

ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL

AKADEMİK

**GIDA**



Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida> Cilt/Volume:19 Sayı/Number:2 Nisan - Haziran 2021

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

**SİDAS MEDYA**

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

---

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

---

**Baş Editör / Editor-in-Chief**

[Oğuz Gürsoy](#)

(Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur, Türkiye)  
(*Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Food Engineering Department, Burdur, Turkey*)



ogursoy@yahoo.com

---

**Yardımcı Editörler / Associate Editors**

[Özer Kinik](#)

(Ege Üniversitesi, Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir, Türkiye)  
(*Ege University, Department of Dairy Technology, Izmir, Turkey*)



ozer.kinik@ege.edu.tr

[Ramazan Gökçe](#)

(Pamukkale Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Denizli, Türkiye)  
(*Pamukkale University, Food Engineering Department, Denizli, Turkey*)



rgokce@pau.edu.tr

[Yusuf Yılmaz](#)

(Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur, Türkiye)  
(*Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Food Engineering Department, Burdur, Turkey*)



yusuf.yilmaz@mehmetakif.edu.tr

---

**Teknik Editör / Technical Editor**

[Hande Özge Güler](#)

(Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur, Türkiye)  
(*Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Food Engineering Department, Burdur, Turkey*)



handeguler@mehmetakif.edu.tr

---

**Uluslararası Yayın Kurulu / International Editorial Board**

**Gıda Mühendisliği / Food Engineering**

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Cynthia Ditchfield</a>	University of Sao Paolo, Faculty of Animal Science and Food Engineering, Department of Food Engineering	Sao Paolo	Brazil
<a href="#">Arif Hepbaşlı</a>	Yaşar University, Department of Energy Systems Engineering	İzmir	Turkey
<a href="#">Filiz İçier</a>	Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Erkan Karacabey</a>	Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Isparta	Turkey
<a href="#">Sami Gökhan Özkal</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Konstantinos Petrotos</a>	Technological Educational Institute of Larissa, Department of Agricultural Engineering Technologists	Larissa	Greece
<a href="#">Jenny Ruales</a>	Escuela Politécnica Nacional, Departamento de Ciencias de Alimentos y Biotecnología	Quit	Ecuador
<a href="#">Yahya Tülek</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey

**Gıda Kimyası / Food Chemistry**

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Fahrettin Göğüş</a>	Gaziantep University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Gaziantep	Turkey
<a href="#">Piotr Koczon</a>	Warsaw University of Life Sciences, Faculty of Food Sciences, Department of Chemistry	Warsaw	Poland
<a href="#">Erdoğan Küçüköner</a>	Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Isparta	Turkey
<a href="#">Semih Ötles</a>	Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Beraat Özçelik</a>	Istanbul Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Food Engineering Department	İstanbul	Turkey
<a href="#">Osman Sağdıç</a>	Yıldız Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Food Engineering Department	İstanbul	Turkey
<a href="#">Romeo Toledo</a>	Emeritus Professor, University of Georgia, Department of Food Science and Technology	Georgia	USA

**Gıda Mikrobiyolojisi & Biyoteknoloji / Food Microbiology & Biotechnology**

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Iuliana Aprodu</a>	Dunarea de Jos University of Galati, Department of Food Science, Food Engineering and Applied Biotechnology,	Galati	Romania
<a href="#">Muhammet Arıcı</a>	Yıldız Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Food Engineering Department	İstanbul	Turkey
<a href="#">Jurislav Babic</a>	University of Osijek, Faculty of Food Technology	Osijek	Croatia
<a href="#">Oana Emilia Constantin</a>	Dunarea de Jos University of Galati, Department of Food Science, Food Engineering and Applied Biotechnology,	Galati	Romania
<a href="#">İbrahim Çakır</a>	Abant İzzet Baysal University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Bolu	Turkey
<a href="#">Ahmet Hilmi Çon</a>	Ondokuz Mayıs University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Samsun	Turkey
<a href="#">Mehmet Yekta Göksungur</a>	Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Sebnem Harsa</a>	İzmir Institute of Technology, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Patricia Munsch-Alatossava</a>	Independent Researcher	Helsinki	Finland
<a href="#">Ömer Şimşek</a>	Yıldız Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Food Engineering Department	İstanbul	Turkey
<a href="#">Özgür Tarhan</a>	Uşak University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Uşak	Turkey

## Gıda Analizleri / Food Analysis

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Abdullah Akdoğan</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Chemical Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">İsmail Hakkı Boyacı</a>	Hacettepe University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Ankara	Turkey
<a href="#">Hale Seçilmiş Canbay</a>	Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Science and Arts, Chemistry Department	Burdur	Turkey
<a href="#">Mustafa Zafer Özel</a>	Sensient Flavors Ltd.	Milton Keynes	UK

## Gıda Ambalajlama / Food Packaging

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Zehra Ayhan</a>	Sakarya University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Sakarya	Turkey
<a href="#">Cengiz Caner</a>	Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Çanakkale	Turkey

## Süt Teknolojisi / Dairy Technology

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Mohamed H. Abd El-Salam</a>	Emeritus Professor, National Research Centre, Department of Dairy Sciences	Cairo	Egypt
<a href="#">Ayşe Sibel Akalın</a>	Ege University, Faculty of Agriculture, Dairy Technology Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Meral Kılıç Akyılmaz</a>	İstanbul Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Food Engineering Department	İstanbul	Turkey
<a href="#">Tapani Alatossava</a>	University of Helsinki, Department of Food and Nutrition	Helsinki	Finland
<a href="#">Rajka Bozanic</a>	University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Department of Food Engineering	Zagreb	Croatia
<a href="#">Abdullah Çağlar</a>	Kocaeli University, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, Department Of Agricultural Economics	Kocaeli	Turkey
<a href="#">Songül Çakmakçı</a>	Atatürk University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Erzurum	Turkey
<a href="#">Ali Adnan Hayaloğlu</a>	İnönü University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Malatya	Turkey
<a href="#">Harun Kesenkaş</a>	Ege University, Faculty of Agriculture, Dairy Technology Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Ahmet Küçükçetin</a>	Akdeniz University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Antalya	Turkey
<a href="#">Barbaros Özer</a>	Ankara University, Faculty of Agriculture/Department of Dairy Technology, Department of Dairy Technology	Ankara	Turkey
<a href="#">Harun Raşit Uysal</a>	Ege University, Faculty of Agriculture, Department of Dairy Technology	İzmir	Turkey
<a href="#">Yonca Yüceer</a>	Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Çanakkale	Turkey

## Yağ Teknolojisi / Oil and Fat Technology

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Aydın Yapar</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Emin Yılmaz</a>	Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Çanakkale	Turkey

## Hububat Teknolojisi / Cereal Technology

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Hülya Gül</a>	Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Isparta	Turkey
<a href="#">Fatma Işık</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Ergun Köse</a>	Manisa Celal Bayar University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Manisa	Turkey
<a href="#">Pichan Prabasankar</a>	CSIR-Central Food Technological Research Institute, Flour Milling Baking and Confectionery Technology Department	Mysuru	India

## Et Teknolojisi / Meat Technology

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Nesimi Aktaş</a>	Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Faculty of Engineering and Architecture, Food Engineering Department	Nevşehir	Turkey
<a href="#">Haluk Ergezer</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Hüdayi Ercoşkun</a>	Çankırı Karatekin University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Çankırı	Turkey
<a href="#">Mükerrem Kaya</a>	Atatürk University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Erzurum	Turkey
<a href="#">Semra Kayaardı</a>	Manisa Celal Bayar University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Manisa	Turkey
<a href="#">Jung Hoon Lee</a>	Fort Valley State University, College of Agriculture, Family Sciences and Technology	Georgia	USA
<a href="#">Edward Pospiech</a>	Department of Animal Raw Materials, Institute of Meat Technology, Faculty of Food Sciences and Nutrition, Poznan University of Life Sciences,	Poznan	Poland
<a href="#">Fatma Meltem Serdaroğlu</a>	Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">İsmail Yılmaz</a>	Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, Food Engineering Dept.	Tekirdağ	Turkey

## Meyve-Sebze Teknolojisi / Fruit and Vegetable Technology

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Chockry Barbana</a>	Canadian Food Inspection Agency	Montréal	Canada
<a href="#">Utku Çopur</a>	Uludağ University, Faculty of Agriculture, Food Engineering Department	Bursa	Turkey
<a href="#">Seda Ersus</a>	Ege University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	İzmir	Turkey
<a href="#">Hakan Karaca</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Sebahattin Nas</a>	Pamukkale University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Denizli	Turkey
<a href="#">Ayhan Topuz</a>	Akdeniz University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Antalya	Turkey
<a href="#">Yakup Sedat Velioğlu</a>	Ankara University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Ankara	Turkey
<a href="#">Ünal Rıza Yaman</a>	Tire Kutsan Vocational School, Department of Food Technology	İzmir	Turkey
<a href="#">Oktay Yemiş</a>	Sakarya University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department	Sakarya	Turkey
<a href="#">Ufuk Yücel</a>	Ege University, Ege Vocational Training School, Department of Food Technology	İzmir	Turkey

## Sağlık, Beslenme, Toksikoloji ve Gıda / Health, Nutrition, Toxicology and Food

Name and Surname	Affiliation	City	Country
<a href="#">Adriana Pavesi Ariseto Bragotto</a>	State University of Campinas, Faculty of Food Engineering	Campinas	Brazil
<a href="#">Gözde Ede</a>	Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Health Sciences, Nutrition and Dietetic Department	Burdur	Turkey

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

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

Akademik Gıda 19 (2) (2021)  
**İÇİNDEKİLER / CONTENTS**

■ Editörden / Editorial

VII-VIII

■ MAKALELER / PAPERS

■ Araştırma Makaleleri / Research Papers

**Collagen/Gelatin Extraction from Poultry Skin and Mechanically Deboned Meat (MDM) Residues / Kanatlı Deri ve Mekanik Olarak Eti Sıyrılmış Kemik (MKS) Artıklarından Kollajen/Jelatin Ekstraksiyonu / Ayşegül Gündem, Özgür Tarhan**

116-125

**Use of Phenolic Profile and Fatty Acid Composition on Chemometric Discrimination of Turkish Virgin Olive Oils with Geographical Indication / Coğrafi İşaretili Türk Zeytinyağlarının Kemometrik Ayırımında Fenolik Profil ve Yağ Asidi Kompozisyonunun Kullanımı / Çisil Türkay, Onur Özdikicierler, Fahri Yemişcioğlu**

126-136

**Potansiyel Ekşi Hamur Starter Kültürü Weissella cibaria N9'un Dondurularak Kurutulması için Koruyucu Ajanların Optimizasyonu / Optimization of Protective Agents for Freeze-Drying of Weissella cibaria N9 as a Potential Starter Culture / Latife Betül Gül, Osman Gül, Enes Dertli, Ahmet Hilmi Çon**

137-149

**Monascus purpureus'dan Katı Kültür Fermantasyon Yöntemi ile Renk Pigmenti Üretimi / Production of Microbial Pigments by Solid-State Fermentation Technique using Monascus purpureus / Yekta Gökşungur, Seda Sarıyıldız**

150-158

**Yağ Türünün Bir Fonksiyonu Olarak Lesitin Adsorbe Edilmiş Yağ/Su Emülsiyonlarının Ara Yüzey Reolojik Özellikleri / Interfacial Viscoelastic Properties of Lecithin-Adsorbed Oil/Water Emulsions as a Function of Oil Type / Duygu Aslan Türker, Meryem Göksel Saraç, Mahmut Doğan**

159-168

**Altınçilek (Physalis peruviana L.) Meyvesinin Bazı Biyoaktif Özellikleri / Some Bioactive Properties of Cape Gooseberry (Physalis peruviana L.) Fruits / Osman Onur Kara, Erkan Karacabey, Erdoğan Küçüköner**

169-176

**Blok Tip Eritme Peynirinden Üretilen Peynir Cipslerinin Bazı Özellikleri / Some Properties of Cheese Chips Produced from Block Type Melting Cheese / Zehra Albay, Tuğçe İşliyen, Yoldaş Yıldırım, Bedia Şimşek**

177-184

■ Derleme Makaleler / Review Papers

**Düşük Frekansta Elektriksel İşlem Destekli Ekstraksiyon Yöntemleri ile Gıdalardan Değerli Bileşen Eldesi / Extraction of Valuable Constituents from Foods by using Low Frequency Electrical Process Assisted Extraction Methods / Buse Melek Çabas, Filiz İçier**

185-197

**Çimlendirilmiş Bazı Tahıl ve Baklagillerin Kimyasal Özellikleri ve Çimlendirmeye Açığa Çıkan Biyoaktif Bileşenlerin Sağlık Üzerine Etkileri / Chemical Properties of Some Germinated Grains and Legumes and Effects of Bioactive Constituents Released during Germination on Human Health / Ayşe Seda Şenlik, Derya Alkan**

198-207

**Probiyotiklerin Meyve ve Sebze Bazlı İçeceklerde Kullanımı / Use of Probiotics in Fruit and Vegetable-Based Drinks / İlkin Yücel Şengün, Yunus Yahşi**

208-220

**Etil Lauroyl Arjinat ile Zenginleştirilmiş Yenilebilir Film ve Kaplamalar / Edible Films and Coatings Enriched with Ethyl Lauroyl Arginate / Bahar Demirçan, Özgül Özdestan Ocak**

221-233

**Diyet Lifi ve Sağlık Açısından Önemi / Dietary Fiber and Its Importance on Human Health / Nermin Salçın, Hüdayi Erçoşkun**

234-243

■ Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları / Guidelines to Authors

IX-XII

■ Etik Beyanı / Ethics and Publication Malpractice Statement

XIII-XVIII

**Sahibi**

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

**Genel Yayın Yönetmeni**

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

**Baş Editör**

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY  
ogursoy@yahoo.com

**Editörler**

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

**Reklam Müdürü**

Nurcan AKMAN ŞENGÖR

**Hukuk Danışmanı**

Av. Yrd. Doç. Dr. Murteza AYDEMİR

**Abone Sorumlusu**

Halil SOLAK

**Grafik Tasarım**

Sidas Medya Tasarım Grubu

**Yönetim Yeri**

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

Üç Ayda Bir Yayınlanan Dergimiz  
Basın Meslek İlkelerine Uymaktadır.

Yıl / Cilt: 19

Sayı: 92

Nisan - Mayıs - Haziran 2021

ISSN Print 1304-7582

ISSN Online 2148-015X

Akademik Gıda Dergisi

Bir **SİMEDYA** Yayınıdır.

GRUP

Yayın Türü: Yerel Süreli  
Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 19. yayın yılının ikinci sayısında yine sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 7 araştırma ve 5 derleme çalışması olmak üzere toplam 12 makale yer almaktadır.

Makale yazarlarından zaman zaman gelen sorular nedeniyle makale kabulü ile ilgili daha önce yaptığımız bilgilendirmeyi tekrar etmek istiyoruz. Dergimize yayımlanmak üzere gönderilen makalelerin kabulü halen <http://www.academicfoodjournal.com> adresinden yapılmakta olup, DergiPark üzerindeki makale kabul süreçlerini içeren sistem henüz kullanılmamaktadır. Bu sistem üzerinden makale kabulüne bu yıl ya da önümüzdeki yıl içerisinde geçilmesi planlanmaktadır.

Yazarlarımıza hatırlatmak istediğimiz diğer önemli bir husus 2020 yılından itibaren dergimize gönderilecek makalelerde Etik Kurul izni gerektiren çalışmaların ilgili izni aldıkları ile ilgili bilgi ve belgelerini dergimize (makalelerini dergimize gönderme aşamasında) sunmaları gerekliliğidir.

Dergimizin etik hususlarla ilgili detaylı etik beyanına web sayfamızdan (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida/page/6477>) ulaşılabilir. Ayrıca dergimizde araştırma makalelerinin ve İngilizce olarak yazılan makalelerin değerlendirme ve yayınlanma sürelerinin diğer makalelere kıyasla oldukça kısa olduğunu yazarlarımıza tekrar hatırlatmak istiyoruz.

Dergimizin hakemlik süreçleri diğer birçok uluslararası derginin de belirttiği gibi COVID-19 pandemisinden olumsuz yönde etkilenmiştir. Hakemlik davetlerinin kabul edilmeme oranının artması ve hakem dönütlerinin süresinin uzaması yazarlarımızın da bildiği gibi makalelerin değerlendirme süreçlerinde önemli gecikmelere neden olmaktadır.

Geçtiğimiz yıl olduğu gibi bu içerisinde de dergimize makale gönderen yazarlarımızın ve bazı yayın kurulu üyelerimizin koronavirüs nedeniyle rahatsızlandıklarını üzülenek öğrendik/öğreniyoruz. Hastalığa yakalanan tüm meslektaşlarımıza acil şifalar diliyoruz. Geçen yıl COVID-19 nedeniyle kaybettiğimiz meslektaşlarımız Doç. Dr. İlyas Çelik ve Prof. Dr. Aydın Öztan'dan sonra bu yıl da Mayıs ayında Bandırma Onyediy Eylül Üniversitesi Bandırma Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nurcan Değirmencioğlu'nu Covid-19 nedeniyle kaybetmiş olmanın derin üzüntüsü içerisindeyiz. Mesleğimize büyük emekler veren kıymetli hocalarımıza Allah'tan rahmet, ailelerine, sevenlerine ve meslektaşlarımıza başsağlığı diliyoruz.

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

Saygılarımızla.

**Oğuz Gürsoy**  
Baş Editör

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



**BİLİMSEL ETKİNLİKLER****3. Uluslararası Gıda, Tarım ve Veteriner Bilimleri Kongresi**

Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi ev sahipliğinde 19-20 Haziran 2021 tarihlerinde gerçekleştirilecek olan 3. Uluslararası Gıda, Tarım ve Veteriner Bilimleri Kongresi ile ilgili bilgilere <https://www.gthk.org/> adresinden ulaşılabilir.

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

Malzeme Bilimleri alanında son gelişmelerin tartışılacağı V. International Joint Science Congress of Materials and Polymers kongresi 29 Eylül-1 Ekim 2021 tarihleri arasında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi ev sahipliğinde Lavanta Tepesi Hotel'de (Burdur) düzenlenecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <http://iscmp.org/> adresinden ulaşılabilir.

**2. Uluslararası / 12.Gıda Mühendisliği Kongresi**

TMMOB Gıda Mühendisleri Odası tarafından düzenlenen 2.Uluslararası / 12.Gıda Mühendisliği Kongresi 25-27 Kasım 2021 tarihleri arasında Ankara'da hibrit bir kongre olarak gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://www.gidamo.org.tr/> adresinden ulaşılabilir.

**7. Uluslararası Gıda Güvenliği Kongresi**

Gıda Güvenliği Derneği tarafından düzenlenen Uluslararası Gıda Güvenliği Kongrelerinin yedincisi 9-10 Haziran 2022 tarihlerinde İstanbul'da (Grand Cevahir Hotel Convention Center) gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://www.gidaguvenglikongresi.org/> adresinden ulaşılabilir.

**Türkiye 14. Gıda Kongresi**

İlki 25-27 Nisan 1978 tarihlerinde Gıda Teknolojisi Derneği ile Türkiye Odalar ve Borsalar Birliği tarafından ortaklaşa düzenlenen Türkiye Gıda Kongrelerinin on dördüncüsü Gıda Teknolojisi Derneği tarafından çevrimiçi (online) olarak 19-21 Ekim 2022 tarihlerinde gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://gidakongresi2022.org/> adresinden ulaşılabilir.

## Collagen/Gelatin Extraction from Poultry Skin and Mechanically Deboned Meat (MDM) Residues

Ayşegül Gündem<sup>1,2</sup> , Özgür Tarhan<sup>1</sup>  <sup>1</sup>Uşak University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, 1 Eylül Campus, 64200 Uşak, Turkey<sup>2</sup>Gedik Tavukçuluk ve Tarım Ürünleri Ticaret Sanayi A.Ş., Uşak, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 28.05.2021, Accepted (Kabul Tarihi): 02.07.2021

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [ozguratarhan@gmail.com](mailto:ozguratarhan@gmail.com) (Ö. Tarhan)

☎ +90 276 221 2121-6727 📠 +90 276 221 2183

### ABSTRACT

Collagen is a structural protein found naturally in high amounts in poultry skin and bones. Gelatin is obtained by a partial hydrolysis of collagen under controlled conditions. It is a pure protein with many functional and technological properties such as gelation, thickening, film-forming and emulsification. Besides skin and bones, mechanically deboned meat (MDM) residues are considered good sources of collagen as well. This study aimed to extract collagen and gelatin from poultry skin and MDM residues of neck, shinbone, breastbone, wingtip, shanks, upper/lower backbone and their mixture through pre-treatment (using with dilute alkali and acid), demineralization, degreasing and thermal extraction processes, and evaluate their properties comparatively. Based on Kjeldahl analysis, the protein content of poultry skin was about 15% and that of the MDM residues varied between 15-21% before the extraction process. The SDS-PAGE profiles of the extracted collagen in skin and MDM residues comprised  $\gamma$ ,  $\beta$ ,  $\alpha$ , and sub- $\alpha$  chain protein units. Collagen solution of the upper backbone and mixed MDM residues had the highest protein content with 11.98 mg/mL and 11.33 mg/mL, respectively. The extraction yield of collagen and gelatin significantly differed ( $p < 0.05$ ) within the range between 1.32 and 2.16%, and 1.03 and 1.89%, respectively. The viscosity of collagen/gelatin solutions decreased with an increase in shear rate and gelatin obtained from mix MDM residues indicated higher viscosity than that of skin. Results of this study showed successful recovery of collagen and gelatin from poultry processing by-products and residues, which could contribute to the production of high value-added alternative sources for various applications.

**Keywords:** Poultry, Collagen, Gelatin, Mechanically deboned meat (MDM), Extraction, Electrophoresis

### Kanatlı Deri ve Mekanik Olarak Eti Sıyrılmış Kemik (MKS) Artıklarından Kollajen/Jelatin Ekstraksiyonu

#### ÖZ

Kollajen kanatlı deri ve kemiklerinde oldukça yüksek oranda bulunan yapısal bir proteindir. Kollajenin kontrollü şartlar altında kısmi hidrolizi ile jelatin elde edilir. Jelatin jelleştirme, kıvam artırma, film oluşturma ve emülsifiye etme gibi birçok fonksiyonel ve teknolojik özelliğe sahip saf bir proteindir. Tavuk derisi ve kemiklerinin yanısıra, mekanik olarak eti sıyrılmış kemik (MKS) artıkları da iyi bir kollajen kaynağı olarak kabul edilir. Bu çalışmanın amacı kanatlı deri ve boyun, incik kemiği, göğüs kemiği, kanat ucu, ayak takozu, alt/üst sırt kemiği ve bu kemiklerin karışımının MKS artıklarında, ön işlem (seyreltik alkali ve asit ile muamele), mineral ve yağdan arındırma ve ısı ekstraksiyon işlemleriyle kollajen ve jelatin ekstrakt etmek ve karşılaştırmalı olarak bazı özelliklerini incelemektir. Kjeldahl analizine göre, örneklerin ekstraksiyon öncesi protein içerikleri tavuk derisinde yaklaşık %15 ve MKS artıklarında ise %15-21 oranları ile önemli farklılıklar ( $p < 0.05$ ) göstermektedir. Deri ve MKS artıklarından ekstrakt edilen kollajenin SDS-PAGE profilleri  $\gamma$ ,  $\beta$ ,  $\alpha$ , and sub- $\alpha$  zinciri protein unitelerini içermektedir. Sırt kemiği ve kemik karışımı MKS

artıklarından elde edilen kollajen solüsyonu en yüksek protein içeriğine sahiptir. Kollajen ve jelatin ekstraksiyon verimi sırasıyla %1.32 ila 2.16 ve %1.03 ila 1.89 arasında değişmektedir. Kollajen/jelatin viskozitesi artan kayma oranı ile azalmıştır ve karışım MKS artıklarından elde edilen jelatin deriden elde edilen jelatinden daha yüksek viskoziteye sahiptir. Bu çalışmanın sonuçları çeşitli uygulamalar için yüksek katma değerli alternatif kaynakların üretimine katkı sağlayabilecek, kanatlı işleme yan ürünleri ve artıklarından kollajen ve jelatinin başarılı şekilde geri kazanımını göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kanatlı, Kollajen, Jelatin, Mekanik olarak eti sıyrılmış kemik (MKS), Ekstraksiyon, Elektroforez

## INTRODUCTION

Collagen is the main fibrous protein in the skin and tendons of animals [1]. It is a high molecular weight protein and insoluble in water due to its hydrophobic structure [2]. Collagen-containing tissues such as skin, bones and tendons are hydrolyzed at temperatures above 40°C after treatment with dilute acid and alkali. The fibrillar structure of collagen is irreversibly broken down through these treatments [3, 4]. Collagen contains 9% hydroxyproline, 11% alanine, 12% proline and 35% glycine [5]. Proline and hydroxyproline are not found in other proteins as much as collagen [6]. These two amino acids are low in cold-blooded animals and high in warm-blooded animals [5]. The gelatin of cold-blooded animals with a low content of proline and hydroxyproline shows a poor gelling property compared to the gelatin of warm-blooded animals of the same molecular weight [5].

Upto date, nearly 28 collagen types have been identified. Among those, type I collagen is commonly found in skin, bones, tendon, ligaments and organs, whereas type II collagen specifically present in cartilage [6]. Gelatin is formed due to partial hydrolysis of collagen from slaughtering and processing by-products of cattle, pigs, fish and poultry. Unlike collagen, it dissolves in water [7]. Gelatin consists of 7% hydrogen, 17% nitrogen, 25% oxygen and 51% carbon molecules [8]. The protein content of gelatin is between 85 and 92% and the rest is composed of minerals, water and salts [9]. Gelatin is widely used in industry due to its functional properties such as thickening, water-retaining, gelling, and adhesiveness. Gelatin can be considered a multi-functional structural form of an ordinary collagen molecule [10].

Gelatin production is achieved in the following basic stages: treatment of collagen-containing tissues with dilute acid and alkali (breaking the cross-links of collagen by cutting into small pieces, washing and treatment with dilute acid and alkali), gelatin extraction (keeping the tissue in water at temperatures above 40°C by mixing), filtration and evaporation of gelatin solution after extraction (freeze-drying or heating between 40 and 80°C). In the pre-treatment stage, if the washing solution is dilute acid, type A gelatin is obtained, if it is dilute alkaline, type B gelatin is obtained [4, 7, 11]. If the tissue used for gelatin production is skin, type A gelatin is obtained; if that is bone, type B gelatin is obtained [4]. Since it reduces the quality and yield of the gelatin to be obtained, mineral substances such as calcium in bone tissues should be removed before the extraction process [13]. Moreover, production conditions including

time and temperature of the extraction process, the acid and alkali concentrations greatly affect the quality of the gelatin to be obtained [12, 14].

Due to its various use in industry, the demand for gelatin is increasing in the world. Gelatin production in the world is approximately 400,000 tons annually, mostly from pig derivatives (80%), cattle (15%), and other sources (5%) [15]. The annual use of gelatin in Turkey is around 5,000 tons and almost 90% of this amount is imported [15]. Poultry processing by-products are considered perfect alternative sources for the production of collagen and gelatin products. Current literature indicates that poultry skin, bones, head, feet are the most popular and rich sources to be used for collagen and gelatin extraction [17-20]. However, limited researches are focusing on MDM residues for protein recovery [21]. Therefore, investigation of collagen/gelatin recovery from these poultry wastes could be highly desirable.

The purposes of this study are to extract collagen and gelatin from the skin and MDM residues of poultry processing, and to determine some properties of the poultry samples (raw materials) and extracted proteins, comparatively through physicochemical analysis, SDS-PAGE profiling and rheological measurements.

## MATERIALS and METHODS

### Materials

In this study, poultry skin and MDM residues were kindly provided by a national poultry processing company, Gedik Piliç A.Ş. (Uşak, Turkey). MDM samples were obtained from the neck, shinbone, breastbone, wingtip, shank, upper and lower backbone residues separately and as a mixture of the neck, shinbone, breastbone, wingtip, foot wedge, rib cage, thigh bone residues and used to extract collagen/gelatin. All the samples were immediately stored at -18°C in plastic containers until further use. Electrophoresis standard marker and chemicals were purchased from Bio-Rad Laboratories Inc. (Hercules, CA, USA). All chemicals and reagents were purchased from Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA).

### Methods

Physicochemical analyses of poultry samples were carried out to determine contents of the dry matter, moisture, ash, fat and protein. After alkali and/or acid treatment, collagen protein was separated from raw materials and transformed into gelatin through a thermal extraction process. The amount and profiles of the

extracted collagen/gelatin protein were determined by Bradford assay and SDS-PAGE analysis. Viscosity and gel hardness measurements were performed in the protein solutions obtained during the extraction process. Experiments were performed in duplicate and average values were considered.

### Physicochemical Analyses of Poultry Samples

The frozen (-18°C) MDM bone residue samples, which were mechanically stripped of flesh and cut into small pieces to increase surface area, were allowed to thaw overnight at +4°C before analysis. The dry matter and moisture, ash, protein and fat contents of the skin (~ 1x1 cm) and pieced MDM residue samples were determined according to AOAC (1990, 2000) methods. Moisture content were determined by obtaining the constant weight of the samples after drying in an air circulation oven (Mettler UNB400, Schwabach, Germany) at 105°C (AOAC method 927.05) [22]. Ash content was determined by burning the samples in an ash furnace (Carbolite, Hope Valey, UK) at 550°C for 7 hours (AOAC method 942.05) [22]. Fat content was determined by the Soxhlet method using Gerhardt Soxtherm system (Königswinter, Germany). Protein content was determined by the Kjeldahl method based on total nitrogen, and a factor of 6.25 was used for nitrogen-protein conversion (AOAC method 984.13) [23].

### Pretreatment and Extraction

The extraction procedure of collagen/gelatin was adopted from previous studies [18, 20]. Twenty-five grams of thawed and chopped (~ 1x1 cm) skin samples were treated with 100 mL of dilute acid (0.1 N HCl) and alkali (0.1 N NaOH) solutions for 3 h, respectively at room temperature (RT). Mid-washings and filtration steps were applied between acid and alkali treatments. Then, gelatin extraction was carried out in distilled water at 55°C for 7h, with a subsequent filtration as well. After

each treatment step, the solution was filtered through a 4-layer cheesecloth and the skin samples were washed with distilled water. At the end of the extraction process, the final filtrate was kept at 4°C for further analyses. Dissolved pieced MDM samples (25 g) were subjected to cleaning in distilled water (100 mL) at 65°C for 3 h in a shaking incubator at 150 rpm. After filtration through a 4-layer cheesecloth, the samples were demineralized with the treatment of 4% HCl for 24 h. This was performed to weaken the mineral part of the bone and remove calcium phosphates. In the degreasing process, the fat content of the samples was removed with n-hexane at 35°C for 18h. To remove non-proteinous-nitrogen compounds, they were then treated with 0.1 N NaOH for 24h and poultry bone collagen was obtained. Acid treatment of MDM bone samples was carried out at the demineralization stage. MDM bone samples were treated with 0.1 N NaOH to break the crosslinks in the structure before extraction. After these treatments, gelatin extraction was carried out in water using a shaking incubator at 60°C for 24h. Gelatin solution obtained as a result of the extraction process was filtered and stored at +4°C for further analyses. The procedures followed in the extraction of collagen/gelatin from chicken skin and bones (including MDM sample) were given in Figures 1 and 2 below.

### Determination of Protein Content by Bradford Assay

Protein contents in solutions obtained during extraction processes were determined by Bradford assay as previously described in [24]. Hundred µl of ten-fold diluted collagen/gelatin sample solution were mixed with 5 mL of Bradford reagent and resultant protein/dye solutions were kept in the dark for 5 min. Absorbance measurements were taken at 595 nm in UV-VIS Spectrophotometer (Libra S70, Biochrom Ltd, Cambridge, UK) and the content of protein in the samples was determined with the help of the standart curve prepared previously.

