature update. *Crit Rev Biotechnol* (40), 2020 – (1): 1-14.
- Vo, T.-V., Dang, T.-H., Chen, B.-H. (2019). Synthesis of intelligent pH indicative films from chitosan/poly(vinyl alcohol)/anthocyanin extracted from red cabbage. *Polymers*, 11(7): 1088. doi: 10.3390/polym11071088.
- Wang, Z., Ma, B., Shen, C., Lai, O., Tan, C., Cheong, L. (2019). Electrochemical Biosensing of Chilled Seafood Freshness by Xanthine Oxidase Immobilized on Copper-Based Metal–Organic Framework Nanolif Film. *Food Anal. Methods* (12): 1715–1724.
- Wei, Y.-C., Cheng, C.-H., Ho, Y.-C., Tsai, M.-L., Mi, F.-L. (2017). Active gellan gum/purple sweet potato composite films capable of monitoring pH variations. *Food Hydrocoll* (69): 491-502.
- Werner, T., Klimant, I., Wolfbeis, O.S. (1995). Ammonia-sensitive polymer matrix employing immobilised indicator ion pairs. *Analyst* (120): 1627-1631.
- Wojnowski, W., Majchrzak, T., Dymerski, T., Gebicki, J., Namiesnik, J. (2017). Electronic noses: Powerful tools in meat quality assessment. *Meat Sci* (131): 119–131.
- Wojnowski, W., Namieśnik, J., Płotka-Wasyłka, J. (2019). Dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography–mass spectrometry for in situ determination of biogenic amines in meat: Estimation of meat's freshness. *Microchem J* (145): 130–138.
- Wu, C., Li, Y., Sun, J., Lu, Y., Tong, C., Wang, L., Yan, Z., Pang, J. (2020). Novel konjac glucomannan films with oxidized chitin nanocrystals immobilized red cabbage anthocyanins for intelligent food packaging. *Food Hydrocoll* (98): 105245. Doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105245.
- Wu, C., Sun, J., Chen, M., Ge, Y., Ma, J., Hu, Y., Pang, J., Yan, Z. (2019). Effect of oxidized chitin nanocrystals and curcumin into chitosan films for seafood freshness monitoring. *Food Hydrocoll* (95): 308–317.
- Yazdanparast, S., Benvidi, A., Abbasi, S., Rezaeinasab, M. (2019). Enzyme-based ultrasensitive electrochemical biosensor using poly(L-aspartic acid)/MWCNT bionanocomposite for xanthine detection: A meat freshness marker. *Microchem J* (149): 104000.
- Zaragoza, P., Fuentes, A., Fernandez-Segovia, I., Vivancos, J. L., Rizo, A., Ros-Lis, J. V. (2013). Evaluation of sea bream (*Sparus aurata*) shelf life using an optoelectronic nose. *Food Chem* 138 (2–3): 1374–1380.
- Zeng, P., Chen, X., Qin, Y., Zhang, Y., Wang, X., Wang, J., Ning, Z., Ruan, Q., Zhang, Y. (2019). Preparation and characterization of a novel colorimetric indicator film based T on gelatin/polyvinyl alcohol incorporating mulberry anthocyanin extracts for monitoring fish freshness. *Food Res. Int.* (126): 108604.
- Zhai, X., Li, Z., Shi, Y., Huang, X., Sun, Z., Zhang, D., Zou, X., Sun, Y., Zhang, J., Holmes, M., Gong, Y., Povey, M., Wang, S. (2019). A colorimetric hydrogen sulfide sensor based on gellan gum-silver T nanoparticles bionanocomposite for monitoring of meat spoilage in intelligent packaging. *Food Chem* (290): 135–143.
- Zhai, X., Shi, J., Zou, X., Wang, S., Jiang, C., Zhang, J., Huang, X., Zhang, W., Holmes, W. (2017). Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with

roselle anthocyanins for fish freshness monitoring. *Food Hydrocoll* (69): 308-317.