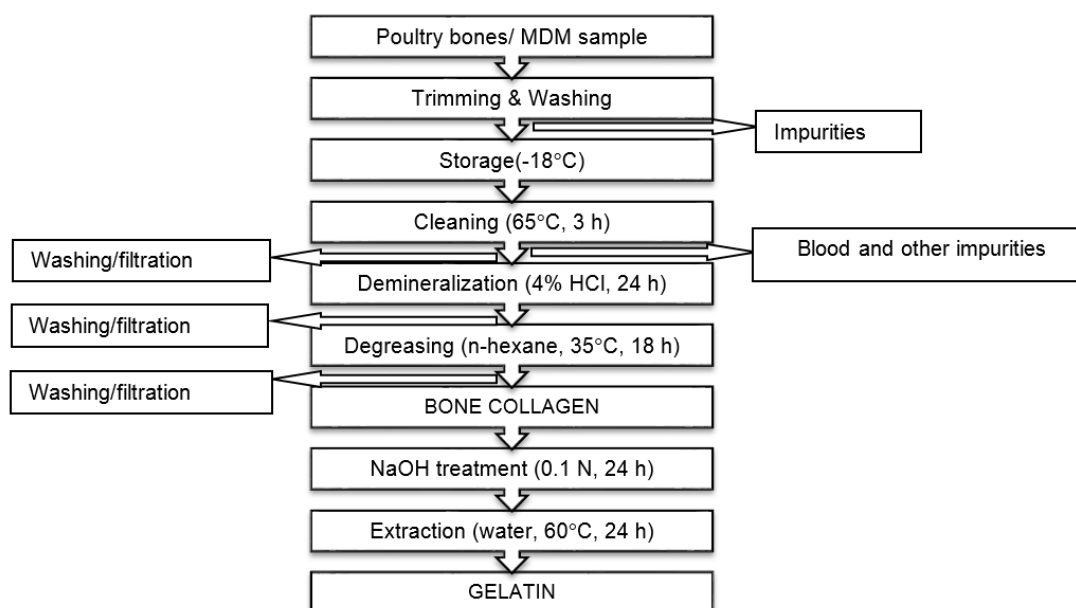


Figure 1. Extraction procedure for collagen/gelatin from poultry MDM residues

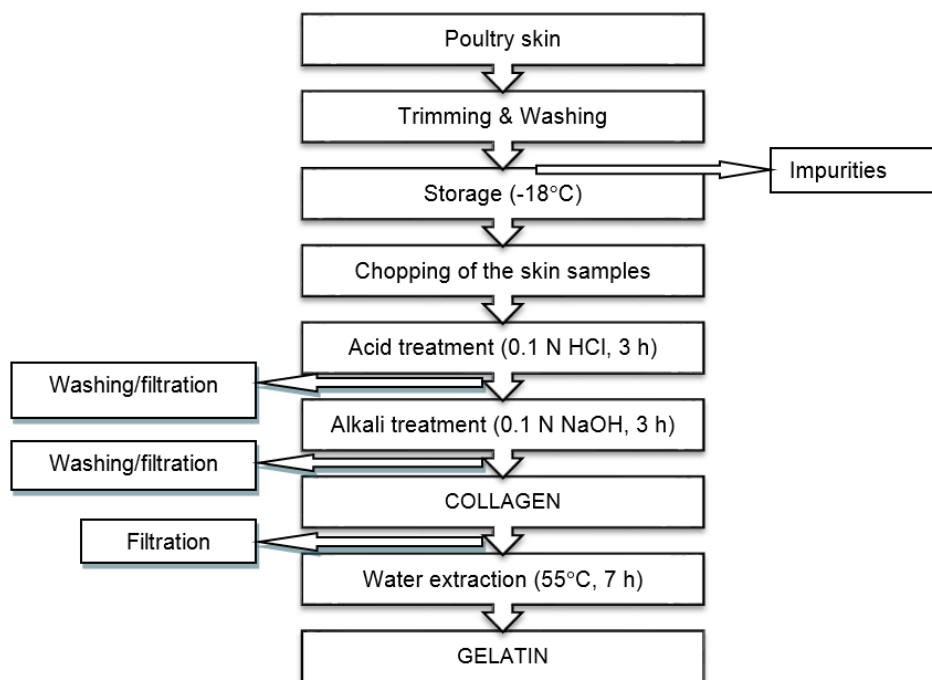


Figure 2. Extraction procedure for collagen/gelatin from poultry skin

### Yield of Extraction

By considering protein content based on Bradford assay, the yield of extraction was calculated with the following formula;

$$\text{Yield (\%)} = (\text{protein amount of recovered collagen or gelatin} / \text{wet weight of raw material}) * 100$$

### SDS-PAGE Analysis

Protein fractions in the samples were analyzed by SDS-PAGE according to Laemmli protocol [25]. Collagen/Gelatin samples were mixed with sample buffer (1:1 v/v) and boiled for 5 minutes to denature proteins. Twenty microliters of each sample was loaded into each well. Electrophoresis was carried out on a 4-12% polyacrylamide gel using MiniProtean Tetra System (Biorad Lab Inc, USA). It was run at 75 V in the first 15 minutes, then at 150 V for an hour within tris glycine buffer. Following protein staining performed using Coomassie Brilliant Blue R250 for 30 min, destaining was carried out for a few hours and protein bands were examined.

### Viscosity Measurements

Apparent viscosity values of collagen/gelatin solutions was determined at room temperature by using DV2T Brookfield Viscometer (MA, USA). A wide-mouth 50 mL tube containing 40 mL of sample and stainless steel RV-5 spindle (ranging between 400 and 800.000 cP) was used for the measurements. Viscosity measurements were carried out at four different spindle speeds (25, 50, 100, 200 rpm) at RT. Average values of two replicates were considered.

### Gel Hardness Measurements

Gel hardness measurements of collagen/gelatin solutions were carried out using Brookfield CT3 Texture Analyzer (MA, USA) with a load cell of 4.5 kg. A flat bottom cylinder (clear acrylic), with a diameter of 25.4 mm, probe (TA11-1000) was used forced to penetrate 10 mm into the sample with a penetration speed of 0.5 mm/s to determine the maximum mass in g. Hardness (g) and hardness work done (mJ) were recorded in the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> cycle penetration tests.

### Statistical Analysis

One-way ANOVA was applied using Tukey's test to compare means of moisture, fat, ash, dry matter and protein contents of poultry samples viscosity and hardness of collagen and gelatin obtained. IBM® SPSS® V23 software was used to perform statistical tests and the level of significance was 0.05.

## RESULTS and DISCUSSION

### Composition of Poultry Skin and MDM Residue Samples

Chemical properties of poultry skin and MDM residue raw materials were given in Table 1. Among the samples, the poultry skin had the lowest moisture content with ~44% ( $p < 0.05$ ). The sample with the highest fat content was the skin sample with ~16% and followed by the wingtip sample with ~9.6% ( $p < 0.05$ ). However, both indicated the lowest ash contents in comparison to the other samples ( $p < 0.05$ ). The shinbone residue had the highest ash content with ~20.5%, while having the lowest fat content with ~3.3% ( $p < 0.05$ ). Although the shinbone residue seemed to have the highest protein content (~21.7%), the

difference of protein content among the samples were not significant ( $p>0.05$ ). In a previous study concerning MDM residues of neck, breast and backbone for gelatine production, the protein, ash, fat and moisture contents were reported as 18.92%, 12.67%, 6.17% and 60.26%, respectively [26]. In another study concerning Alaska pollocks indicated that their frames had the moisture content of  $64.0\pm 2.9$ , crude protein content of  $18.4\pm 0.8$ , crude fat content of  $0.7\pm 0.2$  and ash content of

$14.9\pm 0.07$  per 100 grams [27]. The approximate chemical composition of the pork skin was 34.9% protein, 22.6% fat, and 44.4% moisture [28]. Ferraro et al. [29] demonstrated that the moisture, dry matter and Kjeldahl protein content of femur and tibia bones were  $10.8\pm 0.1$ ,  $89.2\pm 0.3$  and  $29.5\pm 0.2$  for the 4 and 7 year-old milk cows. The results of the presented study were comparable with the relevant literature.

Table 1. Chemical composition of poultry skin and MDM residue samples

No*	Samples	Moisture (%)	Fat (%)	Ash (%)	N (%)	Protein (%) (Nx6.25)	Dry matter (%)
1	Poultry skin	$44.06\pm 2.07^B$	$16.33\pm 1.18^A$	$0.33\pm 0.07^E$	$2.42\pm 0.19^A$	$15.13\pm 1.17^A$	$55.93\pm 2.07^A$
2	Neck	$62.14\pm 2.14^A$	$5.90\pm 0.86^C$	$12.52\pm 1.72^{BC}$	$3.00\pm 0.41^A$	$18.76\pm 2.58^A$	$37.85\pm 2.15^B$
3	Shinbone	$55.03\pm 1.58^{AB}$	$3.28\pm 0.20^C$	$20.51\pm 1.54^A$	$3.47\pm 0.10^A$	$21.68\pm 0.63^A$	$44.95\pm 1.58^{AB}$
4	Breastbone	$56.28\pm 3.22^A$	$4.18\pm 0.21^C$	$18.47\pm 2.04^{AB}$	$2.98\pm 0.43^A$	$18.69\pm 2.66^A$	$43.71\pm 3.22^B$
5	Wing tip	$61.78\pm 0.90^A$	$9.57\pm 0.11^B$	$4.31\pm 0.38^{DE}$	$2.51\pm 0.17^A$	$15.73\pm 1.10^A$	$38.21\pm 0.90^B$
6	Shanks	$63.89\pm 2.17^A$	$5.64\pm 0.97^C$	$11.17\pm 1.55^{BCD}$	$3.26\pm 0.05^A$	$20.41\pm 0.30^A$	$36.09\pm 2.16^B$
7	Upper backbone	$59.71\pm 0.11^A$	$3.43\pm 0.08^C$	$15.17\pm 0.26^{ABC}$	$3.34\pm 0.11^A$	$20.92\pm 0.68^A$	$40.28\pm 0.11^B$
8	Lower backbone	$58.47\pm 2.25^A$	$4.71\pm 0.40^C$	$14.42\pm 1.87^{ABC}$	$2.91\pm 0.21^A$	$18.20\pm 1.31^A$	$41.52\pm 2.25^B$
9	Bone mixture	$64.26\pm 2.99^A$	$6.51\pm 0.19^{BC}$	$10.04\pm 0.79^{CD}$	$3.16\pm 0.07^A$	$19.80\pm 0.46^A$	$35.72\pm 3.00^B$

\* Samples from 2 to 8 represent MDM residues of the given bones taken separately and sample 9 represents MDM residue of the bone mixture (the neck, shinbone, breastbone, wingtip, foot wedge, rib cage, thigh bone). Different letters in the same column represent significant differences ( $p<0.05$ ).

### Protein Content of Collagen/Gelatin Solutions

The protein contents (mg/mL) of collagen/gelatin solutions determined by the Bradford method were given in Figure 3. Dark columns represented collagenous material and light ones represented gelatin extracted. The upper backbone and mixed MDM residue appeared to have the highest protein (collagen) content among all the other samples ( $p<0.05$ ). In general, the content of protein in collagen solutions were found to be higher ( $p<0.05$ ) than that in gelatin solutions, indicating protein loss through extraction process. Interestingly, the content of protein measured in collagen solution was slightly lower than that measured in gelatin solutions of the neck and wing tip residue samples ( $p>0.05$ ). This might be due to triggered protein dissolution and extraction through given process steps. Regarding extracted gelatin, while the neck residues comprised the highest (10.50 mg/mL) gelatin content, breastbone residues revealed the lowest (6.06 mg/mL) gelatin content ( $p<0.05$ ).

Since the protein contents of recovered collagen and gelatin from poultry and the other sources were mostly expressed in percentage or yield, it was hard to compare the results given here properly with the literature studies. For instance, Almedia et. al [17] obtained gelatin from skin and tendons of chicken feet with the protein content of 85%. In another study concerning multi-step chicken bone collagen recovery, Cansu and Boran [18] reported that protein losses during cleaning, demineralization and degreasing steps were 6.4, 13.4 and 18.6%, respectively.

Protein content in the recovered collagen and gelatin solutions were used in the calculation of extraction yields, which were presented in Table 2. They were expressed in weight of protein in the corresponding

solutions, determined by Bradford assay per weight of moist raw material (skin and MDM samples). In current literature, similar calculations are given especially based on the dry weight of powdered gelatin/collagen recovered per weight of raw material [14, 17]. However, in our case, we did not make the final solutions dry and get powder. According to this, there might be differences in extraction yield obtained in comparison to the reported works. For instance, Almedia et al. [17] reported that the yield of collagen recovered from chicken skin was about 7.83%. The yields of collagen and gelatin extracted from skin samples in the presented work were 1.32% and 1.62%, respectively. Regarding bone residues, the highest collagen yield was achieved in upper backbone and mixed MDM samples with ~2.15% ( $p<0.05$ ), whereas, the highest gelatin yield was obtained in upper backbone and neck residues with ~1.85% ( $p<0.05$ ).

### Protein Profiling

The SDS-PAGE profiles of collagen obtained from poultry samples were shown in Figure 4. Protein bands corresponding to different molecular weights represent different fractions of collagen/gelatin. Based on the literature, the high molecular weight proteins in collagen/gelatin are the "γ" chain, in the range of 230-340 kDa, "β" chains, in between 123-230 kDa, and the "α" chains, in between 80-125 kDa. Besides, there are α-chain subunits with lower molecular weight found in the environment and these are subunit-1 (50-80 kDa), subunit-2 (35-49 kDa), subunit-3 (25-35 kDa), and subunit-4 (10-25 kDa) [6]. During the conversion of collagen to gelatin, the protein fragments with various weights are formed by breaking the peptide bonds and the cross-links between the chains [30]. According to our results, three major bands with molecular weights of ~200, 130, 115 kDa were observed in poultry skin (lane

1), representing  $\beta$ ,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  collagen. The slight and strong bands at ~130 and between 10 and 80 kDa, indicating  $\alpha$ -collagen units and subunits, respectively were detected in the bones samples (lane 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). The mixed MDM residue obtained after the final processing of bones in slaughterhouse exhibited a many protein bands between ~130 and 10 kDa, corresponding to  $\alpha$ -collagen units and subunits as well (lane 9). In all of the MDM samples, a high intensity band at ~50 kDa was dominantly observed. However, it was not detected in the collagen profile of the skin sample. In case gelatin extraction, thermal treatment applied for a period (above

denaturation temperature) might result in destroyed triple helices and broken down of peptide bonds [30]. Thermal denaturation occurs in gelatin over 43°C, in association with the helix-coil transition as previously reported [31]. This phenomenon was consistent with the observed smear-like appearance of the gelatin profiles (lane 1g - 9g) represented in Figure 4. The mixed MDM residue sample better exhibited most of the protein fractions/units&subunits (lane 9c) when compared to the other residue samples (lane 2c – 8c).

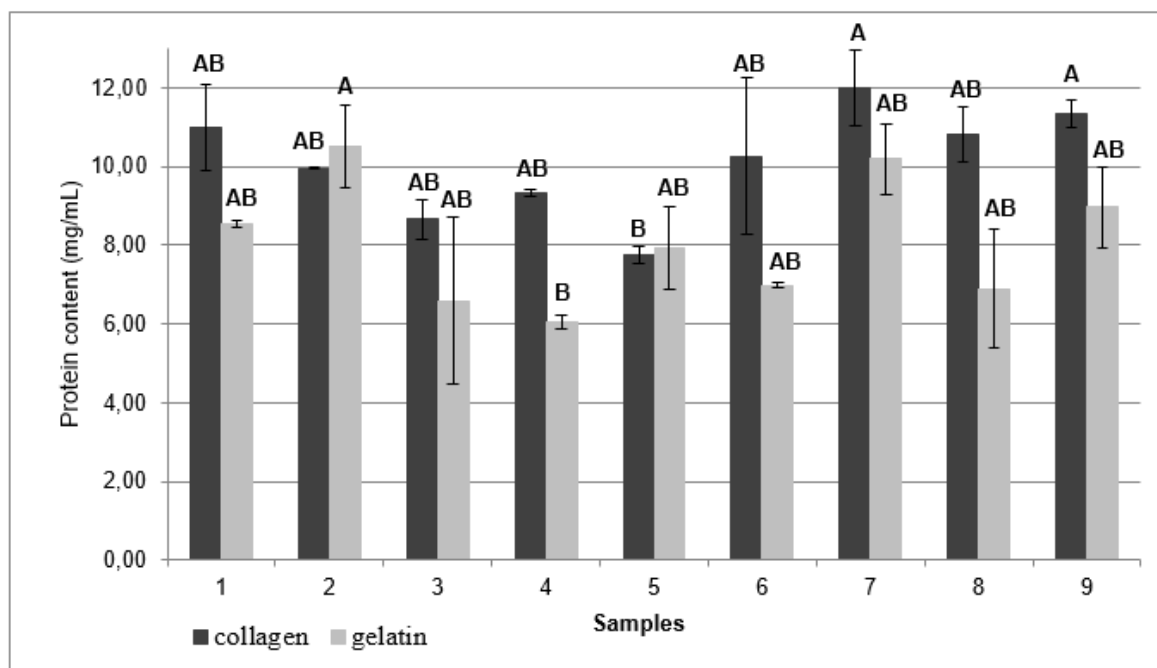


Figure 3. Protein contents in collagen/gelatin solutions determined using Bradford assay. Numbers represent the skin and MDM residue samples as follows. 1: skin; 2: neck; 3: shinbone; 4: breast bone; 5: wing tip; 6: shanks; 7: upper back bone; 8: lower back bone; 9: bone mixture (the neck, shinbone, breastbone, wingtip, foot wedge, rib cage, thigh bone). Different letters in the same group of the samples represent significant difference ( $p < 0.05$ )

Table 2. The yield of collagen and gelatin obtained from the skin and MDM residue samples

Sample	Raw material*	Collagen yield (%)	Gelatine yield (%)
1	poultry skin	1.32±0.13 <sup>B</sup>	1.62±0.06 <sup>ABC</sup>
2	neck	1.89±0.14 <sup>AB</sup>	1.89±0.19 <sup>A</sup>
3	shinbone	1.72±0.12 <sup>AB</sup>	1.15±0.20 <sup>C</sup>
4	breastbone	1.86±0.02 <sup>B</sup>	1.03±0.06 <sup>C</sup>
5	wingtip	1.39±0.04 <sup>AB</sup>	1.50±0.09 <sup>ABC</sup>
6	shanks	2.02±0.45 <sup>AB</sup>	1.26±0.01 <sup>BC</sup>
7	upper backbone	2.16±0.17 <sup>A</sup>	1.83±0.16 <sup>AB</sup>
8	lower backbone	2.06±0.29 <sup>AB</sup>	1.24±0.27 <sup>BC</sup>
9	bone mixture	2.15±0.09 <sup>A</sup>	1.61±0.19 <sup>ABC</sup>

\* Samples from 2 to 8 represent MDM residues of the given bones taken separately and sample 9 represents MDM residue of the bone mixture (the neck, shinbone, breastbone, wingtip, foot wedge, rib cage, thigh bone). Different letters in the same column represent significant difference ( $p < 0.05$ ).

Collagen and gelatin extracted from animal skin and bones can be used for various applications including gelation, thickening, emulsification and film formation. Regarding MDM residues of different bones reported in

this study, the neck, upper backbone and the bone mix might serve better functionality for these purposes since they had higher protein content in comparison to the others.

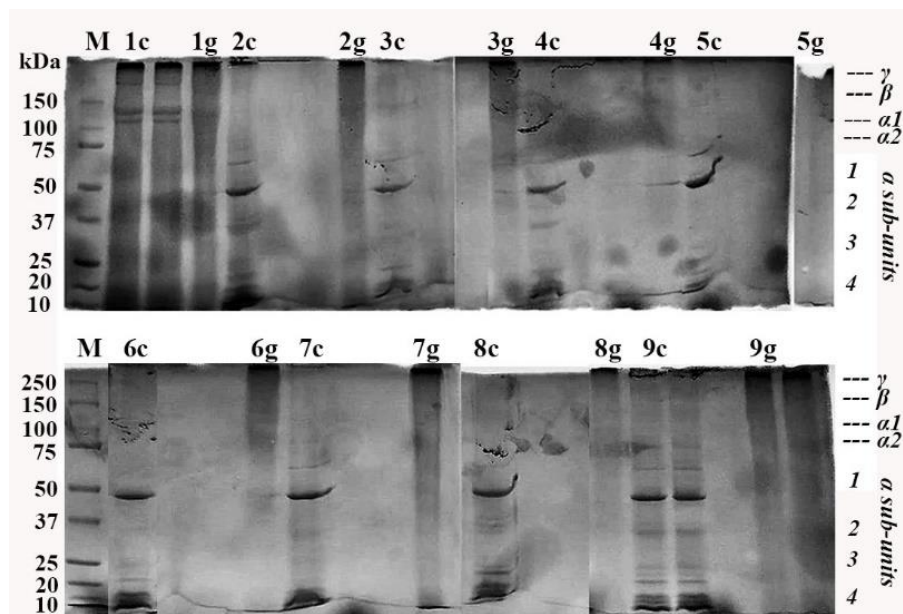


Figure 4. SDS-PAGE profiles of collagen and gelatin from poultry skin and MDM residues. Lane M represents the protein standard (Bio-Rad, CA, USA). Lane 1: skin; lane 2: neck; lane 3: shinbone; lane 4: breast bone; lane 5: wingtip; lane 6: shanks; lane 7: upper backbone; lane 8: lower backbone; lane 9: bone mixture. The c and g represented collagen and gelatin, respectively.

### Apparent Viscosity and Gel Strength of Collagen/Gelatin Solutions

Figure 5 shows apparent viscosity varying with spindle speed in collagen and gelatin solutions of poultry skin and MDM samples. The viscosity decreased with the increasing speed that inducing shear force, thus indicating the shear-thinning behavior of collagen/gelatin solutions measured at RT. Li et al. [32] reported that viscosity decreased with the increasing shear rate in collagen solutions, indicating the shear-thinning phenomenon. Non-Newtonian shear thinning behavior of collagen and gelatin solutions could be explained through diminished entanglements of protein aggregates due to the shear force and decreased internal and intramolecular friction forces, facilitating the flow of the solutions [33]. Thus, the increasing shear rate gave rise to decreasing viscosity of collagen/gelatin solutions.

Since the amount of solvent used in the pre-treatment and extraction stages was high, the viscosity values obtained were low accordingly. In case skin sample the viscosities of collagen and gelatin were almost identical, however, in case MDM residue sample containing the bone mixture viscosity of gelatin was higher than that of collagen ( $p < 0.05$ ). This might be arisen from a difference in extraction procedures of them, suggesting increased inter-and intramolecular interactions of gelatin sub-units in the latter case. It should be noted that a lower content (mg/mL) of protein was determined in gelatin solutions than in collagen solutions of both samples as given in Figure 3. When the apparent viscosities of skin and MDM residue of the bone mixture were compared, no significant difference was observed

in case of collagen solutions. However, in case of gelatin solutions, the apparent viscosity of the bone mix MDM residue was higher than that of the skin samples ( $p < 0.05$ ).

Gel strength is an important parameter of collagen/gelatin solutions. Although a few attempts, unfortunately, we could not measure the gel strength in regular procedures (Bloom test) in our study. Due to excessive use of solvent during extraction and no concentration step applied, the protein concentrations in the final collagen and gelatin solutions were low. Instead, we measured the hardness through the texture analyzer compression test to determine the gel strength of the collagen and gelatin solutions comparatively.

Hardness values of collagen and gelatin extracted from the skin and MDM samples were given in Table 3. According to the results, the 1st and 2nd cycle values of hardness were quite low due to low protein concentration. However, they were quite close in each respective cycle in both, showing good viscoelastic properties of the tested protein solutions with low structural deformation. Moreover, hardness obtained in skin gelatin was the highest among the others ( $p < 0.05$ ). When compared to viscosity findings, interestingly, the hardness of skin gelatin (~21.75 g) was higher than that of MDM gelatin (~17.75 g). In a previous study, fish bone gelatin hardness (~201.48 g) was reported as almost ten times higher than ours based on hardness measurements [34]. But, the protein concentration of the gelatin solutions in that study was higher correspondingly as well.



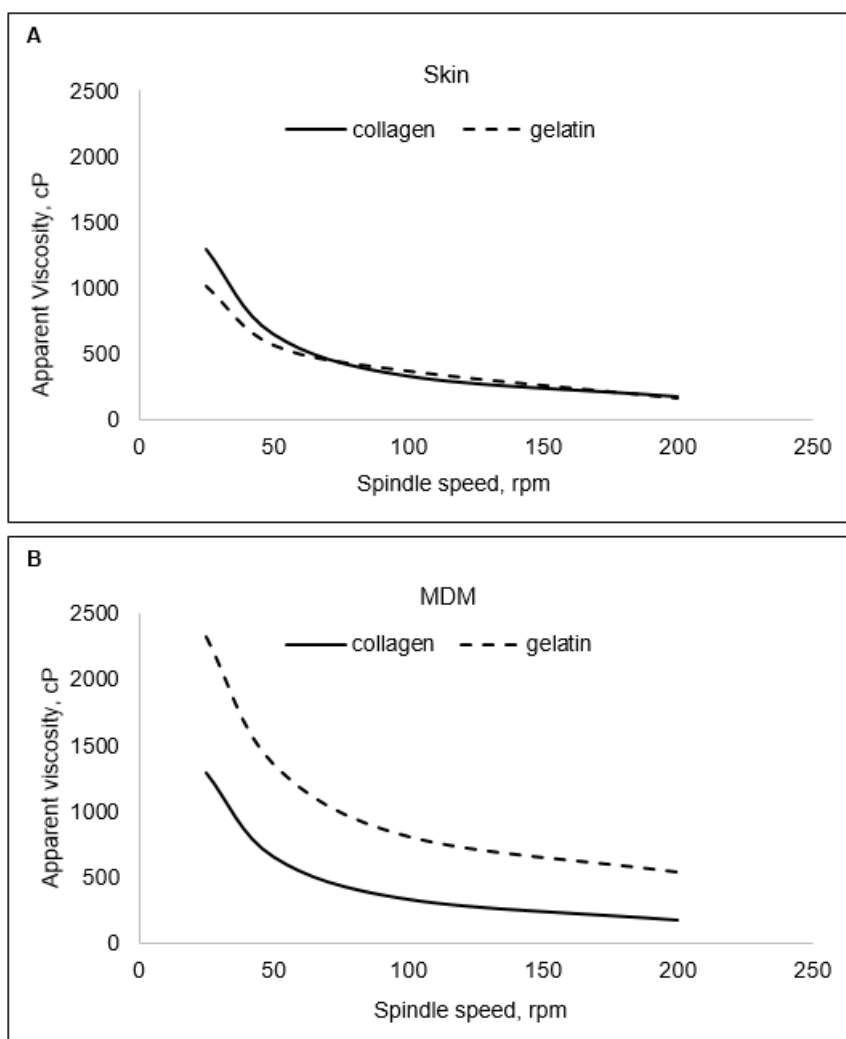


Figure 5. Apparent viscosity of extracted collagen/gelatin varying with spindle speed for the skin sample (A) and the bone mix MDM residue sample (B). Spindle rates were 25, 50, 100 and 200 rpm.

Treatment of protein samples with NaOH during extraction procedure could affect gel strength due to revealing  $\alpha$ -chain subunits with the degradation of the collagen molecule, and thus preventing the formation of

proper helical structures [21]. A low amount of use of NaOH in a limited treatment period could improve gel strength which could be desirable for various applications of the resultant collagen or gelatin product.

Table 3. The hardness of the extracted collagen/gelatin from skin and mixed MDM residue samples

Parameters	Skin		Bone mix MDM residue	
	collagen	gelatin	collagen	gelatin
Hardness (g), 1st cycle	17.25±0.75 <sup>A</sup>	21.75±1.75 <sup>A</sup>	17.00±0.50 <sup>A</sup>	17.75±0.75 <sup>A</sup>
Hardness work done (mJ), 1st cycle	0.91±0.03 <sup>AB</sup>	1.13±0.05 <sup>A</sup>	0.87±0.02 <sup>B</sup>	0.94±0.06 <sup>AB</sup>
Hardness (g), 2nd cycle	17.00±0.00 <sup>B</sup>	21.5±0.50 <sup>A</sup>	16.50±0.00 <sup>B</sup>	17.25±0.75 <sup>B</sup>
Hardness work done (mJ), 2nd cycle	0.81±0.04 <sup>B</sup>	1.03±0.04 <sup>A</sup>	0.65±0.04 <sup>B</sup>	0.82±0.00 <sup>B</sup>

Different letters in the same row represent significant difference ( $p < 0.05$ )

## CONCLUSION

The need for collagen and gelatin to be used in food and non-food applications is increasing day by day worldwide. On the other hand, due to insufficient available resources, there are strong efforts in securing of the sustainable alternatives and optimization of production conditions based on raw material sources. A quite high amount of poultry processing by-products and

wastes are formed annually in the world. Processing of these by-products/wastes is important for the production of high value-added alternative products, beneficial for the economy and required for preventing environmental pollution. In this study, skin and bone residues, which are by-products/wastes of poultry processing, were used to extract collagen/gelatin. Our results indicated that they were extracted successfully, especially from the mixed MDM residue, which is the final waste of the

poultry process. Gelatin production with high added value from these wastes has importance in terms of efficient use of resources. It is also necessary to develop recovery methods in which the protein content is best preserved during the separation of irrelevant components and impurities in the pre-treatment and extraction steps involved. Due to its considerable collagen/gelatin content, MDM residue of the bone mixture is technologically suitable for using with alternative purposes because it is produced in large quantities in slaughterhouses and meat processing plants and thus, it can be served as a sustainable resource for industry in different applications.

#### ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to thank Gedik Piliç A.Ş. (Uşak, Turkey) for providing poultry samples used in this study. Special thanks to Dr. Berker Nacak for his valuable help in physicochemical tests.

#### REFERENCES

- [1] Brinckmann, J. (2005). Collagens at a glance. In: Collagen: Primer in structure, processing and assembly. Brinckmann, J., Notbohm, H. and Müller, P.K. (eds) Springer, NY, pp. 1-6.
- [2] Ergel, J., Bachinger, H.P. (2005). Structure, stability and folding of the collagen triple helix. In: Collagen: Primer in structure, processing and assembly. Brinckmann, J., Notbohm, H. and Müller, P.K. (eds) Springer, NY, pp. 23-24.
- [3] Johns, P., Courts, A. (1977). Relationship between Collagen and Gelatin. In: The Science and Technology of Gelatin, Ward AG, Courts A (eds), Academic Press, USA, PP. 138-168.
- [4] Hinterwaldner, R. (1977). Technology of Gelatin Manufacture. In: The Science and Technology of Gelatin, Ward AG, Courts A (eds), Academic Press, USA, pp. 315-361.
- [5] Erge, A. Zorba, Ö. (2016). Jelatin ve fizikokimyasal özellikleri. *Akademik Gıda*, 14(4), 431-440.
- [6] Ersus Bilek, S., Bayram, S.K. (2015). Kolajen hidrolizatının fonksiyonel bir bileşen olarak gıda endüstrisinde kullanılması. *Akademik Gıda*, 13(4), 327-334.
- [7] Ledward, D.A. (2000). Handbook of hydrocolloids, Chapter-4, Edited by G. O. Philips and P. A. Williams. UK. Woodhead Publishing in Food Science and Technology, 450p.
- [8] Boran, G. (2011). Bir gıda katkısı olarak jelatin: yapısı, özellikleri, üretimi, kullanımı ve kalitesi. *Gıda*, 36(2), 97-104.
- [9] Nur Hanani, Z.A., Ross, Y.H., Kerry, J.P. (2014). Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. *International Journal of Biological Macromolecules*, 71, 94-102.
- [10] Duconseille, A., Astruc, T., Quintana, N., Meersman, F., Sante-Lhoutellier, V. (2015). Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. *Food Hydrocolloids*, 43, 360-376.
- [11] Ockerman, H.W., Hansen, C.L. (1988). Animal By-Product Processing. Ellis Horwood Ltd., Chichester England, 366p.
- [12] Petersen, B.R., Yates, J.R. (1977). Gelatin Extraction. United States Patent No:4,064,008.
- [13] Boran, G., Lawless, H.T., Regenstein, J.M. (2010). The effect of extraction conditions on the sensory and instrumental characteristics of fish gelatin gels. *Journal of Food Science*, 75(9), S469-S476.
- [14] Boran, G., Regenstein, J.M. (2009). Optimization of gelatin extraction from silver carp skin. *Journal of Food Science*, 74(8), E432-E441
- [15] Cho, S.H, Jahncke, M.L., Chin, K.B. Eun, J.B. (2006). The effect of processing conditions on the properties of gelatin from skate (*Raja kenoei*) skins. *Food Hydrocolloids*, 20, 810-816.
- [16] Anonymous, (2016). Grand view research, Gelatin market size expected to reach 4.08 billion by 2024. retrieved from <http://www.grandviewresearch.com/press-release/global-gelatin-market>
- [17] Anonim, (2018). <http://insanvehayat.com/9-maddede-turkiyede-jelatin-gercegi>., Erişim Tarihi, 02.04.2021
- [18] Almeida, P.F., Lannes, S.C.D.S. (2013). Extraction and physicochemical characterization of gelatin from chicken by-product. *Journal of Food Process Engineering*, 36(6), 824-833.
- [19] Cansu, Ü., Boran, G. (2015). Optimization of a multi-step procedure for isolation of chicken bone collagen. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(4), 431.
- [20] Arunmozharman, K., Abraham, R., Rao, A., Parthiban, M. (2017). Extraction and molecular characterization of collagen from poultry meat processing by-product (chicken skin). *International Journal Pure Applied Biosciences*, 5(5), 1085-1091.
- [21] Munasinghe, K.A., Schwarz, J. G., Nyame, A.K. (2014). Chicken collagen from law market value by-products as an alternate source. *Journal of Food Processing*, Article ID 298295.
- [22] Erge, A., Zorba, Ö. (2018). Optimization of gelatin extraction from chicken mechanically deboned meat residue using alkaline pre-treatment. *LWT*, 97, 205-212.
- [23] Association of Official American Chemists International (AOAC) (2000). Official Methods of Analysis, 17<sup>th</sup> Edition, William, H. (ed) Washington, DC, USA.
- [24] Association of Official American Chemists International (AOAC) (1990). Official Methods of Analysis, 15<sup>th</sup> Edition, Washington, DC, USA.
- [25] Bradford M.M. (1976). A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- [26] Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- [27] Erge, A. (2016). Tavuk Kesimhane Artıklarından Jelatin Üretim Koşullarının Araştırılması ve Optimizasyonu. Doktora Tezi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bolu, 130s.

- [28] Hou, H., Li, B., Zhao, X., Zhang, Z., Li, P. (2011). Optimization of enzymatic hydrolysis of Alaska pollock frame for preparing protein hydrolysates with low-bitterness. *LWT-Food Science and Technology*, 44(2), 421-428.
- [29] Henry, W.E., Bratzler, L.J., Luecke, R.W., (1963). Physical and chemical relationships of pork carcasses. *Journal of Animal Science*, 22(3), 613-616.
- [30] Ferraro, V., Gaillard-Martinie, B., Sayd, T., Chambon, C., Anton, M., Santé-Lhoutellier, V. (2017). Collagen type I from bovine bone. Effect of animal age, bone anatomy and drying methodology on extraction yield, self-assembly, thermal behaviour and electrokinetic potential. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 55-66.
- [31] Zhang, Z., Guoying, L., Bi Shi, S., (2006). Physicochemical properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate derived from bovine limed split wastes. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 90, 23-27.
- [32] Bigi, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Rubini, K., Roveri, N. (2001). Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking. *Biomaterials*, 22(8), 763-768.
- [33] Li, Y., Qiao, C., Shi, L., Jiang, Q., Li, T. (2014). Viscosity of collagen solutions: influence of concentration, temperature, adsorption, and role of intermolecular interactions. *Journal of Macromolecular Science, Part B*, 53(5), 893-901.
- [34] Yang, H., Duan, L., Li, Q., Tian, Z., Li, G. (2018). Experimental and modeling investigation on the rheological behavior of collagen solution as a function of acetic acid concentration. *Journal of The Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 77, 125-134.
- [35] Sanaei, A.V., Mahmoodani, F., See, S. F., Yusop, S. M., Babji, A.S. (2013). Optimization of gelatin extraction and physico-chemical properties of catfish (*Clarias gariepinus*) bone gelatin. *International Food Research Journal*, 20(1), 423.
-

## Use of Phenolic Profile and Fatty Acid Composition on Chemometric Discrimination of Turkish Virgin Olive Oils with Geographical Indication

Çisil Türkay , Onur Özdicikierler  ✉, Fahri Yemişçioğlu 

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

Received (Geliş Tarihi): 19.03.2021, Accepted (Kabul Tarihi): 28.05.2021

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [onur.ozdikierler@ege.edu.tr](mailto:onur.ozdikierler@ege.edu.tr) (O. Özdicikierler)

☎ +90 232 311 3001/3009 📠 +90 232 311 4831

### ABSTRACT

A geographical indication (GI) of virgin olive oil (VOO) certifies the origin and production methodology within a determinative quality aspect. On the other hand, from the consumer perspective, VOO's with GI are expected to show a difference from other VOO's, even though it is not an official obligation. In this study, samples from seven different Turkish VOO's with GI were evaluated and possible discrimination among them was determined and justified using principal component analysis (PCA). Results revealed that saturated fatty acid (SAFA) content was a key factor for Nizip samples to discriminate from VOO's with GI. Samples of Southern Aegean (Güney Ege) and Ayvalık had the highest amount of secoiridoids content. When phenolic profile was considered alone, Mut and Nizip samples were clearly separated while groupings among other samples were somehow overlapped. PCA using fatty acid composition revealed that Nizip and Güney Ege samples were located on different sides of the score plot. Regional distances among sample sets greatly affected the discrimination of the PCA plot when their fatty acid composition was involved.

**Keywords:** Virgin olive oil, Geographical indication, Phenolic compounds, Fatty acid composition, Principal component analysis, Chemometric

### Coğrafi İşaretli Türk Zeytinyağlarının Kemometrik Ayırımında Fenolik Profil ve Yağ Asidi Kompozisyonunun Kullanımı

#### ÖZ

Coğrafi işaret (Cİ), zeytinyağlarında menşei ve üretim metodolojisini belirli bir kalite kapsamı içinde onaylayan bir araçtır. Öte yandan, tüketici açısından bakıldığında, bir Cİ'li zeytinyağının Cİ olmayan zeytinyağı örneklerinden veya Cİ'li diğer zeytinyağlarından farklılık göstermesi beklenmektedir, ancak bu Cİ sertifikasyonu için gerekli bir resmi zorunluluk değildir. Bu çalışmada, Cİ'li yedi farklı Türk Zeytinyağından alınan numuneler değerlendirilmiş ve bunlar arasındaki olası farklılıklar, temel bileşen analizi (PCA) kullanılarak belirlenmiş ve yorumlanmıştır. Sonuçlar, doymuş yağ asidi içeriğinin (SAFA), Nizip örneklerinin diğer zeytinyağlarından ayırt edilmesinde önemli bir faktör olduğunu ortaya koymuştur. Güney Ege ve Ayvalık örneklerinin en yüksek sekoiridoid içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yalnızca fenolik profil ile gerçekleştirilen temel bileşen analizinde (TBA), Mut ve Nizip numuneleri net bir şekilde diğer örnek gruplarından ayrılmışken, diğer örnek grupları örtüşmektedir. Yağ asidi bileşimi ile gerçekleştirilen TBA, Nizip ve Güney Ege örneklerinin skor grafiğinin farklı taraflarında bulunduğunu ortaya çıkarmıştır. Örnek grupları arasındaki

bölgesel mesafelerin, yağ asit kompozisyonu söz konusu olduğunda PCA'nın ayırt edici sonuçlar vermesinde büyük rol oynadığı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Zeytinyağı, Coğrafi işaret, Fenolik profili, Yağ asidi kompozisyonu, Temel bileşen analizi, Kemometri

## INTRODUCTION

Olive (*Olea europaea L.*) belongs to the *Oleaceae* plant family and it is an olive fruit that is an evergreen tree [1, 2]. Virgin olive oil (VOO) is defined as the oil of the olive fruit produced from the fruit of this tree by mechanical methods without any purification [3, 4]. Through centuries, olive oil has been an important part of Mediterranean cuisine as an icon representing the healthy diet, therefore the consumer demand has been increasing in parallel to its worldwide popularity [5, 6].

Most of the VOO content is triacylglycerol esterified with fatty acids, which are the major component (> 95%), and the remaining of this content consists of minor components, such as tocopherols, phenols, sterols, hydrocarbons, and volatile compounds [7-9]. The chemical and sensorial properties of VOO's fluctuate within limits since VOO's do not have a fixed chemical profile. The differences may derive from genetic, agronomic, and environmental factors such as olive variety, growing area, soil, age of trees, maturity index during harvest, pre-processing and post-processing strategies of VOO production [10]. The difference in variety that affects the main chemical and sensorial properties of VOO such as phenolic profile, fatty acid composition, sterol composition, cause significant differentiation between VOO's [11]. The precipitation or irrigation practices of the geographical region where olives are grown, as well as factors such as soil condition, altitude, and climate characteristics, create differences in the chemical composition of VOO. Even VOO's belonging to the same olive variety but grown in different regions were examined, a difference was observed in the sterol, phenolic, and volatile components [12-15].

To meet consumers' demands for originality and quality, producers tend to certify their VOO's based on geographical origin [16]. The geographical indication (GI) is a sign used on goods that have a specific geographical origin and possess qualities or a reputation that are due to that origin. Besides, geographical indication for VOO not only a useful tool to certify the origin to preserve the interests of rural producers but also helps to protect consumers and producers from economic frauds [17]. In addition, it has a role as a guide to express the identical standards of VOO with GI and support the development of the product quality from the perspective of producers and consumers [18]. Turkish Patent and Trademark Office and European Commission enforce three types of certification labels

for geographical indication (GI): protected designation of origin (PDO) and protected geographical indication (PGI). Besides, they may be certified as a traditional specialty guaranteed (TSG) product. For VOO's, PDO or PGI certifications are used in Turkey and European Union. Turkey has 10 different VOO with GI namely; "Ayvalık Zeytinyağı", "Edremit Zeytinyağı", "Güney Ege Zeytinyağı", "Kuzey Ege Zeytinyağı", "Milas Zeytinyağı" and "Mut Zeytinyağı", "Nizip Zeytinyağı", "Aydın Memecik Zeytinyağı", "Ödemiş Çekişte Zeytinyağı" and "Burhaniye Zeytinyağı" but only "Milas Zeytinyağı" was registered also the eAmbrosia EU GI registration system [19, 20]. The geographical regions determined for Turkish VOO's with GI are somehow close or overlapping in some places. Moreover, for some VOO's with GI is being produced using same variety, for instance, Ayvalık variety is main variety for Ayvalık Zeytinyağı", "Edremit Zeytinyağı" and "Kuzey Ege Zeytinyağı" while Memecik variety is used for "Güney Ege Zeytinyağı" and "Milas Zeytinyağı". In addition, VOO's with GI not necessarily be monovarietal olive oils, such as Mut VOO's which can be produced using both Gemlik or Ayvalık varieties. Also for most of the GI accepts extraction of VOO using different producing methods such as pressing or decantation. Moreover, not only extra virgin olive oil (EVOO), but also ordinary VOO's may be certified for same certain GI's [20]. Therefore, the variation in chemical composition emerged from diversity of variety, VOO extraction techniques and quality criterias make difficult to a reveal the difference in chemical composition of one VOO with GI to another in many cases. Moreover, there is not a study in the literature about the evaluation of possible differences in minor compositions of VOO's by taking GI difference as a factor.

Minor characteristics of VOO can be identified through several parameters such as fatty acid composition, phenolic profile, sterol composition, tocopherol composition. In general, chemometric techniques were used to determine possible classifications among VOO sample groups since the difference in multiple variables might be responsible for discrimination. For instance, chemometric techniques were found useful to differentiate EVOO samples according to their geographical origins or variety [14, 21-25].

In this study, seven Turkish VOO's with the geographical indication were studied. General quality characteristics such as free fatty acids (FFA), peroxide value (PV), p-anisidine value (p-anV), and specific absorption values (K232 and K270) were determined. Possible

discriminations among VOO samples were evaluated using Principal component analysis of fatty acid composition (%) and phenolic profile (mg/kg) of VOO samples. Moreover, total monounsaturated fatty acid (MUFA), total polyunsaturated fatty acid (PUFA) and total saturated fatty acid (SAFA) contents were calculated according to fatty acid composition. Total secoiridoids (in mg/kg) were calculated according to identified secoiridoid peaks of the sample phenolic profile. MUFA, SAFA, PUFA, and total secoiridoids were also used in PCA.

## MATERIALS and METHODS

### Materials

Seven different and 5-6 samples from each Turkish VOO's with GI as "Ayvalık Zeytinyağı" (VOO's with GI of Ayvalık region supplied from Ayvalık Chamber of Commerce), "Edremit Zeytinyağı" (VOO's with GI of Edremit region supplied from Edremit Chamber of Commerce), "Güney Ege Zeytinyağı", "Kuzey Ege Zeytinyağı" (VOO's with GI of South Aegean and North Aegean regions supplied from from Taris Olive and Olive Oil Agricultural Sales Cooperatives Union), "Milas Zeytinyağı" (VOO's with GI of Milas region supplied from Milas Chamber of Commerce and Industry), "Mut Zeytinyağı" (VOO's with GI of Mut region supplied from Mut Chamber of Commerce and Industry) and "Nizip Zeytinyağı" (VOO's with GI of Nizip region supplied from Nizip Chamber of Commerce) samples were requested and supplied. Since sample grouping factor is only GI in our study, additional differences emerged from side factors such as varietal and methodological variations are expected. All VOO samples with GI denoted with its regional name as Ayvalık, Edremit, Güney Ege, Kuzey Ege, Milas, Mut and Nizip in the text. The VOO samples were filtrated and filled into glass amber bottles. The headspace was stripped with a gentle stream of nitrogen prior to closing the lids. Samples were kept in in the freezer at -24°C until analyses.

### Determination of Quality Characteristics

#### Free fatty acid content (FFA)

The samples were dissolved in diethyl ether and ethanolic solvent and the free fatty acids transferred to the solvent medium were titrated with ethanolic potassium hydroxide solution. The content of free fatty acids according to method COI/T.20/Doc. No 33/Rev.1. and expressed as the free fatty acid percent (%) in oleic acid [26].

#### Peroxide Value (PV)

The peroxide values (PV) of the samples were determined according to the method (PV), COI / T.20 / Doc. No 35 / Rev.1. Samples were dissolved in acetic

acid and chloroform and potassium iodide solution was added on them. Released iodine was titrated with sodium thiosulfate solution and results represented as milli-equivalent of active oxygen per kilogram [27].

#### p-Anisidine Value (p-anV)

The p-anisidine value was determined according to the AOCS-Cd-18 90 method. Briefly, isooctane was added to the samples and 5 mL of this solution was transferred to a separate glass tube prior to p-anisidine reactant was added. The absorbance of the sample solutions at 350nm measured against the isooctane and the p-anisidine values were calculated. Results were presented as mmol/kg oil [28].

#### Total Oxidation Value (TOTOX)

TOTOX measures oil deterioration and was calculated from the formula:  $TOTOX = 2PV + p-anV$  [28].

#### Specific Absorptions at Ultraviolet Light

According to COI / T.20 / Doc. No 19 / Rev.5. samples were dissolved in cyclohexane at a concentration of 1% (w / v) and the specific absorption of the samples; It was measured in a 10 mm cell, at 232 and 270 nm wavelengths using UV-vis spectrophotometer (Optizen POP spectrometer, K-Lab, South Korea) [29].

#### Determination of Fatty Acid Composition

The fatty acid composition of the samples was determined according to the method given in Turkish Food Codex statement number 29181 [30]. 1 g of sample was weighed and mixed with 2 mL of heptane. 0.2 mL of methanolic potassium hydroxide solution was added to this mixture. The supernatant containing the methyl esters was transferred to vials for gas chromatography (GC) injection. The GC oven temperature was kept at the initial temperature of 165°C and then increased to 200°C. The injection block temperature was set to 250°C while the detector temperature was set to 280°C. The flow rate of the carrier gas was 1.2 mL/min and 1 µL of the sample was injected. After all the peaks were obtained and identified, the peak areas were presented as percentages.

#### Determination of Phenolic Profile

According to COI/T.20/Doc. No 29/Rev.1method, minor polar phenolic compounds were extracted and their quantities were determined by high-pressure liquid chromatography (HPLC) [31]. HPLC (Agilent 1260 model infinity II, USA) was equipped with a Spherisorb ODS-2 C18 reverse-phase column (4.6 mm x 25 cm), 100 Å° spectrophotometric UV detector, and integrator at 280 nm. According to the method, 2 g's of the sample

was weighed into glass tubes and 1 mL internal standard solution was added. After mixing with vortex for 30 seconds, 5 mL of methanol/water 80/20 (v/v) solution was added. The samples were kept in an ultrasonic bath for 15 minutes and centrifuged at 5000 revs/min for 25 minutes. For HPLC, the flow rate of mobile phases; methanol, acetonitrile, and orthophosphoric acid 99.8% (v/v) was 0.8 mL/min with a gradient flow composition. The injection volume was 40 µL and the peak areas were calculated with respect to the area of internal standard peak (syringic acid). The respective response factor (RRF value) was found to be 4.7 (the ratio of the response factor of syringic acid to tyrosol). The amounts of polar phenolic compounds are expressed in mg/kg oil as tyrosol equivalent.

### Statistical Analysis and Chemometric Method

All analyses were duplicated, and measurements were triplicated to ensure the accuracy of the results. ANOVA and Tukey's post-hoc test at a significance level of %5 ( $\alpha=0.05$ ) was applied using IBM SPSS 25 to evaluate differences in quality characteristics of VOO samples with GI. Three different principal component analyses were carried out using Unscrambler X (Camo Analytics, Norway) to visualize possible discriminations among VOO samples with GI. Fatty acid composition and phenolic profile data were mean-centered and randomized, leverage correction method was used for

internal validation. All values were weighted as reciprocal of the standard deviation to eliminate the size difference effect on the results. The singular value decomposition (SVD) algorithm was selected to build the PCA model. No rotation applied. The first two PC's were visualized on two-dimensional biplots to determine the discrimination on the score plots. PCA analysis of the fatty acid composition, phenolic profile, and fatty acid composition + phenolic profile data were presented separately.

### RESULTS and DISCUSSION

The approximate regions of seven different Turkish VOO's with GI used in our study given in Figure 1. Within the process of our work, three new VOO's registered with GI by the Turkish Patent and Trademark Office, namely "Ödemiş Çekişte Zeytinyağı" (Ödemiş Çekişte VOO), "Aydın Memecik Zeytinyağı" (Aydın Memecik VOO) and "Burhaniye Zeytinyağı" (Burhaniye VOO) but not took a part in our study. Slight overlaps or close regions for Edremit Zeytinyağı, Ayvalık Zeytinyağı and Kuzey Ege Zeytinyağı in the northern Aegean region and Güney Ege Zeytinyağı and Milas Zeytinyağı may be mentioned. Since minor characteristics such as phenolic profile and fatty acid composition are generally affected by region and variety, among these samples tough discrimination may be expected at multivariate analysis.



Figure 1. The map of approximate geographical regions of Turkish virgin olive oils with geographical identification used in our study as declared official dossiers, coloring was matched with principal component analysis score plot groupings (Maps image of Turkey was used courtesy of Google LLC).

Table 1. Quality characteristics of virgin olive oils with geographical identification

Virgin olive oils with geographical identification	Free fatty acid content (% oleic acid) (P=0.076)	Peroxide value (meq O <sub>2</sub> /kg) (P =0.641)	p-anisidine value (mmol/kg) (P <0.000)	Total oxidation value (P =0.024)	K232 (P <0.000)	K270 (P <0.000)
Ayvalık	0.19 (0.09)	10.65 (4.65)	17.54 <sup>ab</sup> (1.07)	38.84 <sup>ab</sup> (9.61)	1.566 <sup>a</sup> (0.260)	0.098 <sup>a</sup> (0.013)
Edremit	0.42 (0.20)	9.32 (4.08)	15.18 <sup>a</sup> (5.36)	33.82 <sup>ab</sup> (8.82)	2.017 <sup>bc</sup> (0.093)	0.106 <sup>ab</sup> (0.011)
Güney Ege	0.52 (0.29)	9.43 (3.12)	13.38 <sup>a</sup> (4.71)	32.24 <sup>ab</sup> (7.44)	1.889 <sup>b</sup> (0.181)	0.134 <sup>b</sup> (0.017)
Kuzey Ege	0.48 (0.20)	8.74 (2.47)	11.64 <sup>a</sup> (2.67)	29.11 <sup>a</sup> (5.08)	1.825 <sup>ab</sup> (0.195)	0.089 <sup>a</sup> (0.010)
Milas	0.35 (0.41)	10.98 (5.87)	15.99 <sup>a</sup> (7.92)	37.95 <sup>ab</sup> (8.27)	2.188 <sup>c</sup> (0.287)	0.133 <sup>b</sup> (0.051)
Mut	0.43 (0.12)	12.98 (9.08)	13.10 <sup>a</sup> (2.17)	39.06 <sup>ab</sup> (17.73)	1.803 <sup>ab</sup> (0.130)	0.093 <sup>a</sup> (0.017)
Nizip	0.43 (0.23)	11.10 (5.18)	22.66 <sup>b</sup> (5.29)	44.86 <sup>b</sup> (10.62)	1.771 <sup>ab</sup> (0.136)	0.117 <sup>ab</sup> (0.018)

The mean values were given with standard deviation (in parenthesis). Letters indicate the statistical grouping according to Tukey's post-hoc test along with columns. Significance (P) values of ANOVA for each variable were presented in the first row within parenthesis.

FFA content is an indication for hydrolysis reaction in oils, and during the progress of hydrolysis reaction, FFA content increases while quality decreases. According to the FFA contents given in Table 1, there was no statistical difference between samples (P=0.076). FFA values varied between 0.19 and 0.52. The PV and p-anV are quality parameters that express the oxidation degree while providing information about the oxidative deterioration and approximate storage time of the oil. According to the PV's, there was no statistical difference between samples, and the values varied between 9.74 and 12.98 (P=0.641). Worth to mention that the standard deviation is an expression of the variation in a value between different VOO samples with same GI. Therefore, if standard deviation is relatively high, the variation in that particular quality aspect is high between different VOO's produced within that geographical region. For instance, notable high standard deviations in PV implies that different VOO's with same GI has different oxidation reaction degrees. This may be emerged from variability in process methods practiced by VOO producers in that geographical region.

No statistical difference is observed between p-anV of Ayvalık, Edremit, Güney Ege, Kuzey Ege, Milas, Mut samples while p-anV of Nizip (22.661) was statistically higher than the others. TOTOX values of Ayvalık, Edremit, Güney Ege, Kuzey Ege, Milas, Mut VOO's showed no statistical difference. Specific absorption values are an indicator of the quality changes that may occur during the storage and processing stages of VOO. In general, specific absorption at 232 nm increases with diene conjugation and primary oxidation products, while absorption at 270 nm increases with triene conjugation and secondary oxidation products. K232 values of Ayvalık, Kuzey Ege, Mut, Nizip VOO's showed no statistical difference while K232 values of Edremit, Güney Ege, Kuzey Ege, Mut, Nizip VOO's were assigned in a different statistical group. Similar statistical Tukey groupings may be observed for K270 values.

Phenolic profile was identified by matching respective retention times with the standard IOC method and standardized chromatograms of a previous study [32].

Unidentified peaks did not included in the chemometric analysis. A sample RP-HPLC chromatogram can be seen in Figure 2 acquired in our study. From simple phenols, 3,4-DHPEA (tyrosol), p-HPEA (hydroxytyrosol), and p-coumaric acid were quantified. Pinoreosinol was only lignan and 3,4-DHPEA-EDA (oleacein), p-HPEA-EDA (oleocanthal), 3,4-DHPEA-EA (oleuropein aglycone monoaldehyde), and p-HPEA-EA (lignostride aglycone monoaldehyde) were determined as VOO secoiridoids as given in Table 2. Different phenolic compounds were identified in different studies with Turkish VOO's in the literature. According to a previous study, p-coumaric acid content of commercial VOO's from the Aegean region ranged between 0.10-0.69 mg/kg while samples obtained from the Çanakkale region and same season contain between 2.0-4.3 mg/kg p-coumaric acid. Pinoreosinol, which is a characteristic lignan in VOO's as reported in many studies, was not reported in some studies about the phenolic profile of VOO's [7]. This may be justified with two possible reasons. First; minor uncertainties in the chromatogram may be caused by some misidentifications. Second, the seasonal, regional, and varietal changes are greatly affective on the phenolic profile as suggested by Alkan et al. [13].

Amounts of 3,4-DHPEA in VOO samples with GI varied between 6.2 and 2.4 mg/kg. Güney Ege samples contained the highest p-HPEA value (6.9 mg/kg). p-coumaric acid varied between 0.5 and 4.8 mg/kg in our samples and Kuzey Ege samples have the highest p-coumaric acid content (4.8 mg/kg). Güney Ege samples contained the highest (83.9 mg/kg) pinoreosinol content. Amounts of 3,4-DHPEA-EDA were between 15.5 and 66.6 mg/kg, Ayvalık samples were richest in 3,4-DHPEA-EDA content. 3,4-DHPEA-EA was between 13.9 and 31.9 mg/kg in VOO samples. The amounts of p-HPEA-EA varied between 2.8 and 7.7 mg/kg. When the total amount of secoiridoids was considered, Ayvalık samples contain 111.4 mg/kg of secoiridoids while Kuzey Ege samples contained 38.6 mg/kg.



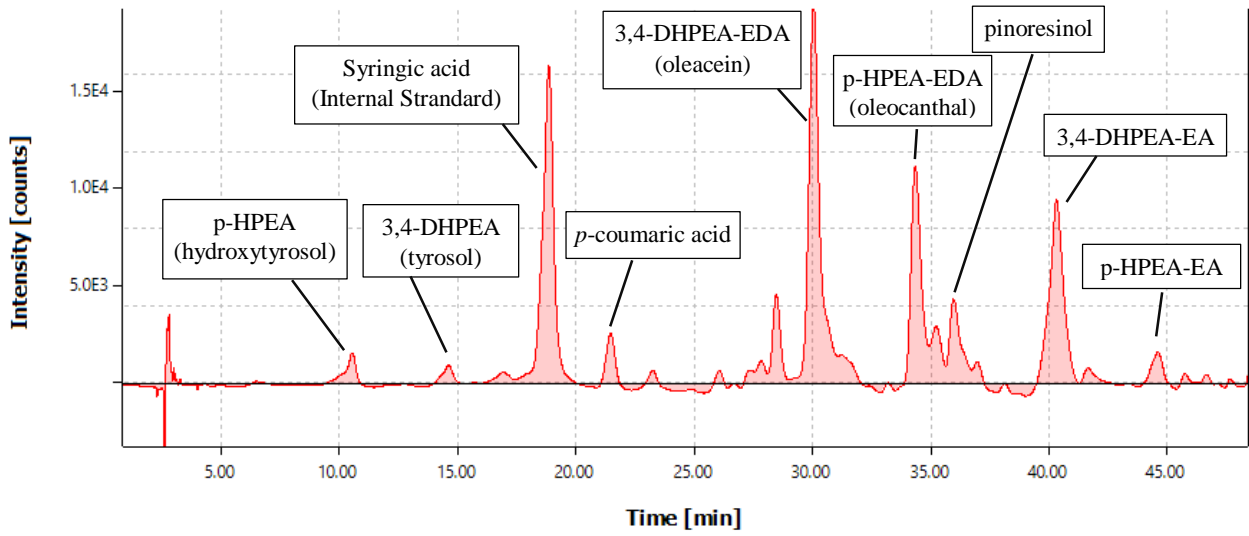


Figure 2. A sample chromatogram for phenolic profile of Edremit Zeytinyağı sample. 3,4-DHPEA-EA: oleuropein aglycone monoaldehyde, p-HPEA-EA: lignostride aglycone monoaldehyde

Table 2. Phenolic profile of Turkish virgin olive oils with geographical identification

Turkish virgin olive oils with geographical identification *								
	Phenolics (mg/kg)	Ayvalık	Edremit	Güney Ege	Kuzey Ege	Milas	Mut	Nizip
Simple Phenols	3,4-DHPEA (tyrosol)	4.1 (2.5)	2.9 (2.3)	3.4 (1.4)	2.8 (1)	6.2 (3.8)	2.4 (0.4)	3.1 (1)
	p-HPEA (hydroxytyrosol)	2.7 (1.6)	2.8 (2.3)	6.9 (1.3)	4 (0.8)	5 (1.6)	3.3 (0.3)	3.4 (1.4)
	p-coumaric acid	3.9 (1.8)	3.9 (1.3)	2.2 (0.9)	4.8 (2.3)	2.9 (1.7)	0.9 (0)	0.5 (0.5)
Lignan	Pinoresinol	9.2 (4.8)	6.8 (0.7)	8.2 (0.6)	6.4 (2.3)	19.7 (6.1)	9.8 (1.8)	6.4 (2.5)
Secoiridoids	3,4-DHPEA-EDA (oleacein)	66.6 (6.9)	30.2 (12.2)	52.3 (20)	15.5 (4.6)	41.2 (2.1)	19.6 (1)	19 (10.6)
	p-HPEA-EDA (oleocanthal)	39.7 (13.8)	24.9 (5.6)	83.9 (5.2)	25.6 (2.3)	44.4 (17.5)	31.9 (1.6)	39.9 (7)
	3,4-DHPEA-EA (oleuropein aglycone monoaldehyde)	31.9 (6.8)	19.5 (4.5)	21.1 (3.8)	13.9 (3)	18.4 (8.9)	28.6 (1.8)	28 (2.4)
	p-HPEA-EA (lignostride aglycone monoaldehyde)	3.8 (0.7)	3.4 (0.5)	7.1 (1.9)	2.8 (0.5)	3.6 (0.9)	7.7 (0.9)	9.2 (2.9)
	Total secoiridoids	111.4 (16.1)	59.9 (16.6)	94.4 (20.4)	38.6 (8.3)	82.9 (7)	65.7 (2.3)	62.6 (12.5)

\* The mean values were given with standard deviation (in parenthesis).

Table 3. Fatty acid composition of Turkish virgin olive oils with geographical identification

Fatty Acids (%)	Geographical Identification *						
	Ayvalık	Edremit	Güney Ege	Kuzey Ege	Milas	Mut	Nizip
C16:0 (palmitic acid)	14.3 (0.5)	15.5 (0.6)	13.4 (0.4)	13.9 (0.6)	14.6 (0.7)	15.2 (0.7)	15 (0.5)
C16:1 (palmitoleic acid)	0.9 (0.1)	0.9 (0.1)	1 (0)	1 (0.1)	1.3 (0.1)	1.2 (0.2)	1.1 (0.1)
C17:0 (margaric acid)	0.1 (0)	0.1 (0)	0 (0)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.1 (0)
C17:1 (margoleic acid)	0.2 (0)	0.2 (0)	0.1 (0)	0.2 (0)	0.2 (0.1)	0.1 (0.1)	0.2 (0)
C18:0 (stearic acid)	2.6 (0.2)	2.5 (0.1)	2.6 (0.1)	2.6 (0.1)	2.8 (0.2)	2.5 (0.4)	4.1 (0.4)
C18:1 (oleic acid)	70.3 (0.5)	69.5 (0.8)	71.3 (0.7)	70.2 (1.4)	70.1 (2.2)	69.4 (1.5)	68 (1.7)
C18:2 (linoleic acid)	10.1 (0.3)	9.6 (0.3)	10.1 (0.8)	10.4 (0.8)	9.5 (2.1)	9.9 (1.7)	9.7 (1.1)
C20:0 (arachidic acid)	0.4 (0)	0.4 (0)	0.4 (0)	0.4 (0)	0.4 (0)	0.4 (0)	0.6 (0)
C18:3 (linolenic acid)	0.6 (0)	0.6 (0)	0.7 (0)	0.6 (0)	0.7 (0.1)	0.7 (0.1)	0.7 (0)
C20:1 (gadoleic acid)	0.3 (0)	0.3 (0)	0.3 (0.1)	0.3 (0)	0.3 (0)	0.3 (0)	0.3 (0)
C22:0 (behenic acid)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.1 (0.1)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.2 (0)
C24:0 (lignoseriç acid)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.1 (0)	0.1 (0)
Σ MUFA (monounsaturated fatty acids)	71.7 (0.4)	71 (0.8)	73.4 (2.2)	71.7 (1.3)	71.8 (2.3)	71 (1.7)	69.5 (1.6)
Σ PUFA (polyunsaturated fatty acids)	10.7 (0.3)	10.2 (0.3)	10.8 (0.8)	11 (0.8)	10.1 (2.2)	10.6 (1.8)	10.4 (1.1)
Σ SAFA (saturated fatty acids)	17.6 (0.4)	18.8 (0.5)	16.7 (0.4)	17.3 (0.5)	18.1 (0.6)	18.4 (0.6)	20.1 (0.7)

\* The mean values were given with standard deviation (in parenthesis).

The fatty acid composition values of VOO's with GI were given in Table 3. The major fatty acid in VOO is oleic acid (C18:1). According to the results, oleic acid varied between 68% and 71.3% in samples. It has been determined that the oleic acid percentage of Edremit, Nizip, and Mut VOO's is below 70% while the rest of the samples have oleic acid content above 70%. Güney Ege samples had the highest oleic acid content (71.3%). Another major fatty acid is palmitic acid (C16:0) for VOO's. Palmitic acid varied between 13.4% and 15.5% in whole VOO samples. Ayvalık, Edremit, Milas, Mut, Nizip samples contain more than 14% of palmitic acid according to the findings. Stearic acid (C18:0) content, which is another major fatty acid for VOO's varied between 2.5% and 4.1%. Nizip VOO's appear to have the highest stearic acid content (4.1%). When the linoleic acid values were examined, it was found that it varied between 9.5% and 10.4%. SAFA

(C16:0+C17:0+C18:0+C20:0+C22:0+C24:0), MUFA (C16:1+C17:1+C18:1+C20:1), PUFA (C18:2+C18:3) contents of the samples were determined according to the fatty acid compositions. MUFA values varied between 69.5% and 73.4% while SAFA content was between 16.7% and 20.1%. In a previous study; VOO's of Ayvalık variety produced from the north Aegean region were found to contain approximately 2.3% and 4.2% stearic acid (C18:0) likewise in our study [33]. Gurdeniz et al. found that virgin Memecik VOO of the İzmir region had approximately 71.2% oleic acid content which is a similar result to our study [23]. However, in another study about the characterization of the arbequina variety EVOO's grown in the Aegean region, it was indicated that oleic acid content was found to be lower, as 65% [34]. Therefore, not only the geographical region of the VOO but also variety a strong determinative factor for fatty acid composition. On the

other hand, linoleic acid and palmitic acid levels of Nizip Yağlık, Ayvalık, Kilis Yağlık, Halhalı, Karamani varieties from southeastern Anatolia were around 10.90% and

14.56%, respectively, which was similar to our results [35].