Zhai, X., Wang, X., Zhang, J., Yang, Z., Sun, Y., Li, Z., Huang, X., Holmes, M., Gong, Y., Povey, M., Shi, J., Zou, X. (2020b). Extruded low density polyethylene-curcumin film: A hydrophobic ammonia sensor for intelligent food packaging. *Food Packaging and Shelf Life* (26): 100595.

Zhai, X., Zou, X., Shi, J., Huang, X., Sun, Z., Li, Z., Sun, Y., Li, Y., Wang, X., Holmes, M., Gong, Y., Povey, M., Xiao, J. (2020a). Amine-responsive bilayer films with improved illumination stability and T electrochemical writing property for visual monitoring of meat spoilage. *Sensor Actuat B-Chem* (302): 127130.

Zhang, J., Huang, X., Shi, J., Liu, L., Zhang, X., Zou, X., Xiao, J., Zhai, X., Zhang, D., Li, Y., Shen, T. (2021). A visual bi-layer indicator based

on roselle anthocyanins with high hydrophobic property for monitoring griskin freshness. *Food Chem* (355): 129573.

Zhang, J., Huang, X., Zou, X., Shi, J., Zhai, X., Liu, L., Li, Z., Holmes, M., Gong, Y., Povey, M., Xiao, J. (2021). A visual indicator based on curcumin with high stability for monitoring the freshness of freshwater shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*. *J. Food Eng.* (292): 110290.

Zohora, S.E., Khan, A.M., Srivastava, A.K., Hundewale, N. (2013). Electronic noses application to food analysis using metal oxide sensors: a review. *Int. J. Soft Comput. Eng.* (3): 199–205.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Bozkır, H., Rayman Ergün, A. *Influence of ultrasonic and electrical pretreatments on the drying and quality characteristics of kiwi fruit slices* / Ultrasonik ve elektriksel ön işlemlerin kivi dilimlerinin kuruma ve kalite özelliklerine etkisi 817-829
- Kürekcı, C., Tan, S., Arslan, A., Özgen, S.B., Sakin, F. *A comparison of solid-phase extraction methods for bisphenol a in cheese samples* / Peynir numunelerinde bisfenol a için katı faz ekstraksiyon metodlarının karşılaştırılması 848-858
- Özdemir, İ.S., Semizer Aksoy, H. *Effect of good and poor postharvest handling practices on the losses in lettuce and tomato supply chains* / İyi ve yanlış hasat sonrası uygulamaların marul ve domates tedarik zincirlerinde yaşanan kayıplar üzerine etkisi 859-871
- Gündoğdu, B., Süfer, Ö., Simsek, M. *Effect of different drying methods on the phenolic extraction from butternut squash pomace* / Farklı kurutma yöntemlerinin balkabağı posasından fenolik ekstraksiyonu üzerine etkisi 883-894
- Oskaybas Emlak, B., Özbey, A. *Effect of linoleic acid addition on the CIS9-Trans11-conjugated linoleic acid content of kefir* / Linoleik asit ilavesinin kefirin CIS9-Trans11-konjüğe linoleik asit içeriğine etkisi 895-902
- Yüksel, Ç., Şahin, S., Çakmak, T. *Effect of H₂O₂ oxidation stress on carotenoid production in Chlamydomonas reinhardtii and its antioxidant activity* / H₂O₂ oksidasyon stresinin Chlamydomonas reinhardtii mikroalginin karotenoid üretimi ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisi 903-913
- Kulcan, A.A., Zoua Assoumou, U.T., Aygün, M., Kuzu, Ş., Demet Yıldız, D., Kaya, N., Hacıoğlu, A., Karhan, M. *Impact of carob extract supplementation on chemical and sensory properties of yogurt and ice cream* / Keçiyoynuzu ekstraktı takviyesinin yoğurdun ve dondurmanın kimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi 980-991
- Yazıcı, S.Ö. *Optimization of the extraction conditions of phenolic compounds from Alchemilla vulgaris using response surface methodology* / Alchemilla vulgaris'ten fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimizasyonu 1040-1052