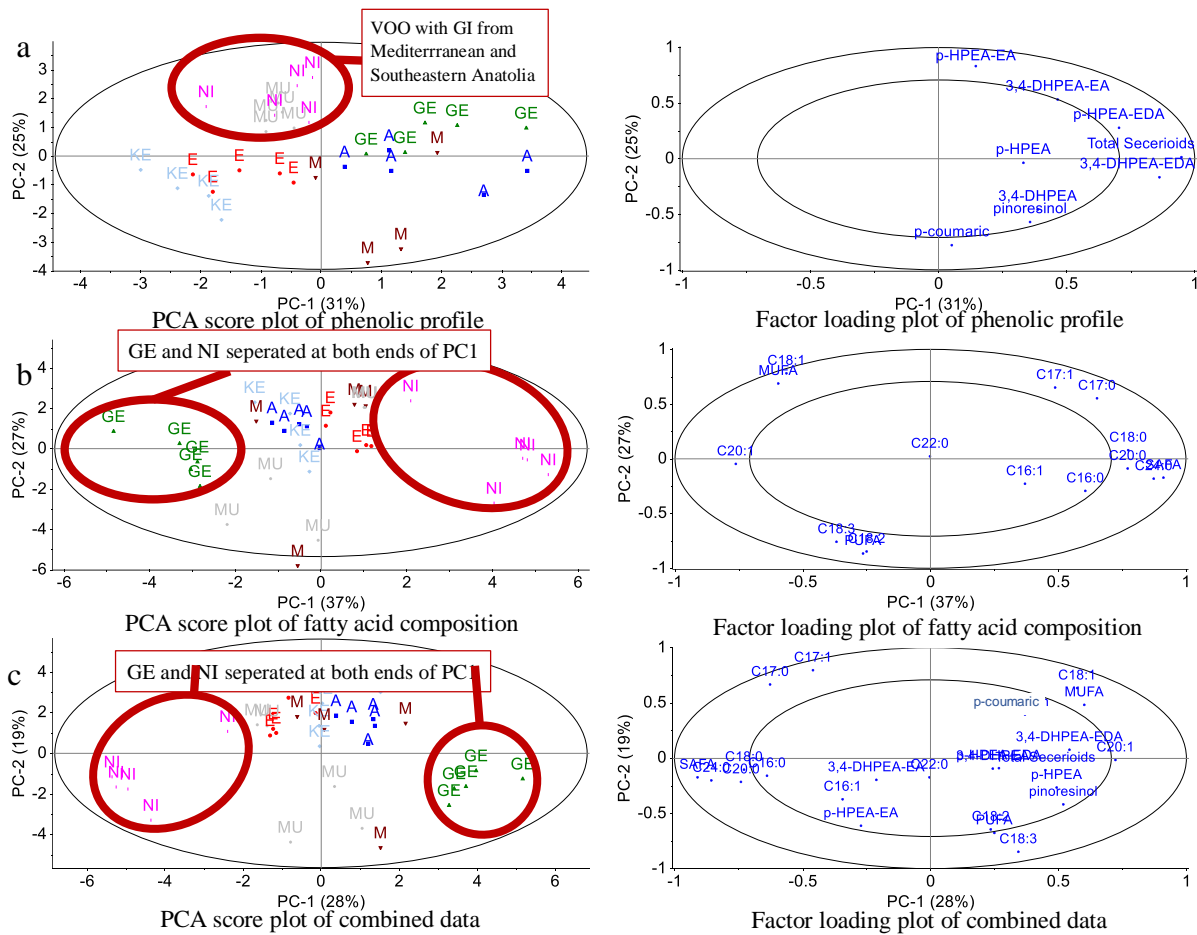


Figure 3. PCA score and loading plots for phenolic profile data (a), fatty acid composition data (b), and phenolic profile + fatty acid composition data combined (c). Ayvalık, Edremit, Güney Ege, Kuzey Ege, Milas Zeytinyağı, Mut and Nizip samples were abbreviated on plots as; A, E, GE, KE, M, MU, NI, respectively.

PCA is a non-biased multivariate analysis, that visualizes discrimination between samples on a reduced factor space. Labeling or coloring sample groups on PCA score plot gives explanative information about possible discrimination between sample groups. Figure 3 represents PCA score and loading plots for phenolic profile data, fatty acid composition, and phenolic profile + fatty acid composition (combined). MU and NI samples separated along PC2 of phenolic profile PCA score plot and located at positive region vertically (Figure 3a). The difference in the geographical region and possible climate conditions may be responsible for this separation from OO samples of the Aegean region. According to the official dossiers, NI was produced from "Nizip Yağlık" olives, while MU was produced from Gemlik and Ayvalık varieties. Therefore, this separation of NI and MU together from other samples, which are generally Ayvalık and Memecik olives, cannot be

justified by varietal difference. According to the absolute loadings of the variables, p-HPEA-EA has 0.8347 on PC2, which implies that p-HPEA-EA was a determinative factor for the separation of the samples along the PC2 axis. According to the Box-plots given in Figure 4b, p-HPEA-EA content of NI, MU, and GE samples were higher than other samples. In addition, the separation of GE and KE samples of phenolic profile PCA can be associated with the varietal and geographical differences in samples. Total secoiridoids, 3,4-DHPEA-EDA, p-HPEA-EDA were the main responsible variables for the separation of the samples along the PC1 axis according to their loadings (0.9485, 0.8632, 0.7044, respectively). Also, total secoiridoids content was low in KE samples but high in A and GE samples as seen in Figure 4. Phenolic composition determined as a discriminative factor for South Aegean and North Aegean VOO's in a previous study [13].

Although a good separation between sample groups was not noted on the score plot of fatty acid composition PCA, a separation between GE and NI samples along the PC1 axis may be observed. Both geographic and varietal differences may be stressed since NI and GE samples were produced from “Nizip Yağlık” and

“Memecik” varieties, respectively. Similar separation and allocation were observed on the score plot of combined data of fatty acid composition and phenolic profile, therefore fatty acid composition was more determinative for PCA separations than phenolic profile alone.

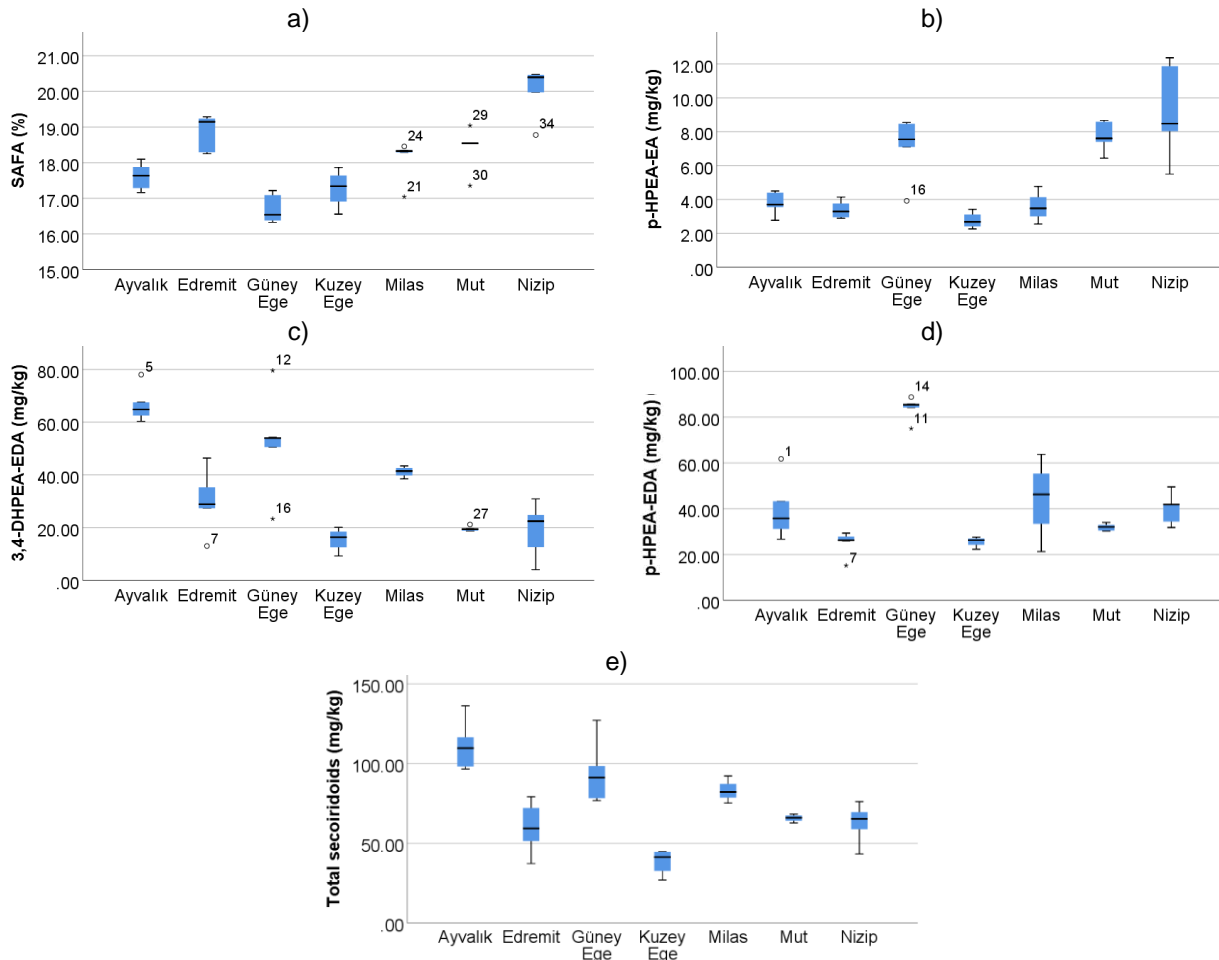


Figure 4. Box-plot graphs of main phenolics and fatty acids responsible discrimination on PCA's. Upper and lower limits of blue boxes represent ranges between first (25<sup>th</sup> percentile) and third (75<sup>th</sup> percentile) quartiles, whiskers represent the minimum and maximum values without outliers, and black lines located inside boxes represent medians. Outliers were presented with sample numbers on plots. SAFA: saturated fatty acids

Figure 4 represents main descriptive statistics such as min-max values, medians, and quartiles for factors most responsible for discriminations between VOO samples with GI according to PCA's. The highest and lowest SAFA content were measured in Nizip and Güney Ege samples respectively. Ayvalık and Güney Ege samples were contained the highest total secoiridoids which is a factor of 3,4-DHPEA-EDA, p-HPEA-EDA, and p-HPEA-EA. In a previous study, the fatty acid composition provided significant information to discriminate Nizip yağlık VOO's and Ayvalık samples using SIMCA, which is a multivariate method using PCA models [21]. In another study, the SIMCA, PLS-DA, and NPLS-DA models were evaluated to discriminate VOO's of

arsequina variety from non-arsequina samples among 64 VOO samples. Researchers indicate that LC-DAD chromatograms provide adequate information for discrimination unless the correct data pre-processing technique was selected [36].

## CONCLUSION

Phenolic profile and fatty acid composition are two factors of minor properties of VOO's. The change in variety and geographical area of the olive are two main factors determinative on the content of the composition of these variables. p-HPEA-EA, p-HPEA-EDA, 3,4-DHPEA-EDA together with the total secoiridoids were

found to be effective factors for sample groupings on PCA score plots when phenolic profile involved. Nevertheless, the fatty acid composition was found more determinant on sample separation on PCA score plots. Higher SAFA contents than 20%, with one exception, in Nizip samples caused a separation from other OO's with GI. Consequently, a good separation was not achieved between Kuzey Ege, Milas, Edremit, and Ayvalık samples when fatty acid composition data involved. However, a tendency for minimal grouping, although not yet certain, maybe noted between all OO samples with GI when phenolic profile data was used alone. This result shows that when it comes to the authenticity of VOO, the profile of other minor constituents than commons such as fatty acid composition may provide more information.

## ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) under the project number of 120O872.

## REFERENCES

- [1] Tsimidou, M.Z., Mastralexi, A., Özdikicierler, O. (2020). Cold pressed virgin olive oils. In *Cold Pressed Oils: Green Technology, Bioactive Compounds, Functionality, and Applications*, 1<sup>st</sup> Edition, (Ed.) M.F. Ramadan, Academic Press, pp. 547-573.
- [2] Vossen, P. (2007). Olive oil: History, production, and characteristics of the world's classic oils. *HortScience*, 42(5), 1093–1100.
- [3] European Commission. (2012). Regulation (EU) No 29/2012 of 13 January 2012 on marketing standards for olive oil (codification). *Official Journal of the European Union*, (12), 14–21.
- [4] Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (2017). Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği. *Türk Gıda Kodeksi*. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/09/20170917-9-1.pdf> (Accessed 3 February 2020)
- [5] Bouarroudj, K., Tamendjari, A., Larbat, R. (2016). Quality, composition and antioxidant activity of Algerian wild olive (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*) oil. *Industrial Crops Products*, 83, 484–491.
- [6] Gökçebağ, M., Dıraman, H., Özdemir, D. (2013). Classification of Turkish monocultivar (Ayvalık and Memecik cv.) Virgin olive oils from north and south zones of Aegean region based on their triacylglycerol profiles. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemist' Society*, 90(11), 1661–1671.
- [7] Arslan, D., Ok, S. (2020). Characterization of Turkish olive oils in details. *Food Reviews International*, 36(2), 168–192.
- [8] Lozano-Sánchez, J., Cerretani, L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Filtration process of extra virgin olive oil: Effect on minor components, oxidative stability and sensorial and physicochemical characteristics. *Trends Food Science & Technology*, 21(4), 201–211.
- [9] Ocakoglu, D., Tokatli, F., Ozen, B., Korel, F. (2009). Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chemistry*, 113(2), 401–410.
- [10] Mele, M.A., Islam, M.Z., Kang, H.M., Giuffrè, A.M. (2018). Pre-and post-harvest factors and their impact on oil composition and quality of olive fruit. *Emirates Journal Food of Agriculture*, 30(7), 592–603.
- [11] Christophoridou, S. (2017). Authentication of olive oil based on minor components. A. Kiritsakis ve F. Shahidi (Ed.), *Olives Olive Oil as Functional Foods*, pp. 555–567.
- [12] Aguilera, M.P., Beltran, G., Sanchez-Villasclaras, S., Uceda, M., Jimenez, A. (2010). Kneading olive paste from unripe "Picual" fruits: I. Effect on oil process yield. *Journal of Food Engineering*, 97(4), 533–538.
- [13] Alkan, D., Tokatli, F., Ozen, B. (2012). Phenolic characterization and geographical classification of commercial extra virgin olive oils produced in Turkey. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemist' Society*, 89(2), 261–268.
- [14] Gómez-Caravaca, A.M., Maggio, R.M., Cerretani, L. (2016). Chemometric applications to assess quality and critical parameters of virgin and extra-virgin olive oil. A review. *Analytica Chimica Acta*, 913, 1–21.
- [15] Ün, İ., Ok, S. (2018). Analysis of olive oil for authentication and shelf life determination. *Journal of Food Science and Technology*, 55(7), 2476–2487.
- [16] Maléchaux, A., Le Dréau, Y., Vanloot, P., Artaud, J., Dupuy, N. (2019). Discrimination of extra virgin olive oils from five French cultivars: En route to a control chart approach. *Food Control*, 106, 106691.
- [17] Likudis, Z. (2016). Olive oils with protected designation of origin (PDO) and protected geographical indication (PGI). D. Boskou ve M. L. Clodoveo (Ed.), *Prod. From Olive Tree*, pp. 175–190. IntechOpen. Web site. <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>
- [18] Crizel, R.L., Hoffmann, J.F., Zandoná, G.P., Lobo, P.M.S., Jorge, R.O., Chaves, F.C. (2020). Characterization of extra virgin olive oil from Southern Brazil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122(4), 1900347.
- [19] European Commission. (2020). eAmbrosia – the EU geographical indications register. web site <https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/food-safety-andquality/certification/quality->

- labels/geographical-indications-register/ (Accessed: 8 April 2020).
- [20] Turkish Patent and Trademark Office (2021). Turkish products with geographical indication. *Digit. GI Platf. Turkey*. (Accessed: 13 March 2021) <https://www.ci.gov.tr/> (Accessed: 13 March 2021)
- [21] Diraman, H., Saygi, H., Hışıl, Y. (2011). Geographical classification of Turkish virgin olive oils from the Aegean Region for two harvest years based on their fatty acid profiles. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemist' Society*, 88(12), 1905–1915.
- [22] Diraman, H., Saygi, H., Hisil, Y. (2011). Classification of three Turkish olive cultivars from Aegean region based on their fatty acid composition, *European Food Research Technology*, 233, 403–411.
- [23] Gurdeniz, G., Ozen, B., Tokatli, F. (2008). Classification of Turkish olive oils with respect to cultivar, geographic origin and harvest year, using fatty acid profile and mid-IR spectroscopy. *European Food Research and Technology*, 227(4), 1275–1281.
- [24] Kritiotti, A., Menexes, G., Drouza, C. (2018). Chemometric characterization of virgin olive oils of the two major Cypriot cultivars based on their fatty acid composition. *Food Research International*, 103, 426–437.
- [25] Maggio, R.M., Cerretani, L., Chiavaro, E., Kaufman, T.S., Bendini, A. (2010). A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils. *Food Control*, 21(6), 890–895.
- [26] COI/T.20/Doc. No 33/Rev.1 2017 Determination of fatty acid methyl esters by gas chromatography. Retrived from: <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/COI-T.20-Doc.-No-33-Rev.-1-2017.pdf> (Accessed: 27.02.2021).
- [27] COI/T.20/Doc. No 35/Rev.1 2017 Determination of peroxide value. Retrived from: <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/Method-COI-T.20-Doc.-No-35-Rev.-1-2017.pdf> (Accessed: 27.02.2021).
- [28] AOCS Cd 18-90 (2017). Official methods and recommended practices of the American oil chemists' society Method Cd 18-90. In F. Gunstone (Ed.), p-anisidine value (7th Ed). Champaign, IL: AOCS Press, USA.
- [29] COI/T.20/Doc. No 19/Rev.5 (2019). Spectrophotometric investigation in the ultraviolet. Retrived from: <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/Method-COI-T.20-Doc.-No-19-Rev.-5-2019-2.pdf> (Accessed: 27.02.2021)
- [30] TGK (2014). Zeytinyağı Ve Pirina Yağı Analiz Metotları Tebliği, Tebliğ No: 2014/53, T.C Resmî Gazete Sayı: 29181. EK-9
- [31] COI/T.20/Doc. No 29/Rev.1 (2017). Determination of biophenols in olive oils by HPLC. Retrived from: <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/COI-T.20-Doc.-No-29-Rev-1-2017.pdf> (Accessed: 27.02.2021)
- [32] Tasioula-Margari, M., Tsabolatidou, E. (2015). Extraction, separation, and identification of phenolic compounds in virgin olive oil by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Antioxidants*, 4(3), 548–562.
- [33] Üçüncüoğlu, D., Sivri-Özay, D. (2020). Geographical origin impact on volatile composition and some quality parameters of virgin olive oils extracted from the "Ayvalık" variety. *Heliyon*, 6(9), e04919.
- [34] Uluata, S., Altuntaş, Ü., Özçelik, B. (2016). Biochemical characterization of arbequina extra virgin olive oil produced in Turkey. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemist' Society*, 93(5), 617–626.
- [35] Oğraş, Ş.Ş., Kaban, G., Kaya, M. (2016). The effects of geographic region, cultivar and harvest year on fatty acid composition of olive oil. *Journal of Oleo Science*, 65(11), 889–895.
- [36] Jiménez-Carvelo, A.M., Cruz, C.M., Olivieri, A.C., González-Casado, A., Cuadros-Rodríguez, L. (2019). Classification of olive oils according to their cultivars based on second-order data using LC-DAD. *Talanta*, 195, 69–76.

## Potansiyel Ekşi Hamur Starter Kültürü *Weissella cibaria* N9'un Dondurularak Kurutulması için Koruyucu Ajanların Optimizasyonu\*

Latife Betül Gül<sup>1</sup>  , Osman Gül<sup>2</sup> , Enes Dertli<sup>3</sup> , Ahmet Hilmi Çon<sup>4</sup> 

<sup>1</sup>Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Giresun

<sup>2</sup>Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kastamonu

<sup>3</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul

<sup>4</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Samsun

Geliş Tarihi (Received): 30.10.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 12.07.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [latife.betul@giresun.edu.tr](mailto:latife.betul@giresun.edu.tr) (L.B. Gül)

☎ 0 454 310 17 40 📠 0 454 310 17 49

\*Bu makale 1-2 Kasım 2018 tarihleri arasında Roma, İtalya'da düzenlenen "10<sup>th</sup> Probiotics, Prebiotics & New Foods, Nutraceuticals and Botanicals for Nutrition & Human and Microbiota Health" adlı konferansta poster bildiri olarak sunulmuş ve özeti konferans bildirisi özet kitabında basılmış "Storage Stability of Probiotic *Weissella Cibaria* N9 in Freeze-Dried Form" başlıklı bildirinin tam metin halidir.

### ÖZ

Bu çalışmada ekşi hamurdan izole edilmiş ve starter kültür olarak kullanılabilmesi belirlenmiş *Weissella cibaria* N9 suşunun liyofilizasyonu için optimum kriyoprotektan formülasyonunun belirlenmesi, liyofilize kültürün karakterizasyonu ve depolama stabilitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Liyofilizasyon sonrası yüksek canlılık sağlamak için kullanılacak yağsız süt tozu (YST), laktoz ve sükröz'dan oluşan optimum formülasyon Box Behnken tasarımı kullanılarak belirlenmiştir. Optimum kriyoprotektan formülasyonu yüksek canlılık (>%99) için %5.65 YST, %20 laktoz ve %9.38 sükröz şeklinde tanımlanmıştır. Optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak elde edilen liyofilize kültürün nem içeriği,  $a_w$ , camsı geçiş, partikül yüzey özellikleri ve kristal yapı bakımından kabul edilebilir fizikokimyasal özelliklere sahip olduğu gözlenmiştir.  $3.37 \times 10^{-3}$  1/gün inaktivasyon katsayısı ile en yüksek canlılık (9.11 log kob/g) 4°C'de depolama sonunda elde edilmiştir. Sıcaklığa bağlı hızlandırılmış raf ömrü testi sonucu en hızlı canlılık kaybı 70°C'de gözlenmiş olup kriyoprotektan kullanımı termal ölüm oranını azaltmıştır. Kriyoprotektan kullanılarak üretilen kültürün oda sıcaklığında 18 ay saklanabileceği belirlenmiştir. Sonuç olarak, optimum kriyoprotektan formülasyonu *W. cibaria* N9'un liyofilizasyonu ve depolama sırasında hücre canlılığını korumada etkili olduğu, toz materyaller için gerekli özellikleri taşıdığı ve uzun dönem muhafaza için canlılığın yeterli hassasiyette tahmin edilmesinde sıcaklığa bağlı hızlandırılmış raf ömrü testinin faydalı bir teknik olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kriyoprotektan, Liyofilizasyon, *Weissella cibaria*, Depolama stabilitesi, Yanıt yüzey metodu, Optimizasyon

### Optimization of Protective Agents for Freeze-Drying of *Weissella cibaria* N9 as a Potential Starter Culture

#### ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the optimum cryoprotectant formulation for the lyophilization of *Weissella cibaria* N9 strain isolated from sourdough as a potential starter culture, the characterization of lyophilized culture and its storage stability. The optimum formulation of skim milk, lactose and sucrose as protective agents was determined by the Box-Behnken experimental design based on viability after lyophilization. The optimal cryoprotectant formulation

was identified as 5.65% skim milk, 20% lactose and 20% sucrose for maximum cell survival (>99%). Lyophilized culture obtained by the optimum cryoprotectant formulation had acceptable physicochemical properties in terms of moisture and  $a_w$ , glass transition, particle surface properties and crystal structure. The highest viability was observed at 4°C (9.11 log cfu/g) with an inactivation rate of  $3.37 \times 10^{-3} \text{ day}^{-1}$ . The fastest cell reduction was observed at 70°C as the result of an accelerated shelf life storage test, and protective agent effectively decreased thermal death. The culture produced by using cryoprotectant could be stored at room temperature for 18 months. Consequently, this protective agent formulation was an effective in protecting *W. cibaria* N9 viability during lyophilization and storage while lyophilized culture had ideal properties for powder materials, and accelerated shelf life storage test was a useful technique with certain predictability.

**Keywords:** Cryoprotectants, Lyophilization, *Weissella cibaria*, Storage stability, Response surface method, Optimization

## GİRİŞ

Son zamanlarda fırıncılık ürünlerinde tahılların fermantasyonunda ekme mayası kullanımına kıyasla hamurlarda çeşitli avantajlar oluşturmaya nedeniyle ekşi hamur kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır [1]. Ekşi hamur ile ekme hamurunun hazırlanması, hamurların teknolojik özelliklerini iyileştirmekte, ekmeğin besinsel ve duyu özelliklerini geliştirmekte, bakteriyel ve küf bozulmalarını önleme ve bayatlama süresini geciktirme yoluyla raf ömrünü artırmaktadır [2]. Spontan ekşi hamur üretiminde görev alan laktik asit bakterileri ve mayalar hamur ortamına un, hamur ingredientleri ve çevresel kaynaklardan geldiğinden dolayı tipik bir ekşi hamurun mikrobiyal ekosistemi oldukça kompleksdir. Bu ekosistem aynı zamanda fermantasyon süresi ve sıcaklığı, ekşi hamur tazeleme aşamalarının sayısı, tazelemeler arasındaki fermantasyon süresi gibi faktörlerden de etkilenmektedir [3-5]. Bundan dolayı ekşi hamur üretiminde standardizasyon oldukça zordur ve bu durum ürün kalitesinde stabilite ve tekrarlanabilirlik gerektiren gıda endüstrileri için önemli bir dezavantajdır. Bu problemin üstesinden gelebilmek için tanımlanmış tek veya karışık starter kültürlerin kullanımı ile ilgili oldukça fazla çalışma bulunmaktadır [6-8]. Bununla birlikte ekşi hamur üretimi için starter kültür seçiminin yanında seçilen starter kültürlerin uzun süre depolama süresince canlılığının ve aktivitesinin yüksek olması da önemli bir diğer konudur [9]. Mikroorganizmaların canlılığının yüksek olmasını garanti etmek ve depolama boyunca kültürlerin yüksek stabiliteyi sağlamak için farklı koruma yöntemleri kullanılmaktadır [10].

Günümüzde mikrobiyal kültürleri korumada en fazla tercih edilen yöntem dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemidir. Liyofilizasyon işleminde düşük kurutma sıcaklıkları kullanılmasından dolayı daha yüksek canlılık oranı sağlanmakta ve mikroorganizmaların morfolojik ve biyokimyasal özellikleri de daha iyi korunmaktadır [11]. Bununla birlikte biyolojik materyaller dondurarak kurutma sırasında geri dönüşümsüz olarak bazı zararlar görebilmektedir. Dondurma işlemi sırasında, buz kristallerinin oluşumu ve hücre içi tuz konsantrasyonundaki artış, suyun hücreden dışarı sızmasına ve hücre dışı buz kristallerinin oluşmasına/büyümesine neden olmaktadır. Bu durum ozmotik şok olarak adlandırılmakta ve hücre canlılığı kaybının temel nedenini oluşturmaktadır [10, 12]. Hücrelerin donma zararlanması, tür ve suş çeşidi gibi

genetik altyapısına, hücrelerin büyüklüğü, şekli, gelişme fazı, lipid içeriği ve kompozisyonu gibi morfolojik ve fizyolojik özelliklerine, kurutma hızı ve süresi ile kriyoprotektan varlığı gibi kurutma prosesi koşullarına bağlıdır [10, 11, 13]. Dondurma, dondurarak kurutma ve depolama süresince hücre canlılığının ve stabilitesinin korunması için kullanılan en etkili yöntemlerden biri dondurma işlemi öncesi hücre ortamına koruyucu madde (kriyoprotektan) ilave etmektir [14]. Bu maddeler hidrojen bağlarının oluşumu, camsı geçiş sıcaklığının artması ve oksidasyon reaksiyonlarının önlenmesi gibi bir dizi koruyucu mekanizmalar ile hücre canlılığının yüksek olmasını sağlamaktadırlar [15].

Sükroz, laktoz, galaktoz, glukoz, sorbitol, sodyum glutamat, arkorbik asit ve yağsız süt tozu dondurarak kurutma işleminde hücre canlılığının korunması amacıyla en fazla kullanılan kriyoprotektanlardır [11, 13, 16-18]. Bu çalışmada elde edilmesi kolay, nispeten ucuz, tüketimi güvenli ve gıda sanayinde yaygın şekilde kullanılan yağsız süt tozu, sükroz ve laktoz [19] koruyucu madde olarak tercih edilmiştir. Bu koruyucu maddelerin dondurarak kurutmanın farklı aşamalarında farklı koruyucu etkileri bulunmakta ve tek başlarına kullanıldıklarında ortaya çıkan etkiye kıyasla beraber kullanıldıklarından daha yüksek bir etki gözlenmektedir [20]. Dolayısıyla hangi koruyucu maddelerin hangi oranlarda kullanılacağına belirlenmesi önem taşımaktadır. Literatürde farklı laktik asit bakterilerinin kriyoprotektan kullanılarak liyofilizasyonuna yönelik oldukça fazla çalışma bulunmaktadır [10, 15, 21, 22]. Ancak daha önce Dertli ve ark. [1] tarafından geleneksel ekşi hamurdan izole edilerek tanımlanan ve ekşi hamur üretiminde starter kültür olarak kullanıma potansiyeli bulunan *Weissella cibaria* N9 ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada *W. cibaria* N9'un liyofilizasyonunda kullanılacak optimum yağsız süt tozu, laktoz ve sükroz konsantrasyonlarının ve optimum konsantrasyonlar kullanılarak üretilen toz *W. cibaria* N9'nun karakterizasyonu ile depolama stabilitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Çalışmada kullanılan *W. cibaria* N9 izolatu, Dertli ve ark. [1] tarafından geleneksel ekşi hamurdan izole edilerek teknolojik/endüstriyel özelliklerine göre ekşi hamur



starteri olarak önerilmiş olup Bayburt Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilmiştir. Kriyoprotektan olarak kullanılan yağsız süt tozu (YST) Pınar Süt A.Ş. (İzmir, Türkiye), laktoz Sigma–Aldrich (Steinheim, Almanya) ve sükröz Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir

## Metot

### *W. cibaria* N9'un Aktive Edilmesi ve Çoğaltılması

*W. cibaria* N9 steril de Man Ragosa Sharp (MRS) broth (Merck, Darmstadt, Almanya) besiyerinde 30°C'de 12 saat inkübasyona bırakılarak aktive edilmiştir. Daha sonra 2 mL aktive edilmiş genç kültür 8 mL MRS broth besiyerine aktarılmış ve aynı koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrası 100 mL MRS broth besiyerine %5'lik olacak şekilde inokülasyon gerçekleştirilmiş ve çalkalamalı inkübatörde (Lab Companion SIF-500R, Billerica, Güney Kore) 30°C'de 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda bakteri hücrelerini toplamak için 7.500 x g'de 4°C'de 10 dakika santrifüj (Hettich, ROTINA 380R, Almanya) işlemi gerçekleştirilmiş ve elde edilen pellet 10 mL fosfat tamponu kullanılarak yıkanmış, ardından tekrar santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrası elde edilen pellet hücre sayısı ~10 log kob/mL olacak şekilde kriyoprotektan çözeltisi ile süspanse edilmiştir [19, 23].

### Kriyoprotektan Ortamının Hazırlanması ve Liyofilizasyon

Liyofilizasyon ve depolama süresince *W. cibaria* N9'in canlılık ve stabilitesinin korunması amacıyla bu çalışmada kriyoprotektan olarak YST, laktoz ve sükröz kullanılmıştır. Box Behnken dizaynı ile belirlenen konsantrasyonlarda kriyoprotektan çözeltileri hazırlanmış ve sterilizasyon için 110°C'de 10 dakika otoklavlanmıştır. Ardından oda sıcaklığına kadar soğutulan kriyoprotektan çözeltileri daha önce hazırlanan starter kültür ile hücre sayısı ~10 log kob/mL olacak şekilde karıştırılmış ve -86°C'de 5 saat süre ile dondurulmuştur. Donmuş kriyoprotektanlı starter kültürler dondurarak kurutucuda (Christ, Alpha 1-4 LDPlus, Almanya) -55°C'de 0.061 mbar basınç altında yaklaşık 18 saat süresince süblimasyon ve 0.04 mbar basınç altında 2 saat süre ile desorpsiyon koşullarında kurutulmuştur. Benzer şekilde kriyoprotektan içermeyen saf kültür de kontrol grubu olarak kurutulmuştur.

### Hücre Canlılığının Belirlenmesi

Dondurma ve dondurarak kurutma sonrası hücre canlılığı Carvalho ve ark. [24] tarafından rapor edilen yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Steril serum fizyolojik tuzlu su ile orijinal hacmine seyreltilmiş toz kültürden 1 mL alınarak belirlenen dilüsyonlara kadar seyreltilmiştir. Uygun dilüsyonlardan MRS agara (Merck, Darmstadt, Almanya) ekim yapılmış ve 30°C'de 48 saat %5 CO<sub>2</sub> ortamında inkübasyona (Memmert Inc 153, Almanya) bırakılmıştır. Inkübasyon sonrası gelişen koloniler sayılmış ve hücrelerin canlılığı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Canlılık (\%)} = 100 * N/N_0 \quad (1)$$

Burada; N<sub>0</sub> işlem öncesi hücre canlılığını (log kob/g) ve N ise dondurma veya dondurarak kurutma işlemi sonrası hücre canlılığını (log kob/g) ifade etmektedir.

### Liyofilize Tozların Karakterizasyonu

Liyofilizasyon ile elde edilen toz kültürlerin karakterizasyonu amacıyla nem içeriği, su aktivitesi, camsı geçiş sıcaklığı, X ışını kırınımı ve moleküler görüntüleme analizleri gerçekleştirilmiştir. Tozların su aktivitesi Aqua Lab 4TE (FF Instrumentations, Yeni Zelanda) su aktivitesi tayin cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Liyofilize tozlar ölçüm kaplarına aktarılıp ölçüm kapları cihaza yerleştirilmiş ve 20°C'de ölçüm gerçekleştirilmiştir. Örneklerin nem içerikleri, darası alınmış kurutma kabında sabit ağırlığa ulaşılan kadar 105°C'de kurutma yöntemi ile belirlenmiş ve ağırlıkta meydana gelen değişim üzerinden hesaplanmıştır.

Toz örneklerin camsı geçiş sıcaklıkları diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC; Perkin Elmer DSC 30, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, 10 mg örnek alüminyum kaplı DSC kaplarına tartılmış ve boş bir alüminyum DSC kabı referans olacak şekilde azot gazı atmosferinde 10°C/dakika ısıtma hızı ile -30°C ile 200°C arası taranmıştır. Karakteristik camsı geçiş sıcaklığı (T<sub>g</sub>) ASTM Standard Metot E 1356-91'e göre camsı geçiş ile ısı akışının orta noktadaki sıcaklığı olarak alınmıştır [16].

Liyofilize tozların kristal içeriği X ışını kırınımı (XRD) ölçümleri ile Rigaku SmartLab X-ray difraktometre (40 kV, 30 mA) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Tarama işlemi Cu Kβ radyasyonu kullanılarak (40 kV, 30 mA) 5 - 70° (2θ) açıları 2°/dakika hızında gerçekleştirilmiştir.

Liyofilize toz partiküllerinin yüzey özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM, Jeol JSM-7001F, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Ölçüm öncesi tozlar vakum püskürtme kaplayıcı kullanılarak (Quorum SC7620, İngiltere) 20 nm kalınlığında altın ile kaplanmıştır. Görüntüleme yüksek vakum altında 5 ile 15 kV arasında (en iyi görüntü elde etmek için) ve farklı büyütme oranlarında (100, 250, 500 ve 1000X büyütme) gerçekleştirilmiştir.

### Depolama Stabilitesi

Kriyoprotektan kullanılarak liyofilize edilmiş *W. cibaria* N9'nin canlılık değişimi 4 ve 25°C'de 6 ay boyunca gözlenmiştir. Hücre canlılığı depolamanın 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 ve 180. günlerinde analiz gerçekleştirilerek belirlenmiştir. Hücre canlılığı için 0.1 g toz 9.9 mL serum fizyolojik tuzlu su içerisinde süspanse edilmiş ve ardından dilüsyonlar hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan MRS agara ekim yapılarak 30°C'de 48 saat %5 CO<sub>2</sub> ortamında inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrası gelişen koloniler sayılmıştır. Depolama süresince liyofilize *W. cibaria* N9'nin 4 ve 25°C'deki inaktivasyon oran sabiti birinci dereceden reaksiyon kinetiği eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır.

$$k = \ln\left(\frac{N_0}{N}\right)/t \quad (2)$$

Burada;  $N$ , depolama süresince hücre canlılığını (log kob/g);  $N_0$ , depolama başlangıcı hücre canlılığını (log kob/g);  $t$ , depolama süresini (gün) ve  $k$ , inaktivasyon oran sabitini ifade etmektedir.

Ayrıca liyofilize *W. cibaria* N9'nin depolama süresince belirlenen canlılık değişiminin tahmin edilebilmesi ve liyofilize kültürün raf ömrünün tespit edilebilmesi için hızlandırılmış raf ömrü testi uygulanmıştır. Bu amaçla kriyoprotektan ilavesiz kültür 50°C'de 4 saat, 60°C'de 1.5 saat, 70°C'de 0.32 saat ve kriyoprotektan ilaveli liyofilize kültür 50°C'de 48 saat, 60°C'de 8 saat, 70°C'de 0.64 saat inkübasyona bırakılmıştır. Belirtilen süreler sonunda MRS agara ekim yapılarak hücre canlılığı tespit edilmiştir. Depolama öncesi ve 3 farklı sıcaklıkta inkübasyon sonrası tespit edilen canlı hücre sayılarından  $k$  değerleri eşitlik (2)'den yararlanılarak hesaplanmıştır [25, 26]. Kriyoprotektan kullanılarak liyofilize edilen *W. cibaria* N9'nin 4 ve 25°C sıcaklıklardaki  $k$  değerleri ise Arrhenius eşitliğine (Eşitlik 3) göre hesaplanmıştır [26].

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} X_i X_j \quad (4)$$

Burada;  $Y$ , yanıt değişkenini,  $X_i$  ve  $X_j$ , bağımsız değişkenlerin seviyesini,  $\beta_0$ , ikinci dereceden reaksiyon sabitini,  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$  and  $\beta_{ij}$ , bilinmeyen regresyon parametrelerini ifade etmektedir.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

### Kriyoprotektanların Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi

Liyofilizasyon işleminde kriyoprotektan olarak kullanılan YST, laktoz ve sükrozun *W. cibaria* N9'un canlılığı üzerindeki etkilerinin deneysel sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Dondurma ve dondurarak kurutma işlemleri sırasında kriyoprotektan kullanımı hücre canlılığının korunması açısından önemli düzeyde pozitif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Kriyoprotektan kullanılmadan dondurarak kurutulan kültürde yaklaşık 2 log kob canlılık kaybı meydana gelirken dondurarak kurutma işleminde kriyoprotektan kullanımı sonucunda en fazla 0.46 log kob canlılık kaybı (%5 sükroz kullanıldığında) tespit edilmiştir. Dondurma sırasında hücre canlılığı üzerine sadece laktoz etkili bulunurken, dondurarak kurutma sırasında canlılık üzerine laktoz ile sükroz kullanımı önemli etki göstermiştir ( $P < 0.05$ ).

Dondurma işlemi için merkez noktasındaki sükroz (%5) ile YST ve laktoz konsantrasyonlarının fonksiyonu olarak canlılık değişimini veren yanıt yüzey grafiği ve eşyükselti eğrisi Şekil 1-A'de görülmektedir. Laktoz konsantrasyonunun artması dondurma sırasında hücrenin daha iyi korunmasını sağlarken, YST konsantrasyonu %10'un üzerine çıktığında canlılığın kısmen azalmasına neden olmuştur. Buna karşılık, YST kullanımı dondurma işleminde hücre canlılığı üzerine

$$\log k = \log k_0 - (E_a/2.303R)x(1/T) \quad (3)$$

Burada;  $k_0$ , frekans faktörü olarak adlandırılan deneysel sabiti;  $T$ , mutlak sıcaklığı (°C);  $R$ , gaz sabitini (8.32 J/mol.K); ve  $E_a$ , aktivasyon enerjisini ifade etmektedir.

### Deneysel Tasarım

*W. cibaria* N9'nin liyofilizasyonunda optimum kriyoprotektan formülasyonunun belirlenmesi için YST ( $X_1$ ), laktoz ( $X_2$ ) ve sükroz ( $X_3$ ) bağımsız değişkenler olarak seçilmiş olup minimum ve maksimum konsantrasyonları sırasıyla %0-20, %0-20 ve %0-10 aralıklarında seçilmiş ve merkezde 5 tekerrür olacak şekilde 3 seviyeli ve 3 faktörlü Box Behnken dizaynı kullanılarak kriyoprotektan konsantrasyonlarını içeren deneme planı elde edilmiştir. Dizayn, Design Expert® (Stat-Ease, Minneapolis, ABD) (deneme versiyonu) programı ile belirlenmiştir. Dondurma ( $Y_1$ ) ve dondurarak kurutma ( $Y_2$ ) sonrası hücre canlılığı olmak üzere iki bağımlı değişken (yanıt) bulunmaktadır. Deneysel çalışma sonrası, bağımsız değişkenler ve elde edilen yanıtlar arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için ikinci dereceden polinom model denklemi kullanılmıştır.

istatistiksel olarak etkili bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Dondurarak kurutma işlemi sırasında ise hücre canlılığı üzerine laktoz ve sükroz varlığı önemli düzeyde etkili bulunurken ( $P < 0.05$ ), YST varlığının etkisinin sınırlı olduğu görülmektedir ( $P > 0.05$ ). Merkez nokta olarak YST (%10) alındığında laktoz ve sükroz konsantrasyonlarının fonksiyonu olarak canlılık değişimini veren yanıt yüzey grafiği ve eşyükselti eğrisi Şekil 1B'de görülmektedir.

Her iki kriyoprotektanının konsantrasyonlarının artırılması dondurarak kurutma sırasında hücre canlılığının olumlu yönde değişmesini sağlamıştır. Buna karşılık canlılık değişimi üzerine laktozun sükroza göre daha etkili olduğu söylenebilir. Çalışmamıza benzer şekilde, Costa ve ark. [27] tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Pantoea agglomerans* CPA-2'in dondurarak kurutulması sırasında en iyi korumayı şekerlerin sağladığı ve disakkaritlerin kullanımının hücre canlılığını %60'ın üzerinde, monosakkaritlerin ise %30-50 arasında koruduğu rapor edilmiştir. Schwab ve ark. [28] dondurma ve dondurarak kurutma işlemlerinde ortama şeker ilavesinin izotonik çözeltiye kıyasla *L. reuteri* TMW1.106 suşunun korunması üzerine daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada, sükrozun koruyucu etkisinin YST kullanımına göre çok daha iyi olduğu da rapor edilmiştir. Kurutma ortamında bulunan ve hücre duvarına penetre olma, hücre duvarı veya membran ile etkileşime girme yeteneğine sahip olmayan polisakkaritler ve proteinler gibi bazı yüksek moleküler ağırlıklı maddelerin koruyucu etkileri; mikroorganizmaların yüzeylerinde adsorbe olup viskoz bir tabaka oluşturarak suyun hücreden çevreye kısmen uzaklaştırılmasına müsaade etmelerine

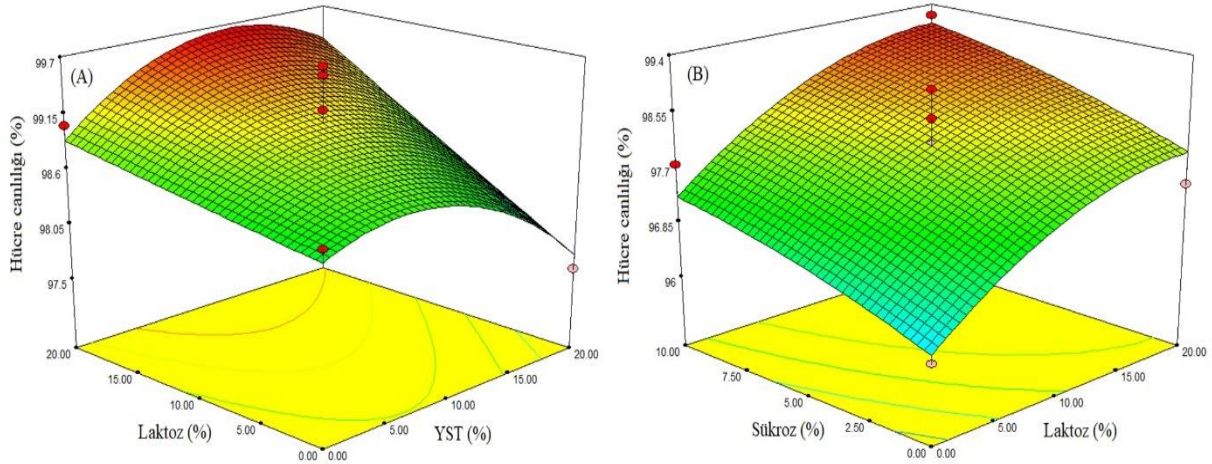
bağlanabilmektedir. Böylece hücrenin yakınındaki amorf buzun yapısı korunmakta, buz kristalinin büyümesi engellenmekte ve sonuç olarak hücre içindeki buz

kristallerinin miktarı azalarak hücre ölümü önlenmektedir [29].

Tablo 1. Box Behnken deneme planı ve elde edilen sonuçlar  
*Table 1. Box Behnken trial plan and results*

Sıra No	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Y <sub>1</sub> (%)	Y <sub>2</sub> (%)
1	-1	0	-1	97.52	95.89
2	1	0	1	97.52	97.52
3	-1	1	0	99.04	98.38
4	0	0	0	99.61	97.90
5	0	0	0	99.52	98.46
6	0	1	1	99.52	99.22
7	1	-1	0	97.59	96.80
8	1	0	-1	99.09	98.45
9	-1	0	1	98.83	97.77
10	0	0	0	99.19	98.89
11	0	0	0	98.61	97.54
12	-1	-1	0	98.61	95.24
13	0	1	-1	98.97	97.45
14	0	-1	1	98.62	97.75
15	0	-1	-1	97.90	96.08
16	1	1	1	99.24	97.99
17	0	0	1	98.67	98.06

X<sub>1</sub>, Yağsız süt tozu (%); X<sub>2</sub>, Laktoz (%); X<sub>3</sub>, Sükroz (%); Y<sub>1</sub>, Dondurma sonrası canlılık (%); Y<sub>2</sub>, Dondurarak kurutma sonrası canlılık (%)



Şekil 1. Farklı kriyoprotektanlar ile birlikte dondurulan (A) ve kurutulan (B) *W. cibaria* N9 kültürünün canlılık düzeyi (%) için yanıt yüzey grafiği ve eşyükselti eğrileri

*Figure 1. Response surface plot and contour lines for viability (%) of W. cibaria N9 culture (A) frozen and (B) dried with different cryoprotectants*

### Optimizasyon ve Model Uygunluğu

Dondurma ve dondurarak kurutma sonrası *W. cibaria* N9'un hücre canlılığı üzerine kriyoprotektanların etkisi ile ilgili ANOVA sonuçları Tablo 2'de verilmiştir. Dondurma ve dondurarak kurutma için quadratik modelde R<sup>2</sup> değeri yüksek (>0.830) bulunmuş olup modelin uygunluğu için R<sup>2</sup> değerinin 0.80'den yüksek olması beklenmektedir [30]. Dondurma ve dondurarak kurutma sonrası hücre canlılıkları (Y<sub>1</sub> ve Y<sub>2</sub>) için model F-değerleri sırası ile 3.78 ve 5.41 olarak belirlenmiş olup bu değerler modelin hücre canlılığı için önemli olduğunu göstermektedir.

Dondurarak kurutulma sonrası *W. cibaria* N9 suşunun canlılık oranının maksimum olması için kullanılacak olan kriyoprotektan formülasyonu ikinci dereceden polinom model kullanılarak optimize edilmiştir. Optimum formülasyon Derringer'in istenirlik fonksiyonuna göre belirlenmiştir. Elde edilen yanıtlar doğrultusunda maksimum istenirlik fonksiyonuna (D=0.972) göre *W. cibaria* N9 suşu için YST %5.65, laktoz %20 ve sükroz %9.38 olarak seçilmiştir.

Tablo 2. *W. cibaria* N9'un farklı kriyoprotektanlar kullanılarak liyofilizasyonu ile elde edilen yanıtlar üzerine lineer, quadratik ve interaksiyonlarının etkisini gösteren ANOVA tablosu  
 Table 2. ANOVA table showing the effect of linear, quadratic and interactions on the responses obtained by lyophilization of *W. cibaria* N9 using different cryoprotectants

Varyans kaynağı	SD	Y <sub>1</sub> (%)			Y <sub>2</sub> (%)		
		Kareler Toplamı	F- değeri	P-değeri	Kareler Toplamı	F- değeri	P-değeri
Model	9	6.42	3.78	0.0466*	16.02	5.41	0.0184*
X <sub>1</sub>	1	0.09	0.2	0.6647	1.51	4.6	0.0691
X <sub>2</sub>	1	2.04	10.83	0.0133*	6.40	19.45	0.0031*
X <sub>3</sub>	1	0.13	0.68	0.4378	2.42	7.34	0.0302*
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	1	0.37	1.97	0.2028	0.95	2.89	0.1331
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	1	2.07	10.99	0.0129*	1.97	5.98	0.0444*
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	1	0.01	0.041	0.8454	0.001	0.001	0.9399
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1	1.07	5.7	0.0483	1.73	5.27	0.0554
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	1	0.01	0.01	0.9772	0.76	2.32	0.1719
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	1	0.59	3.13	0.1201	0.06	0.19	0.6771
Kalıntı	7	1.32			2.30		
M, U*	3	0.45	0.68	0.6065	1.22	1.5	0.3438
Saf Hata	4	0.88			1.09		
Toplam	16	7.74			18.32		

X<sub>1</sub>: Yağsız Süt Tozu (%); X<sub>2</sub>: Laktöz (%); X<sub>3</sub>: Sükroz (%); Y<sub>1</sub>: Dondurma sonrası canlılık (%); Y<sub>2</sub>: Dondurarak kurutma sonrası canlılık (%).

Bağımsız değişkenler olan YST (X<sub>1</sub>), laktöz (X<sub>2</sub>) ve sükroz (X<sub>3</sub>) ile yanıtlar olan dondurma (Y<sub>1</sub>) ve

dondurma sonrası (Y<sub>2</sub>) hücre canlılığı ile ilgili ikinci dereceden polinom eşitlikleri aşağıda verilmiştir.

$$Y_1 = 97.226 + 0.135X_1 + 0.023X_2 + 0.328X_3 + 0.003X_1X_2 - 0.014X_1X_3 - 0.001X_2X_3 - 0.005X_1^2 + 0.001X_2^2 - 0.015X_3^2 \quad (5)$$

$$Y_2 = 93.936 + 0.290X_1 + 0.221X_2 + 0.294X_3 - 0.005X_1X_2 - 0.014X_1X_3 + 0.001X_2X_3 - 0.006X_1^2 - 0.004X_2^2 - 0.005X_3^2 \quad (6)$$

İstatistiksel modelin geçerliliğini tespit etmek için optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak *W. cibaria* N9 suşu liyofilize edilmiş ve dondurma ile dondurarak kurutma sonrası hücre canlılığı belirlenmiştir. Elde edilen deneysel sonuçlar ile optimizasyon çalışmasında tahmin edilen sonuçlar arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır (P>0.05). Dondurma ve dondurarak kurutma için deneysel ve tahmin edilen değerlerden sapma <0.001 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç kriyoprotektan formülasyonunu optimize etmek için kullanılan istatistiksel yöntemin başarılı olduğunu göstermektedir.

### Liyofilize Kültürün Karakterizasyonu

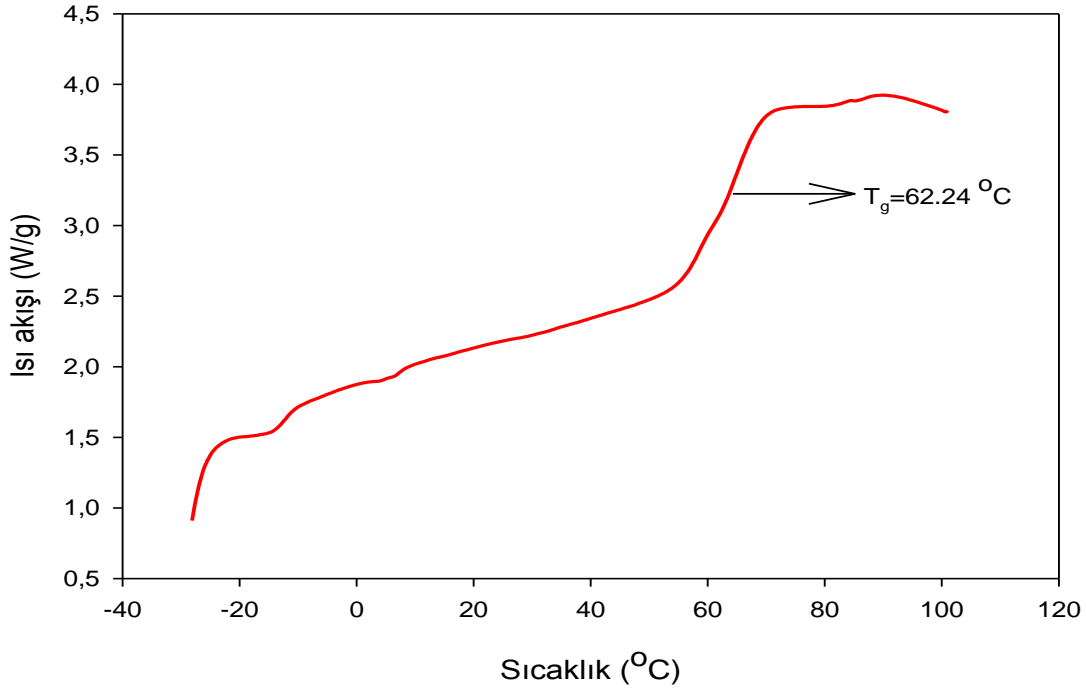
Kurutulmuş kültürler için su aktivitesi ve nem içeriği hücre aktivitesinin ve canlılığının korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca toz formundaki materyallerin nem içerikleri ürün stabilitesi ile aglomerasyon, düşük yapışkanlık ve yüksek akış yeteneği gibi kalite özellikleri açısından da oldukça önemli bir parametredir. Optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak *W. cibaria* N9 suşunun liyofilizasyonu sonucunda elde edilen toz materyalin su aktivitesi 0.114±0.001 ve nem içeriği %3.02±0.08'dir. Bu sonuçlar liyofilize kültürlerin uzun süre depolanması için tavsiye edilen değerlerin (a<sub>w</sub><0.25 ve nem içeriği <%10) [31] altında olup depolama süresince bakteriyel canlılığının ve stabilitesinin korunması için bu seviyelerde kalması gerekmektedir [32]. Tonon ve ark. [33] tavsiye edilen bu değerlerin altında biyokimyasal reaksiyonlar için yeterli serbest suyun bulunmadığını ve bundan dolayı depolama süresince hücre canlılığı ve stabilitesinin korunacağını belirtmişlerdir. Diğer taraftan Li ve ark. [34]

kültürlerin aşırı kurutulması sonucu hücre canlılığı ve stabilitesinin olumsuz etkilenmediğini bildirmişlerdir. Ananta ve ark. [35] tarafından gerçekleştirilen çalışma sonucunda depolama süresince kurutulmuş tozların stabilitesinin iyi olması için ideal nem içeriğinin %4 ile %7 arasında olması gerektiği ve laktöz kristalizasyonu gibi ürün kalitesini olumsuz etkileyen kusurların giderilmesi için de nem içeriğinin düşük olması gerektiği belirtilmiştir.

Optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak elde edilen toz materyalin sıcaklık karşısındaki davranışı diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC) ile belirlenmiş olup DSC termogramı Şekil 2'de verilmiştir. *W. cibaria* N9 suşunun kriyoprotektanlar ile liyofilizasyonu sonucu elde edilen toz kültürün camısı geçiş sıcaklığı 62.24°C olarak belirlenmiştir. Oda sıcaklığının oldukça üstünde belirlenen camısı geçiş sıcaklığı optimum kriyoprotektan formülasyonunun hem liyofilizasyon hem de uzun depolama süresince bakteriyel kültürün canlılığı ve stabilitesi açısından iyi bir koruyucu etkiye sahip olacağını göstermektedir. Bu etki muhtemelen laktözün hücreler arası su miktarını azaltan dehidrasyon ajanı olarak davranmasından kaynaklanmaktadır. Shu ve ark. [18] şeker varlığında camısı geçiş sıcaklığının yüksek olduğunu ve yüksek camısı geçiş sıcaklığının dondurarak kurutma ve depolama süresince daha iyi koruma sağladığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Chen ve ark. [36] dondurarak kurutma sırasında karbonhidratların bakteriyel hücre zarının kristal oluşumu hasarından korunması için önemli bir faktör olduğunu rapor etmişlerdir. Dondurarak kurutma sırasında kriyoprotektan kullanımı camısı geçiş sıcaklığını yükseltmekte ve böylece canlı hücrelerin

çekirdekte kristal oluşumu meydana gelmeden camsı duruma geçebilmesini sağlamakta ve ayrıca sitoplazmik

membran özelliklerinin stabil kalmasında da rol oynamaktadır [37, 38].



Şekil 2. Optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak kurutulan *W. cibaria* N9 kültürünün DSC termogramı

*Figure 2. DSC thermogram of W. cibaria N9 culture dried using optimum cryoprotectant formulation*

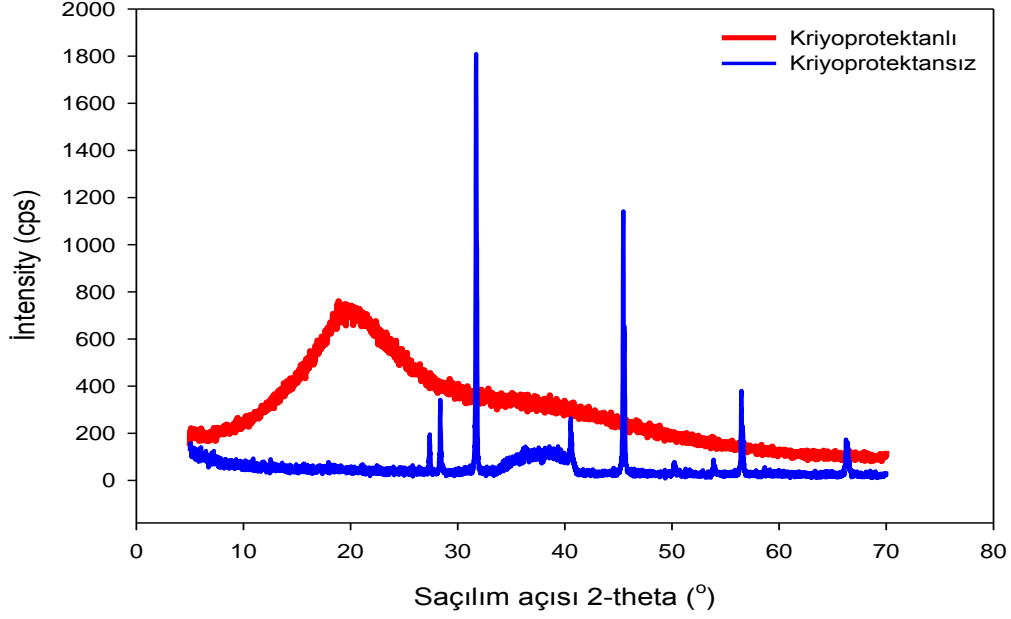
Liyofilize toz kültürün kristal-amorf yapılarını tanımlamak için X-ray difraksiyon ölçümleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen difraktam Şekil 3'te verilmiştir. Şekilden de görüldüğü üzere, kriyoprotektan kullanılmadan üretilen kültürde kristal yapıların varlığını gösteren 9 adet yoğun Bragg pikleri bulunmaktadır. Bu piklerin saçılma açıları  $2\theta=27.37^\circ$ ;  $28.35^\circ$ ;  $31.69^\circ$ ;  $40.52^\circ$ ;  $45.23^\circ$ ;  $50.17^\circ$ ;  $53.84^\circ$ ;  $56.45^\circ$  ve  $66.21^\circ$  olup pikler muhtemelen matriks materyaldeki KCl kristallerinden kaynaklanmaktadır. Buna karşılık kriyoprotektan kullanılarak liyofilize edilen kültürün difraktamında herhangi bir kristal piki bulunmadığından amorf yapı gösterdiği söylenebilir. Amorf matrikslerin çözünürlüğünün yüksek olduğu kadar higroskopik olduğu da bilinmektedir [39].

Kriyoprotektan kullanılmadan ve kullanılarak liyofilize edilen kültürüne ait taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 4'de verilmiştir. Kriyoprotektan kullanılmadan fosfatlı tampon çözeltisinde dondurularak kurutulan saf *W. cibaria* N9 suşu tipik basil şeklinde görülmektedir (Şekil 4A). Kriyoprotektan kullanılarak liyofilize edilen ve 100X büyütme oranı ile elde edilen görüntüde ise *W. cibaria* N9 suşunu içeren partiküllerin yüzeylerinin tipik liyofilize partiküllerden oldukça farklı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4B). Partiküllerin yüzeylerinin pürüzsüz olduğu ve yüzeyde herhangi bir çatlak bulunmadığı ve ayrıca bakteri hücrelerinin tamamen kriyoprotektan içerisinde kaldığı gözlenmiştir (Şekil 4C ve 4D). Partiküllerin yüzeyinde çatlak, kırık veya deliklerin bulunması partiküllerin daha yüksek gaz

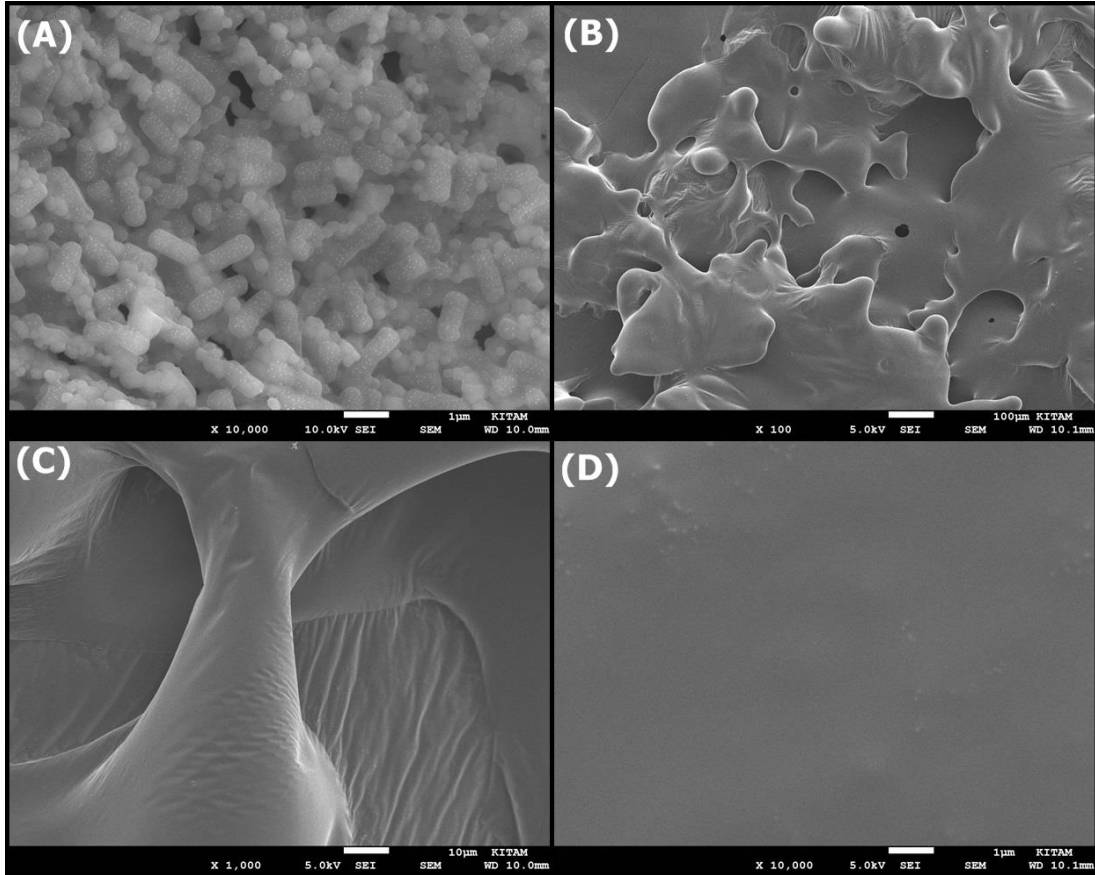
geçirgenliğine neden olmakta ve dolayısıyla depolama süresince hücrenin daha az korunmasına yol açmaktadır [40]. Ayrıca partiküllerin gözeneksiz kompakt yüzeyi, asit veya safra difüzyonunu durdurmak için iyi bir bariyer özellik göstermekte ve kriyoprotektan matriksten bakteri hücrelerinin ayrılmasını önlemekte görev almaktadır [41]. Bu nedenle uzun süreli depolamalarda hücrelerin canlılık ve stabilitesinin korunması için arzu edilen partikül yüzeylerinin tek düze ve pürüzsüz olması istenmektedir ve bu form çalışmada kullanılan kriyoprotektan uygulaması ile sağlanabilmektedir.