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Özdemir, G., Dülger Altınar, D., Şahan, Y. *Bazı tıbbi bitkilerle zenginleştirilmiş ekmeklerin duyuşal özellikleri ve satın alma niyetine etkisi* / The sensory properties of bread enriched with some medicinal plants and its effect on purchase intention 767-784
- Yalçın, M., Tuncer, Y. *Piliç etinden izole edilen yüksek seviyede aminoglikozit dirençli enterokokların antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi* / Determination of the antibiotic resistance profiles of high-level aminoglycosid-resistant enterococci isolated from broiler meat 803-816
- Karaalioğlu, O., Günay, E., Karagül Yüceer, Y. *Tire Çamur peynirinin bazı fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri* / Some physicochemical and sensory characteristics of Tire Çamur cheese 914-924
- Güzel, N. *Alıç: Biyoaktif bileşenlerin termosonikasyon ile ekstraksiyonu ve fizikokimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi* / Hawthorn: Extraction of bioactive compounds by thermosonication and evaluation of physico-chemical properties 939-948
- Tosun, M.N., Taylan, G., Zorba, N.N. *Çanakkale bölgesinden alınan midye ve deniz suyu örneklerinin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi* / Determination of the microbiological quality of mussels and seawater samples received from Çanakkale region 949-958
- Daştan, S., Türker, İ., İşleroglu, İ. *Çemen otu tohumundan fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için optimizasyon çalışması* / An optimization study on the extraction of phenolic compounds from fenugreek seeds 959-970
- Çevik, M. *Gelincik çiçeği şurubunun elektriksel iletkenlik değerleri ve reolojik özelliklerindeki değişimin incelenmesi* / Investigation of the changes in electrical conductivity values and rheological properties of poppy flower syrup 992-1001
- Yılmaz, M.S., Kutlu, N., Erdem, G.M., Şakıyan, Ö., İşci, A. *Fenolik bileşiklerin alıç meyvesinden (Creataegus monogyna) mikrodalga ve ultras ses destekli yöntemler ile ekstraksiyonu* / Extraction of phenolic compounds from hawthorn fruit (Creataegus monogyna) using microwave and ultrasound assisted methods 1002-1015
- Baysal, M., Elmacı, Y. *Model sütlü tatlıda homojen olmayan dağılım ile yağ azaltma* / Fat reduction by inhomogeneous distribution in model dairy dessert 1016-1025
- Erdem, F., Gündoğan, E.N., Yılmaz, M.S., Sezgin, İ., Summakoglu, Y., Şakıyan, Ö. *Kuşburnu (Rosa canina) fenolik bileşiklerinin mikroenkapsülasyonu* / Microencapsulation of rosehip (Rosa canina) phenolic compounds 1026-1039

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Acar, L., Keskin, S.Ö. *Kızılötesi, mikrodalga, ultras ses teknolojileri ve kombinasyonları kullanılarak modifiye edilmiş doğal biyopolimerlerin çeşitli özellikleri üzerine bir derleme* / A review on various properties of natural biopolymers modified by infrared, microwave, ultrasound technologies and their combinations 785-802
- Yasemin Çiftci, Y., Mustafa Fincan, M. *Meyve ve sebzelerin kurutulmasında ön işlem olarak vurgulu elektrik alan kullanımı* / The use of pulsed electric field as a pre-treatment for drying of fruits and vegetables 830-847
- Gökırmaklı, Ç., Üçgül, B., Güzel-Seydim, Z.B. *Fonksiyonel gıda kavramına yeni bir bakış: Postbiyotikler* / A new insight of the functional food concept: Postbiotics 872-882
- Özhanlı, H., Bilgin, D.G., Mutlu, C., Erbaş, M. *Nadir bir şeker olan D-allülozun beslenme kullanım imkanları ve üretim yöntemleri* / D-allulose, a rare sugar, and its usage possibilities in nutrition and production methods 925-938
- Sur, E.B., Karabıyıklı Çiçek, Ş. *Chia tohumunun kimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri* / Chemical, antioxidant and antimicrobial properties of chia seed 971-979
- Özkaya, P.T., Dağbağı, S., Kayaardı, S. *Ette tazeliğinin belirlenmesi: yeni yaklaşımlar* / Detection of meat freshness: New approaches 1053-1067