### Depolama Stabilitesi

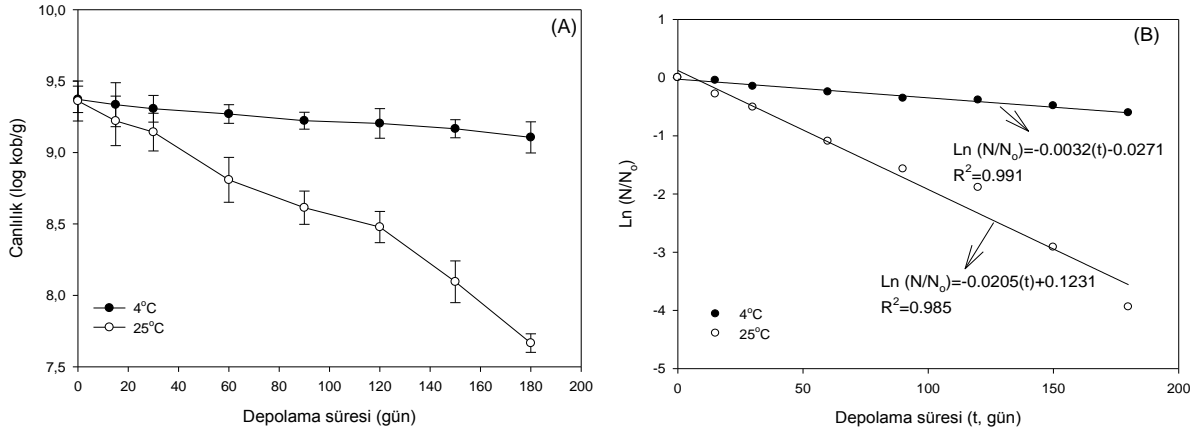
Optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak liyofilize edilen *W. cibaria* N9'un 4 ve 25°C'de 6 ay süresince canlılık kaybı belirlenmiş ve depolama süresince belirlenen canlılık kaybı sonuçları Şekil 5-A'da verilmiştir. Depolama başlangıcında canlılık sayısı 9.36 log kob/g iken 4 ve 25°C'de depolama sonunda hücre canlılığı sırası ile 9.11 ve 7.67 log kob/g olarak belirlenmiştir. Buzdolabı sıcaklığında (4°C) depolanan kültürde canlılık kaybı (0.26 log kob azalma), oda sıcaklığında (25°C) depolananlara (1.69 log kob azalma) göre daha düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar daha önceki çalışma sonuçları ile benzer olup [40, 42-45] "0°C'nin üzerindeki düşük sıcaklıklara kıyasla, yüksek sıcaklıklar hücre canlılığında daha fazla azalmaya neden olmaktadır" bulgusunu desteklemektedir.



Şekil 3. Kriyoprotektansız ve optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak kurutulmuş *W. cibaria* N9 kültürüne ait X-ray difraktogramları  
*Figure 3. X-ray diffractograms of W. cibaria N9 culture without cryoprotectant and dried using optimum cryoprotectant formulation*



Şekil 4. Optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak kurutulmuş *W. cibaria* N9 kültürüne ait SEM görüntüsü: kriyoprotektan kullanılmadan kurutulmuş saf kültür (A); kriyoprotektan kullanılarak kurutulmuş kültürlerin 100X (B), 1000X (C) ve 10000X (D) büyütme oranındaki görüntüleri  
*Figure 4. SEM image of W. cibaria N9 culture dried using optimum cryoprotectant formulation: pure culture dried without cryoprotectant (A); Images of cultures dried using cryoprotectant at 100X (B), 1000X (C), and 10000X (D) magnifications*



Şekil 5. Optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak kurutulmuş *W. cibaria* N9 lyofilize kültürünün depolama süresince canlılık değişimi (A) ve 4 ile 25°C'de inaktivasyon hız sabiti (B)

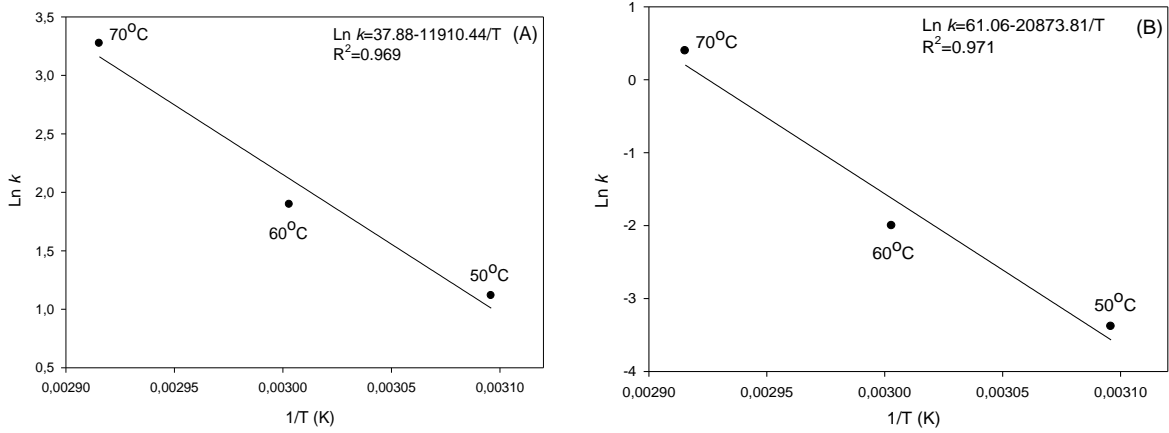
Figure 5. (A) Viability change and (B) inactivation rate constant of dried *W. cibaria* N9 lyophilized culture using optimum cryoprotectant formulation during storage at 4 to 25°C

Dondurarak kurutma sonrası mikrobiyal canlılığın uzun süre muhafaza edilmesinin büyük ölçüde depolama sıcaklığına bağlı olması [18] ve mikroorganizmaların nispeten daha düşük bir sıcaklıkta daha yüksek düzeylerde canlı kalma eğilimi göstermesi farklı olgularla açıklanmaktadır. Yüksek sıcaklıkta hücre canlılığı üzerinden zararlı etkilere yol açan kimyasal ve enzimatik reaksiyonlar ile lipit oksidasyonu gibi hücre içi metabolik aktivitelerin artması hücre canlılığının azalmasına neden olmaktadır [46]. Olası bozulma reaksiyonları arasında, hücre zarı yağ asitlerinin lipit oksidasyonu depolama sırasında hücre ölümü için esas neden olarak kabul edilmektedir. Lipit oksidasyonu hücre zararlanmalarına, uzun süreli depolama sırasında esas olarak DNA ve hücre zarına zarar veren serbest radikallerin oluşumu ile katkıda bulunmaktadır [31]. Depolama sıcaklığının yüksek olması ile çevre sıcaklığı camısı geçiş sıcaklığına yaklaşmakta ve suyun moleküler hareketliliğinin değişmesine neden olarak mikroorganizmaların korunmasında kullanılan matrisin elastik duruma yaklaşmasına ve suyun moleküler mobilitesinin artmasına neden olmaktadır [46, 47]. Buzdolabı ve oda sıcaklığında depolama sonunda mikroorganizmanın canlılık düzeyi 7 log kob/g üzerinde tespit edilmiş ve 4°C depolanan kültürün canlılık düzeyinin kültür olarak kullanılması için tavsiye edilen limit değer olan 9 log kob/g değerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir [47, 48]. Bu limit değer dikkate alındığında dondurularak kurutulmuş *W. cibaria* N9 suşunun buzdolabı koşullarında 6 ay depolama sonrasında sahip olduğu canlılık düzeyinin iyi bir ekşi hamur üretimi için yeterli olduğu söylenebilir.

Kullanılan kriyoprotektan formülasyonunun koruyucu kapasitesi inaktivasyon katsayısı ( $k$ ) cinsinden de değerlendirilmiş olup inaktivasyon katsayısı birinci dereceden reaksiyon modeli ile hesaplanmıştır (Şekil 5-B). Oda sıcaklığında depolamada sonrası hesaplanan inaktivasyon katsayısı  $k = 2.19 \times 10^{-2}$  1/gün iken buzdolabı koşullarında depolanan kültürün inaktivasyon

katsayısı  $k = 3.37 \times 10^{-3}$  1/gün olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar kriyoprotektan kullanılarak kurutulmuş *W. cibaria* N9 suşunun oda sıcaklığına kıyasla buzdolabı koşullarında daha stabil olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde farklı kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak kurutulmuş *L. curvatus* N19 ve *L. brevis* ED25'in uzun süre depolanması sonucunda hücre canlılıklarının buzdolabı koşullarında daha stabil kaldığı tespit edilmiştir [40, 42]. Çalışmada dondurularak kurutulmuş *W. cibaria* N9'ün depolama stabilitesinin tahmini hızlandırılmış depolama testi kullanılarak belirlenmiştir. Kriyoprotekansız ve optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak lyofilize edilen *W. cibaria* N9 suşunun alışılmış depolama sıcaklığından daha yüksek sıcaklıklarda (50, 60 ve 70°C) inkübasyonu ile hızlandırılmış depolama testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Şekil 6-A'da verilmiştir.

Kriyoprotektan kullanmadan lyofilize edilen *W. cibaria* N9 suşunun sıcaklığa karşı stabilitesinin oldukça düşük olduğu ve hücre canlılığının 50, 60 ve 70°C'de sırasıyla 4, 3 ve 0.64 saat sonra tespit edilebilir düzeyin altına düştüğü gözlenmiştir. Uygulanan sıcaklıklar arasında en yüksek termal ölüm 70°C'de meydana gelmiştir. Benzer şekilde King ve ark. [49], Tsen ve ark. [26] ve Kim ve ark. [48] tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda da kriyoprotektan kullanılmadan dondurularak kurutulmuş laktik asit bakterisi hücrelerinin çalışılan bütün yüksek sıcaklıklarda canlılıklarını önemli düzeyde kaybettiği ve en hızlı termal ölümün 70°C'de olduğu belirtilmiştir. Optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak lyofilize edilen bakterinin çalışılan sıcaklıklarda canlılık kaybı 0.41 ile 0.71 log kob arasında bulunmuş ve lyofilizasyonda kriyoprotektan kullanımı hücrelerin termal stabilitelerini önemli düzeyde iyileştirmiştir. Bu sonuç Savedbown ve ark. [47] ve Gul ve ark. [40] tarafından elde edilen sonuçlar ile uyumlu olup, YST ve proteinler gibi kriyoprotektanların kullanımının hücrelerin termal ölüm oranını önemli düzeyde azalttığını ortaya koymuştur.



Şekil 6. Kriyoprotektansız (A) ve optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak (B) kurutulan *W. cibaria* N9 kültürünün farklı sıcaklıklarda inaktivasyon hız sabiti ( $k$ ) için Arrhenius grafikleri

Figure 6. Arrhenius plots for the inactivation rate constant ( $k$ ) of *W. cibaria* N9 culture dried (A) without cryoprotectant and (B) using optimum cryoprotectant formulation at different temperatures

Hızlandırılmış depolama testi sonuçları (50, 60 ve 70°C'de) ekstrapolasyon çalışmaları yapmak ve hücrelerin gerçek zamanlı davranışını tahmin etmek için kullanılmıştır. Dondurularak kurutulmuş kültürlerin termal kayıpları için  $k$  (1/sa) değerleri Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanmıştır. Kriyoprotektansız ve optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak liyofilize edilen *W. cibaria* N9'un  $k$  değerleri sırasıyla 3.05 - 26.37 ve

$3.39 \times 10^{-3}$  - 1.48 1/sa olarak bulunmuştur (Tablo 3). Beklendiği gibi en yüksek  $k$  değeri 70°C'de elde edilmiş ve en yüksek termal ölüm en yüksek sıcaklıkta gözlenmiştir. Bu sonuçlar literatür sonuçları [26, 40, 42, 48] ile uyumludur. Kriyoprotektan kullanımı  $k$  değerinin önemli düzeyde azalmasını ve dolayısıyla mikroorganizmaların termal direncinin etkili bir şekilde artmasını sağlamıştır.

Tablo 3. Kriyoprotektansız ve optimum kriyoprotektan formülasyonu ile kurutulan *W. cibaria* N9 kültürünün farklı sıcaklıklardaki termal ölümü ve  $k$  (1/sa) değerleri

Table 3. Thermal death and  $k$  (1/h) values of *W. cibaria* N9 culture without cryoprotectant and dried with optimum cryoprotectant formulation at different temperatures

Sıcaklık (°C)	Kriyoprotektansız kültür		Dondurularak kurutulmuş kültür	
	Zaman (sa)	( $N_0-N$ )	Zaman (sa)	( $N_0-N$ )
50	0	0	0	0
	1	1.967±0.098	6	0.135±0.069
	2	2.521±0.13	12	0.303±0.093
	3	3.975±0.309	18	0.407±0.072
	4	TE	24	0.495±0.064
	8	TE	48	0.706±0.073
60	0	0	0	0
	0.5	2.595±0.206	1	0.121±0.016
	1	3.808±0.141	2	0.204±0.062
	1.5	5.028±0.203	3	0.281±0.051
	2	5.781±0.341	4	0.360±0.091
	3	TE	8	0.469±0.072
70	0	0	0	0
	0.08	1.399±0.019	0.08	0.069±0.006
	0.16	2.207±0.136	0.16	0.139±0.043
	0.24	3.033±0.194	0.24	0.217±0.036
	0.32	3.665±0.13	0.32	0.294±0.046
	0.64	TE	0.64	0.412±0.064
<b><math>k</math> değerleri (1/sa) (<math>R^2</math>)</b>				
50	3.052 (0.959)		$3.39 \times 10^{-3}$ (0.927)	
60	6.661 (0.947)		0.135 (0.925)	
70	26.375 (0.977)		1.484 (0.945)	

TE: Tespit edilemedi.  $N_0$ , ısıtma işlem öncesi başlangıç hücre sayısı (log kob/g);  $N$ , ısıtma işlem sonrası hücre sayısı (log kob/g).

Hızlandırılmış depolama testi sonuçları, dondurularak kurutulan hücrelerin 4 ve 25°C'deki stabilitesini tahmin

etmek için de kullanılmıştır. Bozulma hızının sıcaklığa bağlılığının ortaya konmasında en yaygın ve genel



olarak geçerli bir yöntem olan Arrhenius eşitliğinden (Eşitlik 3) yararlanılmıştır. Arrhenius denklemini elde etmek için hücrelere ait  $k$  değerlerinin  $\ln$  değerlerine ( $\ln k$ ) karşılık  $1/T(K)$  değerleri kullanılarak kriyoprotektansız ve kriyoprotektanlı liyofilize hücrelere ait Arrhenius grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 6-B). Şekil 6-B'den de görüldüğü üzere, sıcaklık ve hız sabiti arasında yüksek bir korelasyon elde edilmiştir ( $R^2 > 0.969$ ). Optimum kriyoprotektan kullanılarak liyofilize edilen *W. cibaria* N9 kültürünün buzdolabı ve oda sıcaklığındaki raf ömürleri Şekil 6-B'de verilen denklem ve literatür çalışmalarından yola çıkarak ekşi hamur üretiminde kullanılacak hücre canlılığının 9 log kob/g civarı olması gerektiği kabulünden hareketle hesaplanmıştır. Dondurarak kurutma sonrası 9.7 log kob/g civarında canlı hücre içeren liyofilize kültürün buzdolabı ve oda koşullarında raf ömrü sırası ile 3655.6 ay ve 18 ay olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç, kullanılan optimum kriyoprotektan formülasyonunun dondurarak kurutma ve depolama sırasında *W. cibaria* N9'un stabilize edilmesi için yeterli olduğunu göstermiştir.

## SONUÇ

Bu çalışmada, ekşi hamurlardan izole edilerek tanımlanmış ve teknolojik/endüstriyel özelliklerine göre ekşi hamur starteri olarak kullanıma potansiyel bulunan *W. cibaria* N9 suşunun dondurarak kurutma aşamasında canlılık kaybının minimum olması için kullanılması gereken uygun kriyoprotektan formülasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Optimizasyon çalışması sonucunda optimum kriyoprotektan formülasyonu %5.65 YST, %20 laktoz ve %9.38 sükroz şeklinde belirlenmiştir. Kullanılan kriyoprotektanlar arasında laktozun hem dondurma hem de dondurarak kurutma aşamasında canlılık üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak üretilen kültürün canlılık oranının  $>99.7$  olduğu ve *W. cibaria* N9 için kriyoprotektan formülasyonunun optimizasyonunda Box-Behnken tasarımının kullanılmasının uygun olduğu saptanmıştır. Optimum kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak üretilen kültürün yüksek canlı hücre sayısı yanında kabul edilebilir fizikokimyasal özelliklere sahip olduğu ve depolama süresince canlılık kaybının düşük olduğu da belirlenmiştir. Ayrıca, hızlandırılmış raf ömrü testi ile kriyoprotektan kullanılarak üretilen kültürün oda koşullarında 18 ay depolama sonunda ekşi hamur üretimi için beklenen fermantasyon özelliklerini gösterebileceği de belirlenmiştir. Sonuç olarak Tip II ekşi maya hamur üretimi için starter kültür olarak önerilen *W. cibaria* N9'un %5.65 YST, %20 laktoz ve %9.38 sükroz'dan oluşan kriyoprotektan formülasyonu kullanılarak yüksek canlılıkta liyofilize edilebileceği ve teknolojik/endüstriyel özellikleri kabul edilebilir düzeye sahip olarak oda koşullarında 18 ay, buzdolabı sıcaklığında 3655.6 ay depolanabileceği ortaya konulmuştur.

## YAZAR KATKILARI

Latife Betül GÜL ve Osman GÜL, analizlerin takibi, değerlendirilmesi ve yazımını sağlamıştır. Enes

DERTLİ, *W. cibaria* N9 suşunun temin ve sonuçların değerlendirilmesi, Ahmet Hilmi ÇON, araştırmanın planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesini sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamışlardır.

## TEŞEKKÜR

Latife Betül GÜL'ün doktora tezinin bir kısmı olan bu çalışmayı TOVAG 117O159 proje numarası ile maddi olarak destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'a teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- [1] Dertli, E., Mercan, E., Arıcı, M., Yılmaz, M.T., Sağdıç, O. (2016). Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 116-124.
- [2] Arendt, E.K., Ryan, L.A., Dal Bello, F. (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiology*, 24(2), 165-174.
- [3] Corona, O., Alfonzo, A., Ventimiglia, G., Nasca, A., Francesca, N., Martorana, A., Moschetti, G., Settanni, L. (2016). Industrial application of selected lactic acid bacteria isolated from local semolinas for typical sourdough bread production. *Food Microbiology*, 59, 43-56.
- [4] Minervini, F., Di Cagno, R., Lattanzi, A., De Angelis, M., Antonielli, L., Cardinali, G., Cappelle, S., Gobbetti, M. (2012). Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of 19 sourdoughs used for traditional/typical italian breads: interactions between ingredients and microbial species diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(4), 1251-1264.
- [5] Pontonio, E., Nionelli, L., Curiel, J.A., Sadeghi, A., Di Cagno, R., Gobbetti, M., Rizzello, C.G. (2015). Iranian wheat flours from rural and industrial mills: Exploitation of the chemical and technology features, and selection of autochthonous sourdough starters for making breads. *Food Microbiology*, 47, 99-110.
- [6] Mantzourani, I., Plessas, S., Odatzidou, M., Alexopoulos, A., Galanis, A., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A. (2019). Effect of a novel *Lactobacillus paracasei* starter on sourdough bread quality. *Food Chemistry*, 271, 259-265.
- [7] Reale, A., Di Renzo, T., Zotta, T., Preziuso, M., Boscaino, F., Ianniello, R., Storti, L.V., Tremonte, P., Coppola, R. (2016). Effect of respirative cultures of *Lactobacillus casei* on model sourdough fermentation. *LWT-Food Science and Technology*, 73, 622-629.
- [8] Axel, C., Brosnan, B., Zannini, E., Furey, A., Coffey, A., Arendt, E.K. (2016). Antifungal sourdough lactic acid bacteria as biopreservation tool in quinoa and rice bread. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 86-94.
- [9] Velly, H., Fonseca, F., Passot, S., Delacroix-Buchet, A., Bouix, M. (2014). Cell growth and resistance of

- Lactococcus lactis* subsp. *lactis* TOMSC161 following freezing, drying and freeze-dried storage are differentially affected by fermentation conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 117(3), 729-740.
- [10] Stefanello, R.F., Nabeshima, E.H., Iamanaka, B.T., Ludwig, A., Fries, L.L.M., Bernardi, A.O., Copetti, M.V. (2019). Survival and stability of *Lactobacillus fermentum* and *Wickerhamomyces anomalus* strains upon lyophilisation with different cryoprotectant agents. *Food Research International*, 115, 90-94.
- [11] Keivani Nahr, F., Mokarram, R.R., Hejazi, M.A., Ghanbarzadeh, B., Sowti Khiyabani, M., Zoroufchi Benis, K. (2015). Optimization of the nanocellulose based cryoprotective medium to enhance the viability of freeze dried *Lactobacillus plantarum* using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 326-332.
- [12] Nakamura, T., Takagi, H., Shima, J. (2009). Effects of ice-seeding temperature and intracellular trehalose contents on survival of frozen *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Cryobiology*, 58(2), 170-4.
- [13] Higl, B., Kurtmann, L., Carlsen, C.U., Ratjen, J., Fo, P., Skibsted, L.H., Kulozik, U., Risbo, J. (2007). Impact of water activity, temperature, and physical state on the storage stability of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* freeze-dried in a lactose matrix. *Biotechnology Progress*, 23, 794-800.
- [14] Lu, Y., Huang, L., Yang, T., Lv, F., Lu, Z. (2017). Optimization of a cryoprotective medium to increase the viability of freeze-dried *Streptococcus thermophilus* by response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 80, 92-97.
- [15] Niu, X., Deng, L., Zhou, Y., Wang, W., Yao, S., Zeng, K. (2016). Optimization of a protective medium for freeze-dried *Pichia membranifaciens* and application of this biocontrol agent on citrus fruit. *Journal of Applied Microbiology*, 121(1), 234-243.
- [16] Passot, S., Cenard, S., Douania, I., Tréleá, I.C., Fonseca, F. (2012). Critical water activity and amorphous state for optimal preservation of lyophilised lactic acid bacteria. *Food Chemistry*, 132(4), 1699-1705.
- [17] Peiren, J., Buyse, J., De Vos, P., Lang, E., Clermont, D., Hamon, S., Begaud, E., Bizet, C., Pascual, J., Ruvira, M.A., Macian, M.C., Arahal, D.R. (2015). Improving survival and storage stability of bacteria recalcitrant to freeze-drying: a coordinated study by European culture collections. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(8), 3559-3571.
- [18] Shu, G., Wang, Z., Chen, L., Wan, H., Chen, H. (2018). Characterization of freeze-dried *Lactobacillus acidophilus* in goat milk powder and tablet: Optimization of the composite cryoprotectants and evaluation of storage stability at different temperature. *LWT - Food Science and Technology*, 90, 70-76.
- [19] Khoramnia, A., Abdullah, N., Liew, S.L., Sieo, C.C., Ramasamy, K., Ho, Y.W. (2011). Enhancement of viability of a probiotic *Lactobacillus* strain for poultry during freeze-drying and storage using the response surface methodology. *Animal Science Journal*, 82(1), 127-135.
- [20] Yu, Y., Zhang, Z., Wang, Y., Liao, M., Li, B., Xue, L. (2017). Optimization of protectant, salinity and freezing condition for freeze-drying preservation of *Edwardsiella tarda*. *Journal of Ocean University of China*, 16(5), 831-839.
- [21] Ambros, S., Hofer, F., Kulozik, U. (2018). Protective effect of sugars on storage stability of microwave freeze-dried and freeze-dried *Lactobacillus paracasei* F19. *Journal of Applied Microbiology*, 125(4), 1128-1136.
- [22] Ren, H., Zentek, J., Vahjen, W. (2019). Optimization of production parameters for probiotic *Lactobacillus* strains as feed additive. *Molecules*, 24(18), 3286.
- [23] Meroth, C.B., Walter, J., Hertel, C., Brandt, M.J., Hammes, W.P. (2003). Monitoring the bacterial population dynamics in sourdough fermentation processes by using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied Environmental Microbiology*, 69(1), 475-482.
- [24] Carvalho, A.S., Joana Silva, J., Ho, P., Teixeira, P., Malcata, F.X., Gibbs, P. (2002). Survival of freeze-dried *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* during storage in the presence of protectants. *Biotechnology Letters*, 24, 1587-1591.
- [25] Yao, M., Wu, J., Li, B., Xiao, H., McClements, D.J., Li, L. (2017). Microencapsulation of *Lactobacillus salivarius* Li01 for enhanced storage viability and targeted delivery to gut microbiota. *Food Hydrocolloids*, 72, 228-236.
- [26] Tsen, J.H., Lin, Y.P., Huang, H.Y., King, V.A. (2007). Accelerated storage testing of freeze-dried immobilized *Lactobacillus acidophilus*-fermented banana media. *Journal of Food Processing and Preservation*, 31, 688-701.
- [27] Costa, E., Usall, J., Teixido, N., Garcia, N., Vinas, I. (2000). Effect of protective agents, rehydration media and initial cell concentration on viability of *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 subjected to freeze-drying. *Journal of Applied Microbiology*, 89, 793-800.
- [28] Schwab, C., Vogel, R., Ganzle, M.G. (2007). Influence of oligosaccharides on the viability and membrane properties of *Lactobacillus reuteri* TMW1.106 during freeze-drying. *Cryobiology*, 55(2), 108-114.
- [29] Carvalho, A.S., Silva, J., Ho, P., Teixeira, P., Malcata, F.X., Gibbs, P. (2004). Relevant factors for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 14(10), 835-847.
- [30] Joglekar, A.M., May, A.T. (1987). Product excellence through design of experiments. *Cereal Foods World*, 32(12), 857-868.
- [31] Albadran, H.A., Chatzifragkou, A., Khutoryanskiy, V.V., Charalampopoulos, D. (2015). Stability of probiotic *Lactobacillus plantarum* in dry microcapsules under accelerated storage conditions. *Food Research International*, 74, 208-216.
- [32] Meng, X.C., Stanton, C., Fitzgerald, G.F., Daly, C., Ross, R.P. (2008). Anhydrobiotics: The challenges of drying probiotic cultures. *Food Chemistry*, 106(4), 1406-1416.

- [33] Tonon, R.V., Brabet, C., Hubinger, M.D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, 43(3), 907-914.
- [34] Li, B., Tian, F., Liu, X., Zhao, J., Zhang, H., Chen, W. (2011). Effects of cryoprotectants on viability of *Lactobacillus reuteri* CICC6226. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92(3), 609-616.
- [35] Ananta, E., Volkert, M., Knorr, D. (2005). Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. *International Dairy Journal*, 15(4), 399-409.
- [36] Chen, H., Chen, S., Li, C., Shu, G. (2015). Response surface optimization of lyoprotectant for *Lactobacillus bulgaricus* during vacuum freeze-drying. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 45(5), 463-475.
- [37] Passot, S., Gautier, J., Jamme, F., Cenard, S., Dumas, P., Fonseca, F. (2015). Understanding the cryotolerance of lactic acid bacteria using combined synchrotron infrared and fluorescence microscopies. *Analyst*, 140(17), 5920-5928.
- [38] Carvalho, A.S., Silva, J., Ho, P., Teixeira, P., Malcata, F.X., Gibbs, P. (2003). Impedimetric method for estimating the residual activity of freeze-dried *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *International Dairy Journal*, 13(6), 463-468.
- [39] Botrel, D.A., de Barros Fernandes, R.V., Borges, S.V., Yoshida, M.I. (2014). Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. *Food Research International*, 62, 344-352.
- [40] Gul, L.B., Gul, O., Yilmaz, M.T., Dertli, E., Con, A.H. (2020). Optimization of cryoprotectant formulation to enhance the viability of *Lactobacillus brevis* ED25: Determination of storage stability and acidification kinetics in sourdough. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(4), e14400.
- [41] Nag, A., Das, S. (2013). Effect of trehalose and lactose as cryoprotectant during freeze-drying, in vitro gastro-intestinal transit and survival of microencapsulated freeze-dried *Lactobacillus casei* 431 cells. *International Journal of Dairy Technology*, 66(2), 162-169.
- [42] Gul, L.B., Con, A.H., Gul, O. (2020). Storage stability and sourdough acidification kinetic of freeze-dried *Lactobacillus curvatus* N19 under optimized cryoprotectant formulation. *Cryobiology*, 96, 122-129.
- [43] Savedboworn, W., Teawsomboonkit, K., Surichay, S., Riansa-Ngawong, W., Rittisak, S., Charoen, R., Phattayakorn, K. (2019). Impact of protectants on the storage stability of freeze-dried probiotic *Lactobacillus plantarum*. *Food Science and Biotechnology*, 28(3), 795-805.
- [44] Gul, O., Atalar, I., Gul, L.B. (2019). Effect of different encapsulating agent combinations on viability of *Lactobacillus casei* Shirota during storage, in simulated gastrointestinal conditions and dairy dessert. *Food Science and Technology International*, 25(7), 608-617.
- [45] Gul, O., Dervisoglu, M. (2020). Optimization of spray drying conditions for microencapsulation of *Lactobacillus casei* Shirota using response surface methodology. *European Food Science and Engineering*, 1(1), 1-8.
- [46] Behboudi-Jobbehdar, S., Soukoulis, C., Yonekura, L., Fisk, I. (2013). Optimization of spray-drying process conditions for the production of maximally viable microencapsulated *L. acidophilus* NCIMB 701748. *Drying Technology*, 31(11), 1274-1283.
- [47] Savedboworn, W., Kerdwan, N., Sakorn, A., Charoen, R., Tipkanon, S., Pattayakorn, K. (2017). Role of protective agents on the viability of probiotic *Lactobacillus plantarum* during freeze drying and subsequent storage. *International Food Research Journal*, 24(2), 787-794.
- [48] Kim, M., Nam, D.G., Kim, S.B., Im, P., Choe, J.S., Choi, A.J. (2018). Enhancement of viability, acid, and bile tolerance and accelerated stability in lyophilized *Weissella cibaria* JW15 with protective agents. *Food Science and Nutrition*, 6(7), 1904-1913.
- [49] King, V.A., Lin, H.J., Liu, C.F. (1998). Accelerated storage testing of freeze-dried and controlled low-temperature vacuum dehydrated *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of General and Applied Microbiology*, 44, 161-165.

## ***Monascus purpureus*'dan Katı Kültür Fermantasyon Yöntemi ile Renk Pigmenti Üretimi**

Yekta Göksungur<sup>1</sup>  , Seda Sarııldız<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir  
<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 11.04.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 28.05.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [yekta.göksungur@ege.edu.tr](mailto:yekta.göksungur@ege.edu.tr) (Y. Göksungur)

☎ 0 232 311 30 27 📠 0 232 311 48 31

### **ÖZ**

Bu çalışmada katı kültür fermantasyon tekniği ile *Monascus purpureus* CMU 001 küfünden mikrobiyal pigment üretimi gerçekleştirilmiştir. Substrat olarak bira mayşe atığı ve gofret yaprağı tozu kullanılmış ve en yüksek kırmızı renk pigmenti sentezinin gerçekleştiği fermantasyon koşulları belirlenmiştir. En yüksek pigment üretimi olan 59.55 AU<sub>500</sub>/g değeri, ilave besin elementi kullanılmadan 1:4 (g/g) oranında karıştırılmış bira mayşe atığı ve atık gofret yaprağı tozu substrat olarak kullanıldığında, optimum koşullar olan %85 başlangıç nem oranında, başlangıç pH 7.5 değerinde, 3 mL aşı hacmi ve 28°C inkübasyon sıcaklığında, fermantasyonun 9. gününde elde edilmiştir. Bu çalışma proses atıkları olan bira mayşe atığı ve gofret yaprağı tozunun katı kültür fermantasyon tekniği ile renk pigmenti üretiminde beraber kullanıldığı ilk çalışmadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Monascus*, Pigment, Katı kültür fermantasyonu, Bira mayşe atığı, Atık gofret yaprağı, Atık değerlendirme

### **Production of Microbial Pigments by Solid-State Fermentation Technique using *Monascus purpureus***

#### **ABSTRACT**

In this study, microbial pigment was produced by *Monascus purpureus* CMU 001 by using the solid-state fermentation technique. Brewer's spent grain and waste wafer sheets were used as a substrate, and process parameters for the best pigment yield were determined. Brewer's spent grain and waste wafer sheets mixed at a ratio of 1:4 (w/w) gave the highest pigment yield values. Extra nutrients were not used in the fermentation medium. The highest pigment concentration of 59.55 AU<sub>500</sub>/g was obtained under the optimized process conditions of initial moisture content 85%, initial pH 7.5, inoculum size 3 mL, fermentation temperature 28°C and incubation period 9 days. This was the first study on the use of brewer's spent grain and waste wafer sheet in microbial pigment production using the solid-state fermentation technique.

**Keywords:** *Monascus*, Pigments, Solid-state fermentation, Brewers' spent grain, Waste wafer sheet, Waste evaluation

#### **GİRİŞ**

Son yıllarda insan ve çevre sağlığına potansiyel tehdit olan sentetik katkı maddeleri yerine doğal katkı

maddelerinin kullanılması tercih edilmekte olup, buna bağlı olarak doğal renk pigmentleri ve alternatif kaynaklardan üretimi üzerine yapılan çalışmalar yoğunlaşmıştır [1]. *Monascus* cinsi küfler tarafından

üretilen renk pigmentlerinin Doğu Asya ülkelerinde yüzyıllardır doğal renk maddesi ve geleneksel gıda katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır. *Monascus* türlerinin sekonder metabolit olarak renk pigmentlerinin yanı sıra monakolinler ve  $\gamma$ -amino butirik asit gibi sağlıklı yararlı biyoaktif bileşenleri sentezlediği ve bu bileşenlerin anti-mutajenik, antikanser özelliklerinin ve antimikrobiyal aktivitelerinin olduğu bilinmektedir [2-4]. *Monascus* küfleri üç ana grupta incelenen, altı adet renk pigmenti sentezleyebilmektedir. Bu pigmentler; turuncu pigmentler olan rubropunctatin ( $C_{12}H_{22}O_5$ ) ve monascorubin ( $C_{23}H_{26}O_5$ ); sarı pigmentler olan monascin ( $C_{21}H_{26}O_5$ ) ve ankaflavin ( $C_{23}H_{30}O_5$ ); kırmızı pigmentler olan rubropunctamine ( $C_{21}H_{23}NO_4$ ) ve monoscorubramine ( $C_{23}H_{27}NO_4$ ) olarak isimlendirilmektedir [5]. Genelde pirinç ve ekmekten katı kültür fermantasyonu (KKF) yoluyla üretilen *Monascus* pigmentleri (MP), çoğunlukla Uzak Doğu ülkelerinde, fermente soya peynirinde, riboflavin kaynağı olarak bebek mamaları ve kahvaltılık gevreklerinde, soslarda, enerji içeceklerinde, aromalı yoğurtlarda ve sütlerde kullanılmaktadır [3, 6]. Ayrıca sosis gibi paketli ve işlenmiş et ürünlerine kırmızı renk verme ve bakteriyostatik etki yaratma amacıyla sodyum nitrite alternatif olarak kullanılabilir [2]. MP üretimi için geleneksel bir yöntem olan katı kültür fermantasyonu tekniği, düşük atık su üretimi, düşük enerji ve su ihtiyacı gibi avantajlara sahiptir, ayrıca gıda sanayi atıklarının substrat olarak kullanımına elverişlidir. Ek olarak katı kültür fermantasyonu ile elde edilen pigmentler herhangi bir alt akım işlemine uğramadan direkt olarak renklendirme amacıyla ürünlerde kullanılabilir [5, 7].

Gıda endüstrisi küresel olarak milyonlarca tüketiciye hizmet vermekle beraber, bir yandan da büyük miktarlarda organik atık üretimine sebep olmaktadır. Bu atıklar karbonhidratlar, lipitler, proteinler, azot kaynakları ve vitaminler açısından oldukça zengindir ve mikroorganizmalar tarafından kullanılarak katma değeri yüksek ürünler elde edilmesine uygundur [8]. Bira üretiminde mayşeleme aşamasında ortaya çıkan lignoselülozik yapıdaki bira mayşe atığı, bira üretiminde en fazla oluşan atık olup, genellikle hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir [9, 10]. Ancak bira mayşe atığı, yüksek karbon, mineral ve protein içeriğiyle tek başına veya farklı atıklarla beraber substrat olarak biyoteknolojik proseslerde kullanılmaya uygun bir atıktır [11]. Katı kültür fermantasyon tekniğinde substrat olarak kullanılabilen bir diğer atık ise gofret yaprağıdır. Gofretler buğday unundan elde edilen ince ve gevrek yapıdaki hububat ürünleridir [12]. Tipik bir şekerleme fabrikasında oluşan en yaygın biyoatıklardan biri olan gofret yaprakları, hatalı şekil verilmiş, yapılandırılmış, kırılmış, kirlenmiş ve yanlış etiketlenmiş gofret yaprakları olup, toplam gofret üretiminin yaklaşık %10'una karşılık gelebilmektedir [13].

Çalışma kapsamında bira mayşe atığı ve gofret yaprağı tozu, katı kültür fermantasyon tekniği ile *Monascus* pigmenti sentezinde substrat olarak kullanılmış ve pigment sentezine etki eden fermantasyon koşulları optimize edilmiştir. Bu çalışma bira mayşe atığı ve gofret

yaprağı tozunun renk pigmenti üretiminde beraber kullanıldığı ilk çalışmadır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal ve Mikroorganizma

Bira mayşe atığı, Türk Tuborg Bira ve Malt Sanayi A.Ş tarafından temin edilmiştir. 55°C etüvde (Memmert GmbH, Almanya) kurutulmuş ve hava almayan saklama kaplarında muhafaza edilmiştir. Denemelerde kullanılan bira mayşe atığı %53.1 hemiselüloz, %19.2 selüloz, %8.5 lignin, %2.76 azot ve %3.68 kül içeren, lignoselülozik yapıda bir bira sanayi atığıdır [14]. Gofret yaprakları, Tören Gıda San. ve Tic. A.Ş tarafından temin edilmiş olup üretiminde un, su, yağ, emülgatör, NaCl ve kabartıcılar (sodyum bikarbonat ve sodyum asit pirofosfat) kullanıldığı ve gofret yapraklarının içeriğinin %35-40 arasında olduğu üretici firma tarafından belirtilmiştir. Gofret yaprakları valsli değirmen aracılığıyla toz haline getirilerek (Bühler GmbH, Almanya) hava almayan saklama kaplarında muhafaza edilmiştir. Deneyler süresince bira mayşe atığı için 2 mm ve üzerindeki partikül boyutları, gofret yaprağı için ise 1 ve 2 mm arasındaki partikül boyutları kullanılmıştır. *Monascus purpureus* CMU 001 suşu Chiang Mai Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Prof. Saisamorn Lumyong'dan temin edilmiştir. Çalışma süresince mikroorganizma Patato Dextrose Agar (PDA) (Merck, Almanya) besiyerinde geliştirilmiş, 3 haftada bir yenilenmiş ve 4°C 'de muhafaza edilmiştir.

### Aşı Hazırlanması

*Monascus purpureus* CMU 001 suşu spor süspansiyonu elde edilmesi amacıyla PDA besiyerinde, 30°C sıcaklıkta, 7 gün süreyle, statik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Fermantasyon sonunda 10 mL steril saf su petrilere aktarılmış ve aseptik koşullarda spor kazınması gerçekleştirilmiştir. Elde edilen spor süspansiyonunun Neubauer lamı aracılığıyla spor sayımı gerçekleştirilmiş (1 x 10<sup>6</sup> spor/mL) ve denemelerde aşı olarak kullanılmıştır.

### Katı Kültür Fermantasyonu

Fermantasyon denemeleri, içerisinde 5 gram katı substrat bulunan 250 mL'lik erlenlerde gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon ortamlarına hepsinden 2'şer mL hacimde, dört farklı nemlendirme sıvısı ilave edilmiştir. Kullanılan nemlendirme sıvısı içerikleri; a) mineral madde çözeltisi (2 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 5 g/L NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 1 g/L NaCl, 1 g/L MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O [15]; b) monosodyum glutamat (25 g/L); c) mineral madde + monosodyum glutamat çözeltisi; d) saf su 'dur. Fermantasyon ortamlarının pH değerleri nemlendirme sıvısı aracılığıyla ayarlanmıştır; nemlendirme sıvısı pH değerleri otoklavlama işleminden sonra arzu edilen ortam pH değerine ulaşılacak şekilde hazırlanmıştır. Nemlendirme sıvısı aracılığıyla belirlenen nem oranına getirilmiş ortamlar 121°C sıcaklıkta 20 dakika süresince otoklavda sterilize edilmiş ve oda sıcaklığına getirildikten sonra spor süspansiyonu (1x10<sup>6</sup> spor/mL) inokule

edilmiştir. Farklı substrat oranlarının (bira mayşe atığı (BMA) ve gofret yaprağı tozu (GYT)), ve kullanılan nemlendirme sıvısı içeriklerinin pigment sentezine etkisinin incelendiği fermantasyon denemeleri, statik koşullarda, 30°C'deki inkübatörde (Sanyo MIR- 254, Sanyo Electric Co., Ltd., Japonya), %80 başlangıç nem oranı, başlangıç pH 6.5 ve 3 mL aşı hacmi ile 8 gün süresince gerçekleştirilmiştir. Pigment sentezine etki ettiği bilinen parametreler olan başlangıç nem oranı (%50-90), başlangıç pH'sı (pH 5.5-8.5), aşı hacmi (0.5-4 mL) ( $1 \times 10^6$  spor/mL) ve inkübasyon sıcaklığı (26-32°C) parametrelerinin pigment sentezine etkisini belirlemek amacıyla *Monascus purpureus* ile fermantasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Her deneme setinde bir parametre değiştirilmiş ve aksi belirtilmediği takdirde maksimum pigment sentezinin elde edildiği koşul, diğer denemelerde kullanılmıştır.

### Pigment Analizi

Fermantasyonu biten ortamlarda pigment analizi için Carvalho ve ark. [16] ve Gomah ve ark. [17] 'dan

$$\text{Absorbans birimi} \left( \frac{\text{AU}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{OD} \times \text{Toplam çözücü hacmi} \times \text{Seyreltme faktörü}}{\text{Kuru örnek(g)}} [18]$$

### İstatistiksel Analiz

Analiz verileri SPSS programı (SPSS Inc., SPSS Statistics 20.0, Chicago, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir. Denemeler iki tekrar, analizler üç paralel olarak gerçekleştirilmiş ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Tüm şekillerde, farklı küçük harfler (a-f) taşıyan tüm faktörlerin ortalama değerleri arasındaki fark anlamlıdır ( $P < 0.05$ ).

## BULGULAR ve TARTIŞMA

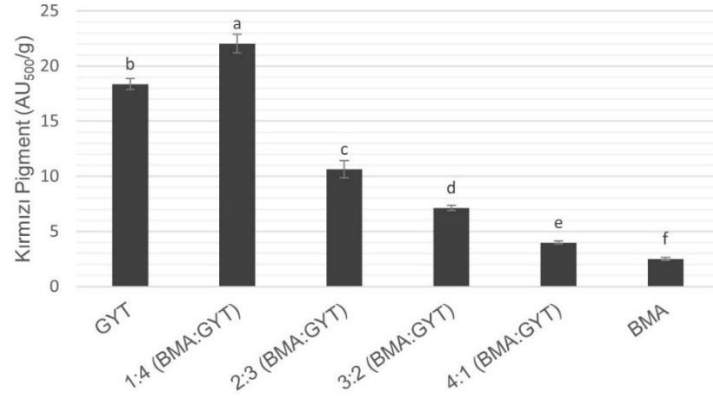
### Substrat Seçimi

Katı kültür fermantasyon süreçlerinde kullanılan substrat, içerdiği karbon, azot gibi bileşenler ve mikroorganizmaların üzerinde gelişebileceği fiziksel bir yapı oluşturmaları sebebiyle oldukça önemlidir [7, 19, 20]. Çalışma kapsamında substrat olarak bira mayşe atığı (BMA) ve gofret yaprağı tozu (GYT) farklı oranlarda karıştırılarak kullanılmış ve nemlendirme sıvısı olarak saf su kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 1'de paylaşılmıştır. En yüksek kırmızı pigment sentezi 1:4 (g/g) oranında karıştırılmış BMA ve GYT ortamında, 22.04 AU<sub>500</sub>/g olarak elde edilmiştir. En düşük pigment sentezi 2.50 AU<sub>500</sub>/g değeri ile yalnızca bira mayşe atığı

modifiye edilen yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla, 1 gram fermantasyon ortamı için 5 mL %95'lik etanol kullanılarak pigment ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon çalkalamalı inkübatörde (Certomat® BS-1, Sartorius Stedim, Almanya) 30°C/200 rpm'de, 1 saat süre ile yapılmıştır. Ekstraksiyon sonrası 15 dakika oda sıcaklığında bekletilen örnekler, 7500 rpm'de 5 dakika süre ile santrifügasyon (Daihan Scientific CF-10, Korea) işlemine tabi tutulmuştur. Santrifügasyon sonrasında elde edilen supernatant sıvısında gerekli seyreltmeler yapılarak, sentezlenen kırmızı pigment konsantrasyonu 500 nm'de spektrofotometrik (Thermo Scientific, Genesys 10S UV-Vis) ölçümler alınarak belirlenmiştir [16, 17]. Spektrofotometrik ölçümlerde kör örnek olarak, fermente olmamış substrattan elde edilen ekstrakt kullanılmıştır. Bu çalışmada sadece hücre dışı pigmentlerin analizi gerçekleştirilmiştir. Seyreltme faktörü, çözücü hacmi, kullanılan substrat miktarı ve spektrofotometrik ölçümler sonucu elde edilen veriler aşağıdaki denklemde yerine konularak pigment konsantrasyonu hesaplanmış ve AU<sub>500</sub>/g olarak ifade edilmiştir [18].

kullanılan ortamda elde edilmiştir. Fermantasyon süresince BMA'nın zengin protein ve aminoasit içeriğiyle ortamda azot kaynağı olarak, karbonhidratça zengin GYT'nin ise ortamda karbon kaynağı olarak rol oynadığı düşünülmektedir. Çalışma boyunca devam eden denemelerde 1:4 (g/g) oranında karıştırılmış BMA ve GYT substrat olarak kullanılmıştır.

Literatürde farklı substratlar kullanılarak gerçekleştirilmiş birçok çalışma bulunmaktadır. Srianta ve ark. [21], piriñç, mısır, sorgum tanesi, kabuğu soyulmuş sorgum tanesi ve sorgum kepeğini pigment üretiminde substrat olarak kullanmış ve en yüksek pigment üretimini piriñç ve kepeği alınmış sorgum tanesinde elde etmişlerdir. Aynı araştırmacılar, nişasta içermeyen polisakkaritlerin *Monascus purpureus* tarafından hidrolizinin etkin bir şekilde gerçekleştirilemediğini ifade etmişlerdir. Bu durum lignoselülozik yapıda olan BMA'nın tek başına substrat olarak kullanıldığında elde edilen düşük pigment sentezini de açıklamaktadır. Benzer bir çalışmada, Sehwat ve ark. [22], en yüksek kırmızı pigment sentezini bezelye ve tatlı patates kabuğunu substrat olarak kullandıkları denemede elde etmişler; bezelyenin organik azot, tatlı patates kabuğunun ise karbon kaynağı olarak mikroorganizma tarafından kullanıldığını belirtmişlerdir.



Şekil 1. Farklı oranlarda karıştırılmış bira mayşe atığı (BMA) ve gofret yaprağı tozu (GYT) kullanımının kırmızı pigment sentezi üzerine olan etkisi (Fermantasyon koşulları: Başlangıç nem oranı %80, başlangıç pH 6.5, 3 mL aşı hacmi, 30°C, 8 gün)

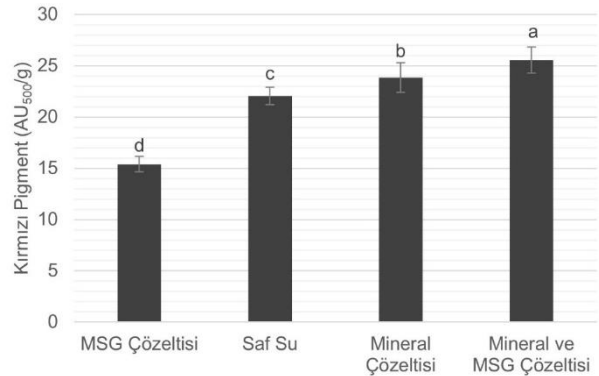
*Figure 1. The effect of using different ratios of mixed beer mash waste (BMW) and wafer leaf powder (WLP) on red pigment synthesis (Fermentation conditions: Initial humidity 80%, initial pH 6.5, 3 mL inoculum volume, 30°C, 8 day)*

### Nemlendirme Sıvısı İçeriği

*Monascus purpureus*'un metabolizmasında ve hücre yapılarının sentezinde fermantasyon ortamında bulunan organik besin maddelerinin ve minerallerin etkisi oldukça yüksektir [22]. Çalışma kapsamında kırmızı pigment sentezi üzerine etkisi incelenen nemlendirme sıvısı içerikleri ve elde edilen sonuçlar Şekil 2'de gösterilmektedir. En yüksek kırmızı pigment konsantrasyonu 25.55 AU<sub>500</sub>/g değeri ile mineral madde ve monosodyum glutamat (MSG) çözeltisinin beraber kullanıldığı ortamda elde edilmiştir. Mineral madde çözeltisinin kullanıldığı ve hiçbir besin elementinin kullanılmadığı ortamlarda ise sırasıyla 23.84 AU<sub>500</sub>/g ve 22.04 AU<sub>500</sub>/g pigment konsantrasyonu değerleri elde edilmiştir. En düşük kırmızı pigment konsantrasyonu ise 15.4 AU<sub>500</sub>/g değeri ile monosodyum glutamat çözeltisi kullanılan ortamda elde edilmiştir. Farklı mineral ve azot kaynağı kombinasyonlarının kullanımı, ortam pH'sını, mikroorganizma gelişimini ve pigment sentezini olumlu etkileyebilmektedir [23,24]. Çalışma kapsamında en yüksek pigment sentezi mineral madde ve monosodyum glutamat çözeltisinin beraber kullanıldığı ortamda elde edilmekle beraber, hiçbir besin elementi içermeyen ortamda da benzer konsantrasyonda pigment elde edilmesinin sebebiyle, proses maliyeti ve çevre kirliliği açısından çalışmanın geriye kalan kısımda nemlendirme sıvısında herhangi bir besin elementinin kullanılmadığı saf su, nemlendirme sıvısı olarak kullanılmıştır.

*Monascus* pigmentlerinin renginin aminoasit, peptit ve protein gibi çeşitli bileşiklerin amino grubu ile monascorubrine ve rubropunctatine'in yapısında bulunan oksijenin yer değiştirmesi sonucunda turuncudan kırmızıya döndüğü bilinmektedir [5]. Bu nedenle organik (monosodyum glutamat, pepton vb) veya inorganik azot kaynakları (amonyum nitrat vb.) kullanımı kırmızı pigment sentezinde önemli bir yere sahiptir [25]. Babitha ve ark. [15], *Monascus* spp. ile katı kültür fermantasyon tekniği ile gerçekleştirdikleri çalışmada monosodyum glutamat, pepton, soya unu ve

kitin tozu kullanımının kırmızı pigment sentezi üzerine etkilerini araştırmış ve en yüksek kırmızı pigment sentezini azot kaynağı olarak monosodyum glutamat kullandıkları denemede elde etmişlerdir. Şilbir ve Göksungur [14], bira mayşe atığından *Monascus purpureus* CMU001 mikroorganizması ile kırmızı pigment ürettikleri çalışmalarında değişik azot kaynaklarının pigment sentezine etkisini araştırmışlar ve en yüksek pigment üretimi olan 22.25 UA<sub>500</sub> değerini azot kaynağı olarak 8 g/L MSG kullandıklarında elde etmişlerdir.



Şekil 2. Farklı nemlendirme sıvısı içeriklerinin kırmızı pigment sentezi üzerine olan etkisi (Fermantasyon koşulları: Başlangıç nem oranı %80, başlangıç pH 6.5, 3 mL aşı hacmi, 30°C, 8 gün)

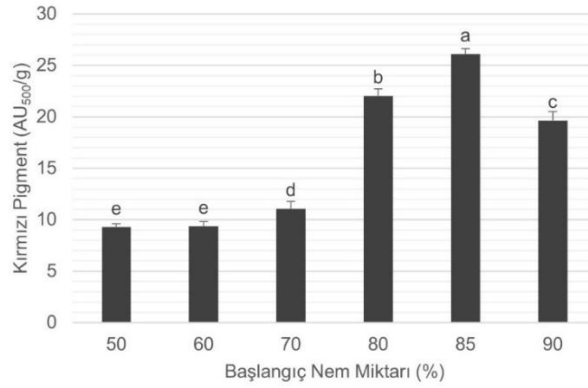
*Figure 2. The effect of different moistening liquid contents on red pigment synthesis (Fermentation conditions: Initial humidity 80%, initial pH 6.5, 3 mL inoculum volume, 30°C, 8 days)*

### Başlangıç Nem Oranı

Katı kültür fermantasyonunda kullanılan nem oranı mikroorganizma gelişimi için oldukça önemlidir [25, 26] ve genel olarak, %30 ile %85 arasında değişen nem oranları kullanılmaktadır [27]. Çalışmada farklı başlangıç nem oranlarının kırmızı pigment sentezi üzerine olan

etkisi incelenmiş ve sonuçlar, Şekil 3'te verilmiştir. En yüksek kırmızı pigment konsantrasyonu 26.10 AU<sub>500</sub>/g değeri ile %85 başlangıç nem oranında elde edilmiştir. %90 başlangıç nem oranında ise ortamda sıvı birikimi gözlenmiş ve KKF prensiplerinden uzaklaşmıştır. En düşük kırmızı pigment konsantrasyonu 9.28 AU<sub>500</sub>/g olarak, %50 başlangıç nem oranında elde edilmiştir. Başlangıç nem oranı düşük olduğunda, çözünmüş besin maddeleri ve oksijen transferinin azalması sebebiyle ürün sentezinde düşüşler gözlemlendiği birçok araştırmacı tarafından ifade edilmektedir [7, 27]. Sonraki denemelerde fermantasyon ortamının başlangıç nem oranı, en yüksek pigment sentezinin elde edildiği % 85 değerine ayarlanmıştır. Literatürde yapılan benzer

çalışmalarda kırmızı pigment sentezi için farklı substratlar kullanılarak elde edilen farklı optimum başlangıç nem oranları bulunmaktadır. Srianta ve ark. [28], Durian tohumu kullanarak gerçekleştirdikleri katı kültür fermantasyonunda en yüksek kırmızı pigment konsantrasyonunu 3.73 AU/g olarak, %60 nem oranında elde etmişlerdir. Carvalho ve ark. [29] ise manyok küspesi kullanarak gerçekleştirdikleri katı kültür fermantasyonunda %50'den %90'a değişen başlangıç nem oranlarının pigment sentezi üzerine etkisini incelemiş ve en yüksek kırmızı pigment konsantrasyonunu 25 AU/g olarak %70 başlangıç nem oranında elde etmişlerdir.



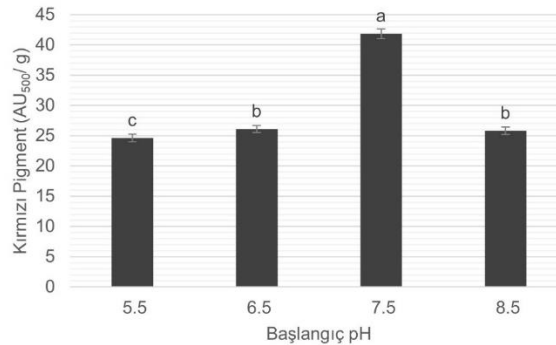
Şekil 3. Başlangıç nem oranlarının kırmızı pigment sentezi üzerine olan etkisi (Fermantasyon koşulları: Başlangıç pH 6.5, 3 mL aşı hacmi, 30°C, 8 gün)

Figure 3. The effect of initial humidity on red pigment synthesis (Fermentation conditions: Initial pH 6.5, 3 mL inoculum volume, 30°C, 8 days)

### Başlangıç pH Değeri

Başlangıç pH'sı, KKF'de metabolik aktiviteyi belirleyen en önemli faktörlerden bir tanesidir [30]. *Monascus* türlerinin düşük pH değerlerinde sarı pigmentleri, daha yüksek pH değerlerinde ise kırmızı pigmentleri yoğun olarak sentezlediği belirtilmektedir [31]. Çalışma kapsamında farklı pH değerlerinin kırmızı pigment sentezi üzerine etkileri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4'te verilmiştir. En yüksek kırmızı pigment konsantrasyonu olan 41.87AU<sub>500</sub>/g değeri, başlangıç pH

7.5 değerinde elde edilmiştir. En düşük kırmızı pigment konsantrasyonu 24.62 AU<sub>500</sub>/g değeri ise başlangıç pH 5.5 değerinde elde edilmiştir. Bu çalışmada, sonraki denemelerde en yüksek pigment sentezinin elde edildiği başlangıç pH 7.5 değeri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara paralel olarak, Babitha ve ark. [15], *Monascus purpureus* LPB 97 mikroorganizmasından substrat olarak Jackfruit tohumu kullanarak gerçekleştirdikleri katı kültür fermantasyonunda bu çalışmayla paralel sonuçlar elde etmiş ve en yüksek kırmızı pigment sentezini başlangıç pH 7.5 ortamında elde etmişlerdir.



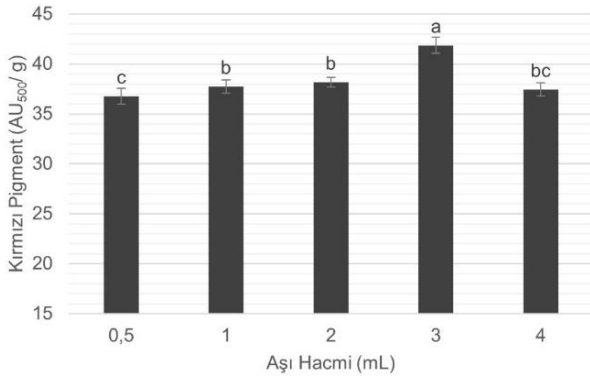
Şekil 4. Farklı başlangıç pH değerlerinin kırmızı pigment sentezi üzerine olan etkisi (Fermantasyon koşulları: Başlangıç nem oranı %85, 3 mL aşı hacmi, 30°C, 8 gün)

Figure 4. The effect of different initial pH values on red pigment synthesis (Fermentation conditions: Initial humidity 85%, 3 mL inoculum volume, 30°C, 8 days)



## Aşı Hacmi

Aşı hacminin pigment üretimine etkisini belirlemek amacıyla,  $1 \times 10^6$  spor/mL konsantrasyonda spor içeren çözelti hazırlanmıştır. Önceki denemelerde en yüksek pigment sentezinin elde edildiği başlangıç pH 7.5 ve %85 nem oranına getirilmiş, 1:4 oranında BMA ve GYT içeren ortamlar farklı hacimlerde aşılanarak fermantasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 5'te verilmiştir. Yapılan denemeler sonucunda en yüksek kırmızı pigment konsantrasyonu olan 41.87 AU<sub>500</sub>/g değeri, 3 mL aşı hacmi kullanılan ortamda elde edilmiştir. En düşük kırmızı pigment konsantrasyonu ise 36.77 AU<sub>500</sub>/g değeriyle 0.5 mL aşı kullanılan ortamda elde edilmiştir. Literatürde yüksek aşı hacimlerinde, besin maddelerinin biyokütle artışı için tüketilmesi ve pigment sentezi için yeterli besin maddesinin ortamda bulunmaması sebebiyle pigment konsantrasyonlarında düşüş görüldüğü ifade edilmektedir. Düşük aşı hacmi kullanılan ortamlarda ise yetersiz mikrobiyal gelişim sebebiyle ürün dönüşümünde azalmalar meydana gelebileceği belirtilmektedir [8, 32]. Babitha ve ark. [33], *Monascus* sp. ile gerçekleştirdikleri katı kültür fermantasyonunda farklı aşı hacimlerinin kırmızı pigment sentezi üzerine etkisini incelemişler ve bu çalışmaya paralel olarak en yüksek kırmızı pigment konsantrasyonu olan 25.45 OD/g değerini 3 mL aşı hacmi kullandıkları denemede elde etmişlerdir.



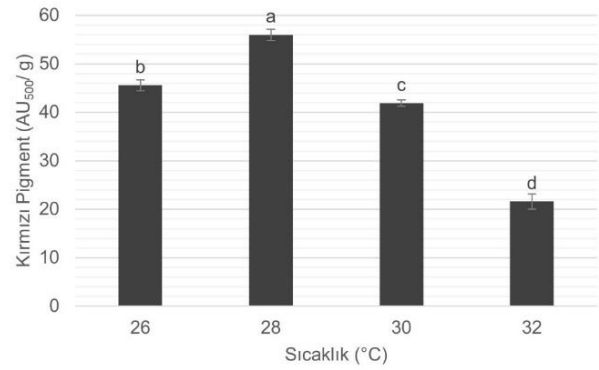
Şekil 5. Farklı aşı hacimlerinin kırmızı pigment sentezi üzerine olan etkisi (Fermantasyon koşulları: Başlangıç nem oranı %85, başlangıç pH 7.5, 30°C, 8 gün)

*Figure 5. The effect of different inoculum volumes on red pigment synthesis (Fermentation conditions: Initial humidity 85%, initial pH 7.5, 30°C, 8 days)*

## İnkübasyon Sıcaklığı

İnkübasyon sıcaklığı, mikrobiyal gelişim, enzim sentezi ve sekonder metabolit sentezi gibi süreçleri etkileyen önemli bir faktördür ve mikrobiyal gelişim ve ürün dönüşümü için gerekli optimum sıcaklıklar farklılık gösterebilmektedir [34, 35]. Genellikle pigment sentezi için *Monascus* spp. ile gerçekleştirilen çalışmalarda 25 ve 30°C arasında sıcaklık değerleri kullanılmaktadır. Çalışma kapsamında kullanılan inkübasyon sıcaklıkları ve elde edilen sonuçlar Şekil 6'da gösterilmiştir. Buna göre; en yüksek kırmızı pigment konsantrasyonu olan 55.99 AU<sub>500</sub>/g değeri 28°C sıcaklıkta, en düşük kırmızı

pigment konsantrasyonu olan 21.59 AU<sub>500</sub>/g değeri ise 32°C sıcaklıkta elde edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar fermantasyon sıcaklığının pigment sentezi üzerinde önemli etkisi olduğunu göstermekte olup, 28°C 'nin üzerindeki sıcaklıklarda fermantasyon ortamında buharlaşmaya bağlı nem oranının azalması sebebiyle pigment sentezinin de azaldığı düşünülmektedir. İnkübasyon sıcaklığının pigment sentezi üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, Dikshit ve ark. [18], 28°C- 30°C aralığında en yüksek pigment sentezini elde etmişlerdir. Nimnoi ve ark. [25] ve Babitha ve ark. [33], *Monascus* türleri ile katı kültür fermantasyonunda gerçekleştirdikleri çalışmalarda, 25°C ve 30°C inkübasyon sıcaklıklarını kullanarak pigment sentezi gerçekleştirmişler ve en yüksek kırmızı pigment sentezini 30°C inkübasyon sıcaklığında elde etmişlerdir.

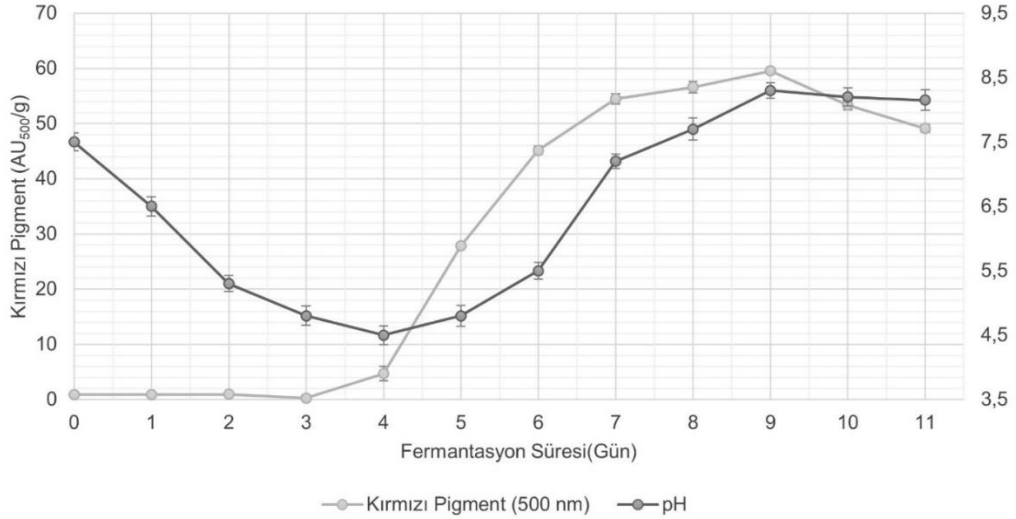


Şekil 6. Farklı inkübasyon sıcaklıklarının kırmızı pigment sentezi üzerine olan etkisi (Fermantasyon koşulları: Başlangıç nem oranı %85, başlangıç pH 7.5, 3 mL aşı hacmi, 8 gün)

*Figure 6. The effect of different incubation temperatures on red pigment synthesis (Fermentation conditions: Initial humidity 85%, initial pH 7.5, 3 mL inoculum volume, 8 days)*

## Pigment Üretim Kinetiği

Katı kültür fermantasyonu ile *Monascus* türleri kullanılarak yapılan çalışmalar incelendiğinde en yüksek pigment konsantrasyonunun fermantasyon ortamına ve mikroorganizmaya bağlı olarak farklı sürelerde elde edilebileceği görülmüştür [29, 30, 36]. Zamana bağlı pigment sentezinin belirlenmesi amacıyla 5 gram 1:4 (g/g) oranında karıştırılmış BMA:GYT ortamı substrat olarak kullanılarak, optimum koşullar olan başlangıç pH 7.5 ve %85 başlangıç nem oranında fermantasyon ortamları hazırlanmıştır. 3 mL aşı hacmi kullanılarak 28°C'de, statik koşullarda, 11 gün süreyle fermantasyon süreci takip edilmiş, pigment oluşumu ve pH gelişimi incelenmiştir. Elde edilen veriler Şekil 7'de paylaşılmıştır. Kırmızı pigment konsantrasyonundaki artış fermantasyonun 4. gününde başlamıştır. En yüksek kırmızı pigment konsantrasyonu olan 59.55 AU<sub>500</sub>/g değeri ise fermantasyonun 9. gününde elde edilmiştir. Fermantasyonun 9. gününden sonra pigment konsantrasyonundaki düşüşün pigment yapısında gerçekleşen ayrışma, farklı bileşenlere dönüşüm veya oksidasyon sebebiyle gerçekleştiği düşünülmektedir.



Şekil 7. 1:4 (g/g) oranında karıştırılmış bira mayşe atığı ve gofret yaprağı tozu (BMA: GYT) kullanılarak gerçekleştirilen 11 günlük fermantasyon takibi (Fermantasyon koşulları: Başlangıç nem oranı %85, başlangıç pH 7.5, 3 mL aşı hacmi, 28°C, 11 gün)

Figure 7. Eleven days fermentation follow-up using 1:4 (g/g) mixed beer mash waste and wafer leaf powder (BMA: GYT) (Fermentation conditions: Initial humidity 85%, initial pH 7.5, 3 mL inoculum volume, 28°C, 11 days)

Metabolik aktivite ve organik asit üretimine bağlı olarak ilk 4 gün içerisinde ortam pH'sının pH 4.5 değerine kadar düştüğü, devam eden süreçte ise aminoasitlerin *M. purpureus* tarafından deaminasyonu ve amonyak açığa çıkması sonucunda pH değerinde artış gözlemlenmiştir [37, 38].

Literatürde *Monascus* türleri ile kırmızı pigment sentezi gerçekleştirilmiş bazı çalışmalar ve sonuçları Tablo 1'de paylaşılmaktadır. Kullanılan substrat ve fermantasyon koşullarına bağlı olarak pigment konsantrasyonları değişkenlik göstermektedir ve en yüksek kırmızı pigment konsantrasyonları, *Monascus* pigmentleri için Uzak Doğu'da geleneksel olarak kullanılan piriç

substratında elde edilmektedir. Pirincin *Monascus* türleri gelişimi ve pigment sentezi için oldukça uygun bir substrat olduğu birçok araştırmacı tarafından ifade edilmektedir [2,29]

Bu çalışma, katı kültür fermantasyon tekniği ile *Monascus* pigmenti üretiminde, substrat olarak piriç veya ilave karbon kaynağı kullanılanlar dışında en yüksek pigment konsantrasyonunun elde edildiği çalışmalardan bir tanesidir. Ayrıca fermantasyon ortamında ilave besin elementlerinin kullanılmaması, proses ekonomisi ve çevre kirliliği açısından bir avantaj olarak ortaya çıkmaktadır.

Tablo 1. Katı kültür fermantasyon yöntemi ile *Monascus* suşları kullanılarak kırmızı pigment sentezinin gerçekleştirildiği çalışmalar

Table 1. Studies in which red pigment synthesis was carried out using the solid culture fermentation method and *Monascus* strains

Mikroorganizma	Substrat	Fermantasyon yöntemi	Kırmızı pigment konsantrasyonu	Referans
<i>Monascus</i> sp., LPB-31	Piriç	KKF	216 AU/g	[29]
<i>Monascus sanguineus</i> NFCCI 2453	Piriç	KKF	143.3 ODU/gds	[39]
<i>Monascus purpureus</i> AS3.531	Piriç	KKF	112.2 U/g	[40]
<i>Monascus purpureus</i> CMU001	Mısır unu + %8 glikoz	KKF	129.63 U/g	[25]
<i>Monascus purpureus</i>	Sorgum tanesi	KKF	59.7 AU/g	[41]
<i>Monascus purpureus</i> KACC 42430	Mısır koçanı	KKF	25.42 OD Unit/ g	[30]
<i>Monascus purpureus</i> MTCC 369	Patates kabuğu tozu ve bezelye tanesi	KKF	9.57 CVU/g	[22]
<i>Monascus</i> sp. KJR2	Durian meyvesi tohumu	KKF	8.11 AU/g	[28]
<i>Monascus purpureus</i> CMU001	Bira mayşe atığı ve gofret yaprağı tozu	KKF	59.55 AU/g	Bu çalışma

## SONUÇ

Günümüzde gerek tarım gerek gıda işleme alanlarında artan su tüketiminin ve küresel bir sorun haline gelen su kıtlığının önlenmesi adına farklı yaklaşımlar geliştirilmesi gerekliliği, düşük su ve enerji ihtiyacı gibi avantajları bulunan ve temelleri çok eskiye dayanan katı kültür fermantasyonunun biyoteknolojik proseslerde kullanılmasının önünü açmaktadır. Çalışma kapsamında gıda atıklarından değerli bir ürün olan *Monascus* pigmenti üretimi katı kültür fermantasyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda 1:4 oranında (g/g) bira mayşe atığı ve atık gofret yaprağı substrat olarak, hiçbir ilave besin maddesi içermeyen saf su ise nemlendirme sıvısı olarak kullanılmıştır. Çalışma kapsamında kırmızı *Monascus* pigment sentezi için belirlenen optimum koşullar olan %85 başlangıç nem oranı, 7.5 başlangıç pH, 3mL aşı hacmi ( $1 \times 10^6$  spor/mL) ve 28°C inkübasyon sıcaklığında fermantasyon gerçekleştirilmiştir. En yüksek kırmızı pigment konsantrasyonu olan 59.55 AU<sub>500</sub>/g değerine fermantasyonun 9. gününde ulaşılmıştır. İlave besin ögesi ve mineral çözeltisi kullanılmadan elde edilen sonuç mevcut ortamın *Monascus* pigmenti sentezi için uygunluğunun bir göstergesidir. Bira mayşe atığı ve atık gofret yaprağının pigment sentezinde ilk defa beraber kullanıldığı bu araştırmanın, gelecekte yapılacak çalışmalara ve pilot ölçekli üretimlere ışık tutması beklenmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: FYL-2019-21067). Çalışma kapsamında kullanılan gofret yapraklarını temin eden Tören Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş. ve bira mayşe atığını temin eden Türk Tuborg Bira ve Malt Sanayi A.Ş.'ye çalışmaya verdikleri desteklerden ötürü teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Venil, C.K., Yusof, N.Z., Aruldass, C.A., Ahmad, W.A. (2017). Microbial Pigment Production Utilizing Agro-industrial Waste and Its Applications. In *Biopigmentation and biotechnological implementations*, Edited by O. Singh, Wiley, Hoboken, 279p.
- Manan, M., Mohamad, R., Ariff, A. (2017a). *Monascus* spp: A source of natural microbial color through fungal biofermentation. *Journal of Microbiology and Experimentation*, 3(5), 00148.
- Chen, W., He, Y., Zhou, Y., Shao, Y., Feng, Y., Li, M., Chen, F. (2015). Edible filamentous fungi from the species *Monascus*: Early traditional fermentations, modern molecular biology, and future genomics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 555-567.
- Feng, Y., Shao, Y., Chen, F. (2012). *Monascus* pigments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96, 1421-1440.
- Babitha, S. (2009). Microbial Pigment. In *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation*, Edited by P. Singh nee' Nigam, A., Pandey, Springer, Dordrecht, 466p.
- Panesar, R., Kaur, S., Panesar, P. (2015). Production of microbial pigments utilizing agro-industrial waste: a review. *Current Opinion in Food Science*, 1, 70-76.
- Manan, M., Webb, C. (2017b). Design aspects of solid state fermentation as applied to microbial bioprocessing. *Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering*, 4(1), 511-532.
- Sadaf, A., Kumar, S., Nain, L., Khare, S. (2021). Bread waste to lactic acid: Applicability of simultaneous saccharification and solid state fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 32, 101934.
- Atalay, P., Göksungur, Y., Altınay Perendeci, N. (2020). Bira Atıkları ve Değerlendirme Yöntemleri. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik ve Bilim Dergisi*, 26(7), 1257-1266.
- Cooray, S., Chen, W. (2018). Valorization of brewer's spent grain using fungi solid-state fermentation to enhance nutritional value. *Journal of Functional Foods*, 42, 85-94.
- Xiros, C., Christakopoulos, P. (2012). Biotechnological potential of brewers spent grain and its recent applications. *Waste and Biomass Valorization*, 3(2), 213-232.
- Tiefenbacher, K., Wrigley, C. (2016). Wafers: Methods of Manufacture. In *Encyclopedia of Food Grains*, Edited by C. Wrigley, H. Corke, K. Seetharaman, J. Faubion, Academic Press, Cambridge, 1976p.
- Rusin, J., Kasakova, K., Chamradova, K. (2015). Anaerobic digestion of waste wafer material from the confectionery production. *Energy*, 85, 194-199.
- Silbir, S., Goksungur, Y. (2019). Natural red pigment production by *Monascus purpureus* in submerged fermentation systems using a food industry waste: Brewer's spent grain. *Foods*, 8(5), 161.
- Babitha, S., Soccol, C., Pandey, A. (2006). Jackfruit seed-A novel substrate for the production of *Monascus* pigments through solid-state fermentation. *Food Technology and Biotechnology*, 44(4), 465-471.
- Carvalho, J., Oishi, B., Pandey, A., Soccol, C. (2005). Biopigments from *Monascus*: strain selection, citrinin production and color stability. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 885-894.
- Gomah, N., Abdel-Raheem, H. (2017). Stability and components identification of *Monascus ruber's* pigments. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 8(1), 31-36.
- Dikshit, R., Tallapragada, P. (2011). *Monascus purpureus*: A potential source for natural pigment production. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 1(4), 164-174.
- Ooijkaas, L., Weber, F., Buitelaar, R., Tramper, J., Rinzema, A. (2000). Defined media and inert supports: their potential as solid-state fermentation production systems. *Trends in Biotechnology*, 18(8), 356-360.
- Thomas, L., Larroche, C., Pandey, A. (2013). Current developments in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 81, 146-161.

- [21] Srianta, I., Zubaidah, E., Estiasih, T., Yamada, M., Harijono. (2016). Comparison of *Monascus purpureus* growth, pigment production and composition on different cereal substrates with solid state fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7, 181-186.
- [22] Sehrawat, R., Panesar, R., Panesar, P., Kumar, A. (2017). Biopigment produced by *Monascus purpureus* MTCC 369 in submerged and solid state fermentation: a comparative study. *Pigment and Resin Technology*, 46(6), 425-432.
- [23] Mitchell, D., Berovic, M., Krieger, N. (2000). Biochemical engineering aspect of solid state bioprocessing. *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*, 68, 61-138.
- [24] Shi, K., Song, D., Chen, G., Pistolozzi, M., Wu, Z., Quan, L. (2015). Controlling composition and color characteristics of *Monascus* pigments by pH and nitrogen sources in submerged fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 120(2), 145-154.
- [25] Nimnoi, P., Lumyong, S. (2011). Improving solid-state fermentation of *Monascus purpureus* on agricultural products for pigment production. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1384-1390.
- [26] Singh nee' Nigam, P. (2009). Production of Bioactive Secondary Metabolites. In *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation*, Edited by P. Singh nee' Nigam, A. Pandey, Springer, Dordrecht, 466p.
- [27] Krishna, C. (2005). Solid-state fermentation systems-An overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25(1-2), 1-30.
- [28] Srianta, I., Hendrawan, B., Kusumawati, N., Blanc, P. (2012). Study on durian seed as a new substrate for angkak production. *International Food Research Journal*, 19(3), 941-945.
- [29] Carvalho, J., Oishi, B., Woiciechowski, A., Pandey, A., Babitha, S., Soccol, C. (2007). Effect of substrates on the production of *Monascus* biopigments by solid-state fermentation and pigment extraction using different solvents. *Indian Journal of Biotechnology*, 6(6), 194-199.
- [30] Velmurugan, P., Hur, H., Balachandar, V., Kamala-Kanan, S., Lee, K., Lee, S., Chae, J., Shea, P.J., Oh, B. (2011). *Monascus* pigment production by solid-state fermentation with corn cob substrate. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 112(6), 590-594.
- [31] Chen, G., Wu, Z. (2016). Production and biological activities of yellow pigments from *Monascus* fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(8):136.
- [32] Lee, B., Piao, H., Chung, W. (2002). Production of Red Pigments by *Monascus purpureus* in solid-state culture. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 7, 21-25.
- [33] Babitha, S., Soccol, C., Pandey, A. (2007). Solid-state fermentation for the production of *Monascus* pigments from jackfruit seed. *Bioresource Technology*, 98(8), 1554-1560.
- [34] Kumar, V., Ahluwalia, V., Saran, S., Kumar, J., Kumar Patel, A., Rani Singhania, R. (2020). Recent developments on solid-state fermentation for production of microbial secondary metabolites, challenges and solutions. *Bioresource Technology*, 323, 124566.
- [35] Gowthaman, M., Krishna, C., Moo-Young, M. (2001). Fungal solid state fermentation-an overview. In *Agriculture and Food Productions*, Edited by G. Khachatourians, D. Arora, Elsevier, The Netherlands, 448p.
- [36] Danuri, H. (2008). Optimizing angkak pigments and lovastatin production by *Monascus purpureus*. *HAYATI Journal of Biosciences*, 15(2), 61-66.
- [37] Şilbir, M. (2019). *Bira atığından Monascus renk pigmentleri üretimi ve stabilitesinin belirlenmesi*. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir.
- [38] Yoon, L., Ang, T., Ngoh, G., Chua, A. (2014). Fungal solid-state fermentation and various methods of enhancement in cellulase production. *Biomass and Bioenergy*, 67, 319-338.
- [39] Kumar Shetty, A., Dave, N., Murugesan, G., Pai, S., Pugazhendhi, A., Varadavenkatesan, T., Vinayagam, R., Selvaraj, R. (2021). Production and extraction of red pigment by solid-state fermentation of broken rice using *Monascus sanguineus* NFCCI 2453. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33, 101964.
- [40] Zhang, L., Li, Z., Dai, B., Zhang, W., Yuan, Y. (2013). Effect of submerged and solid-state fermentation on pigment and citrinin production by *Monascus purpureus*. *Acta Biologica Hungarica*, 64(3), 385-394.
- [41] Srianta, I., Harijono, H. (2015). *Monascus*-fermented sorghum: pigments and monacolin K produced by *Monascus purpureus* on whole grain, dehulled grain and bran substrates. *International Food Research Journal*, 22(1), 377-382.

## Yağ Türünün Bir Fonksiyonu Olarak Lesitin Adsorbe Edilmiş Yağ/Su Emülsiyonlarının Ara Yüzey Reolojik Özellikleri

Duygu Aslan Türker<sup>1</sup> , Meryem Göksel Saraç<sup>2</sup> , Mahmut Doğan<sup>1,3</sup>  ✉

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri

<sup>2</sup>Cumhuriyet Üniversitesi, Yıldızeli Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Programı, Sivas

<sup>3</sup>TAGEM Gıda Analiz Merkezi San. Tic. Ltd. Şti., Erciyes Teknopark, Kayseri

*Geliş Tarihi (Received): 06.10.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 30.05.2021*

✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): dogan@erciyes.edu.tr (M. Doğan)*

☎ 0 352 207 66 66 📠 0 352 437 57 84

### ÖZ

Bu çalışmada stabil emülsiyonların oluşturulması için önemli bir faktör olan farklı yağ çeşitlerinin emülsiyon oluşturma olanakları incelenmiştir. Bu amaçla mısır yağı, soya yağı ve zeytinyağı kullanılarak %1 oranında lesitin içeren emülsiyonlar hazırlanmıştır. Emülsiyonların karakterizasyonunu gerçekleştirmek amacıyla emülsiyonların fizikokimyasal ve emülsifikasyon özellikleri ile reolojik ve yağ/su katmanındaki ara yüzey (interfacial) reolojik özellikleri belirlenmiştir. Elde edilen bulgular, farklı kaynaklardan elde edilen yağların emülsiyonların reolojik özelliklerinde önemli farklılıklar meydana getirdiğini göstermiştir. En düşük görünür viskozite ( $\eta_{50}$ ) değeri soya yağı ile hazırlanan emülsiyonlarda kaydedilmiştir. Farklı yağların kullanılması emülsiyonların kıvam katsayısı ve  $\eta_{50}$  değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim meydana getirmiştir. Emülsiyonların ara yüzey reolojik özellikleri incelendiğinde zeytinyağı ile hazırlanan emülsiyonlarda daha zayıf bir ara yüzey filminin oluştuğu gözlenmiştir. Farklı yağlarla hazırlanan emülsiyonlar birbiri ile kıyaslandığında ise soya yağı ile hazırlanan emülsiyonların kompleks viskozite ( $\eta_i^*$ ) değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında, emülsiyonlarda kullanılan farklı yağların yağ/su (Y/S) emülsiyonlarının ara yüzeyini etkilediği ve termodinamik olarak daha dayanıklı emülsiyonların oluşturulabilmesi için emülsiyonların sürekli fazı içerisinde kullanılan yağların ara yüzey özelliklerinin dikkate alınması gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Ara yüzey reolojisi, Emülsiyon, Reoloji, Lesitin, Yağ

### Interfacial Viscoelastic Properties of Lecithin-Adsorbed Oil/Water Emulsions as a Function of Oil Type

#### ABSTRACT

In this study, the emulsification potential of various oil types, which is an important factor for the formation of stable emulsions, was determined. For this purpose, emulsions containing 1% lecithin were prepared using corn oil, soybean oil and olive oil. In order to characterize the emulsions, physicochemical and emulsification properties, rheological and interfacial rheological properties in the oil / water layer were determined. Results have shown that oils of different sources lead significant changes in the rheological properties of emulsions. The lowest apparent viscosity ( $\eta_{50}$ ) value was found in emulsions with soybean oil. The use of different oils caused statistically significant changes in the consistency coefficients and  $\eta_{50}$  values of emulsions. When the interface rheological properties of emulsions were considered, it was found that a weaker interfacial film was formed in emulsions with olive oil. When emulsions with different oils were compared with each other, it was found that the complex viscosity ( $\eta_i^*$ ) values of emulsions with soybean oil were higher. Within the scope of the study, it was concluded that different oils used in emulsions

influenced the interfacial properties of oil/water (O/W) emulsions and that the interfacial properties of oils used in the continuous phase of emulsions should be taken into account in order to form thermodynamically stable emulsions.

**Keywords:** Interfacial rheology, Emulsion, Rheology, Lecithin, Oil

## GİRİŞ

Emülsiyonlar, birbiri içerisinde çözünmeyen iki veya daha fazla sıvıdan oluşan homojen görünümlü dispers yapılarıdır [1, 2]. Emülsiyon ortamında temelde su, yağ ve iki fazın yüzey gerilimini azaltan emülgatör bulunmaktadır [3]. Bilindiği üzere emülgatörler birbiri içerisinde çözünmeyen yağ ve su gibi arayüzlerde gerilimi azaltarak oluşan emülsiyon yapısının korunmasını sağlamaktadır. Bu nedenle homojenizasyon sürecinde kullanılan emülgatör çeşidi ve özellikleri emülsiyon yapısını, damlacık boyutunu, stabilitesini ve reolojik özelliklerini etkilemektedir [4, 5]. Emülgatör seçiminde arayüzde oluşan yüzey gerilimi azaltmak ve bozulmuş yağ ve su damlacıklarının geri birleşmesini önlemek için hızla adsorbe olan, faz ayrımı ve kümeleşme oluşturmeyen, kullanımı güvenilir ve ekonomik emülgatörler tercih edilmektedir [4, 6].

Öte yandan emülsiyon formda ürünlerin bulunduğu gıda, kozmetik, eczacılık, tekstil ve kimya alanları başta olmak üzere birçok sektörde emülgatörler yaygın olarak kullanılmaktadır [7]. Yüksek kaliteli ve kararlı emülsiyon sistemleri spesifik gıda uygulamaları için gereklidir. Dolayısıyla bu tarz ürünlerin elde edilmesi uygun emülsifiye edici ve stabilize edici özelliklere sahip emülgatörlerin tanımlanmasına bağlıdır [4, 8, 9]. Emülgatörler içerisinde lesitin geniş kullanım alanı bulan emülsifiye edici katkı maddelerinden biridir. Lesitin genel olarak yumurta ve soya gibi farklı organik yapılardan elde edilebilmektedir ve lipit yapısında fosfor bulunmaktadır [10]. Lesitin yenilebilirliği ve alerjen olmaması nedeniyle gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde emülgatör olarak tercih edilmektedir. Ticari üretiminde ise soya, ayçiçeği ve kolza kullanılsa da endüstriyel olarak ana kaynak soyadır [11]. Öte yandan zwitter-iyonik bir yüzey aktif madde olması nedeniyle doğal emülgatörler içerisinde en etkili olan biri olarak tanımlanmaktadır [12]. Lesitin gıda sektöründe fırıncılık ürünlerinde, çikolata, sakız ve şekerlemelerde, dondurmalarda ve hazır gıdaların içerisinde emülgatör olarak kullanılsa da [13] özellikle hidrofilik özellik gösteren şeker kristal yüzeyini etkileyerek viskoziteyi düşürdüğü için çikolata ve çikolata kaplamaları üretim tesislerinde tercih edilmektedir [14].

Emülsiyonların yağ fazını, çeşitli aromatik yağlar, terpenler ve bitkisel yağlar oluştururken ve su fazını ise bazı işlevsel hidrokolloidlerin çözeltisinden oluşan yapılar oluşturur [15]. Yağ/su emülsiyonlarının yağ fazı, yağ damlacıkları ile su ortamı arasındaki özgül ağırlık farkından dolayı genel olarak kararlı bir özellik sergilemektedir. Bitkisel yağ ile hazırlanan emülsiyonlara, bir takım mekanik işlemler ile homojen bir yapı kazandırılabilir de yağ ve su fazı arasındaki özgül ağırlıktaki farklılık emülsiyonlarda kararsızlığa, son ürünün raf ömrünün azalmasına ve kalite kayıplarına

neden olmaktadır [16]. Bu nedenle emülsiyonların yağ fazının oluşturulması için kullanılan yağların kompozisyonel ve fizikokimyasal özelliklerinin farklılaşması emülsiyonların stabilitesi, reolojik özellikleri ve ara yüzey özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir. Ara yüz reolojisi reolojik ölçümleri su-yağ ve su-hava ara yüzlerinde yapıda bulunan maddelerin akış davranışını inceleyen reoloji alanıdır. Ara yüzey reoloji ölçümlerinde dilatasyon ve kayma reolojisi olmak üzere iki farklı ölçüm tekniği kullanılmaktadır [17, 18]. Su ve yağ ara yüzeyinde oluşan etkiler hakkında bilgi verildiği için gıdalarda emülsiyon özelliklerinin değerlendirilmesinde son dönemlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca arayüz reolojisi emülsiyon yapılarının raf ömrü süreçlerinde stabilizasyon göstergesi olarak nitelendirilmektedir [19].

Literatürde lesitin ve emülsiyon ortamlarda oluşturduğu etkiler üzerine oldukça fazla çalışma bulunmaktadır fakat arayüzey özellikleri ve arayüzey reolojisi hakkında çalışmalar sınırlıdır. Yapılan araştırmalar neticesinde karvakrol içeren nanoemülsiyonlarda lesitin ve tween 20 emülgatörünün ara yüzey ve emülsiyon özelliklerinin [20], suda çözünür proteinler ve lesitin arayüzey gerilimi ve emülsiyon özelliklerinin [21] ve farklı tuz çeşitleri ile lesitin arayüzey, reolojik ve emülsiyon özelliklerinin [22] incelendiği çalışmalara rastlanmıştır. Gıda emülsiyonlarında genellikle düşük oranlarda emülgatörler kullanılmaktadır. Emülsiyon oluşturma mekanizması fiziksel etki ile damlacık boyutu küçültme ve emülgatör ilavesi ile ara yüz geriliminin azaltılması şeklinde açıklansa da emülsiyon ortamında bulunan yağ ve emülgatör değişimlerinin ara yüzde oluşturduğu etkiler açık değildir. Bu nedenle çalışmamızda soya, mısır ve zeytinyağı değişiminin yağ-su ara yüzeyinde lesitin varlığında oluşturduğu etkiler ve farklı yağ kaynakları ile oluşturulan emülsiyonların fizikokimyasal ve reolojik özellikleri incelenmiştir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Farklı yağların emülsiyonların su/yağ ara yüzeyinde meydana getirdiği değişimin incelendiği çalışmada mısır yağı (Kristal, İzmir, Türkiye), soya yağı (Sofra, İstanbul, Türkiye) ve zeytinyağı (Marmarabirlik Naturel Sızma Zeytinyağı, Bursa) kullanılmıştır. Araştırmada emülsiyonların oluşturulması için soya lesitini (E322) (Tito, Smart Kimya Tic. ve Dan. Ltd. Şti., Çiğli, İzmir) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup, örneklerin hazırlanmasında distile su kullanılmıştır.

### Emülsiyonların Hazırlanması

Araştırmada kullanılan emülsiyonların hazırlanması için %1 oranında lesitin, 50 mL yağ ve 50 mL su içeren

emülsiyonlar hazırlanmıştır. Emülsiyon oluşumu ultraturaks (IKA, T25, Almanya) 9500 rpm'de 5 dakika karıştırılarak örneklerin homojenizasyonu sağlanmıştır.

### Fizikokimyasal Analizler

Araştırma kapsamında hazırlanan emülsiyonların pH değerleri Ohaus marka (Ohaus, Şangay, Çin) pH metre ile iletkenlik değerleri ise elektriksel iletkenlik probuna sahip Hach HQ 40 D (Hach Co., Loveland, CO, ABD) model kondüktometre ile belirlenmiştir. Emülsiyonlar ve emülsiyonların oluşturulmasında kullanılan bitkisel yağların  $L^*$  (parlaklık, 0 (siyah), 100 (beyaz))  $a^*$  (- yeşil, + kırmızı) ve  $b^*$  (- mavi, + sarı) değerleri renk tayin cihazı (Konica-Minolta, CR400, Japonya) kullanılarak kaydedilmiştir.

### Kremalaşma İndeksi Tayini

Emülsiyonların kremalaşma indeksi değerlerinin belirlenmesi için örnekler 10 mL göstergeli 1.5 cm iç çap x 12 cm yüksekliğe sahip cam tüplere alınarak +4°C'de 14 gün süre ile izlenip 1., 7. ve 14. günlerde toplam emülsiyon yüksekliği ( $H_t$ ) ve toplam serum yüksekliği ( $H_s$ ) değerleri kaydedilmiştir. Emülsiyonların kremalaşma indeksi değerleri aşağıda verilen formül aracılığıyla hesaplanmıştır [23].

$$\text{Kremalaşma indeksi} = \frac{H_s}{H_t} \times 100 \quad (1)$$

### Yatışkın Hal Reolojik Özellikler

Hazırlanan emülsiyon örneklerinin akış davranış özellikleri ile görünür viskozite değerleri peltierli ve kesme kontrollü reometre (Haake Mars III, Karlsruhe, Almanya) ile belirlenmiştir. Reolojik akış özelliklerinin belirlenmesinde plaka-plaka konfigürasyonu (plaka çapı: 35 mm) kullanılmış ve plakalar arası mesafe 1.0 mm olacak şekilde ayarlanmıştır. Ölçümler 25°C'de gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan emülsiyonlar kabarcık oluşmamasına özen gösterilerek mikropipet aracılığıyla 1 mL olacak şekilde plaka üzerine yerleştirilmiş ve 0.1-100 s<sup>-1</sup> kesme hızında toplam 25 adet veri alınmıştır. Verilerin elde edilmesinde RheoWin Data Pro yazılımı, veri analizinde ise RheoWin Data Manager yazılımı kullanılmıştır. Elde edilen veriler aşağıda formülü verilen Ostwald de Waele modeli ile açıklanmıştır.

$$\sigma = K\gamma^n \quad (2)$$

Tablo 1. Emülsiyonların fizikokimyasal özellikleri

**Table 1. Physicochemical properties of emulsions**

Yağ Türü	pH	İletkenlik (µs/cm)	Renk Değerleri (CIELAB)		
			$L^*$	$a^*$	$b^*$
Soya Yağı	4.16±0.01 <sup>c</sup>	470.00±2.00 <sup>a</sup>	71.63±0.34 <sup>c</sup>	-1.59±0.45 <sup>b</sup>	4.52±0.23 <sup>c</sup>
Mısır Yağı	6.37±0.01 <sup>a</sup>	185.40±0.60 <sup>b</sup>	87.15±0.01 <sup>a</sup>	-0.50±0.01 <sup>a</sup>	13.33±0.10 <sup>b</sup>
Zeytin Yağı	6.22±0.01 <sup>b</sup>	178.50±0.75 <sup>c</sup>	81.60±0.02 <sup>b</sup>	-0.64±0.03 <sup>a</sup>	19.72±0.09 <sup>a</sup>

\*Aynı sütundaki farklı küçük harfle belirtilen değerlerin istatistiksel olarak önemli ölçüde farklı olduğunu belirtmektedir. p<0.05. ortalama±;standart sapma

En yüksek pH mısır yağı ile hazırlanan emülsiyonlarda en düşük pH ise soya yağı ile hazırlanan emülsiyonlarda belirlenmiştir. pH değişiminde karşılaşılan bu farklılığın

Buradaki eşitlikte  $\sigma$  kesme stresini (Pa),  $\gamma$  kesme hızını (s<sup>-1</sup>), K kıvam katsayısını (Pa.s<sup>n</sup>) ve n akış davranış indeksini (birimsiz) ifade etmektedir.

50 s<sup>-1</sup> kesme hızı ağızda hissedilen viskozite olarak tanımlanmaktadır. Analiz sonuçları değerlendirilirken görünür viskozite değerleri cihaz yazılımı sayesinde elde edilen veriler ışığında 50 s<sup>-1</sup> kesme hızına karşılık gelen değerler olarak kabul edilmiştir

### Ara Yüzey (Interfacial) Reolojik Özellikler

Farklı kaynaklardan elde edilen yağların yağ/su (Y/S) emülsiyonlarının ara yüzeyinde gösterdikleri etkinin belirlenebilmesi için ara yüzey reolojik özellikleri çalışılmıştır. Çalışmada peltier sistemine sahip reometre (Haake Mars III, Karlsruhe, Almanya) ve ara yüzey probu (BiCone 68/5Ti) kullanılmıştır. Analiz için cihaz ve prob kalibrasyonları gerçekleştirildikten sonra yoğunluğu fazla olan sıvı fazı belirlenen aralığa kadar doldurulup  $F_n$  ve  $h$  değerleri ile her bir analizde tekrarlanarak ideal gap aralığı belirlenmiştir. Emülsiyonların ara yüzey reolojik özellikleri dinamik titreşimli kayma ve yatışkın hal ara yüzey özelliklerinin belirlenmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Dinamik titreşimli kayma ara yüzey özellikleri frekans tarama testi ile  $\gamma$  %0.1 doğrusal bölge değerinde  $\omega$  0.1–10 rad s<sup>-1</sup> aralığında belirlenmiştir [24].

### İstatistiksel Analiz

Emülsiyon örneklerinin analizleri 2 tekrar ve 3 paralel olarak yapılmış, sonucu elde edilen veriler varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiş ve ortalamalar arası farklılıklar Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi ile %5 güven aralığında belirlenmiştir. İstatistiksel çalışmalar Minitab (Windows Sürüm 18 için Minitab) paket bilgisayar programı ile yürütülmüştür.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

#### Fizikokimyasal Özellikler

Farklı yağ çeşitleri ve lesitin ile hazırlanmış emülsiyonların pH, iletkenlik ve renk değeri sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Yağ değişiminin emülsiyonların pH değerlerinde oluşturduğu etkilerin belirlenmesi için yapılan analiz sonucunda emülsiyonların pH değerleri birbirinden farklı bulunmuştur (p<0.05).

yağların çeşit değişikliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Lesitin ve tuz değişimlerinin ayçiçek yağı-su ara yüzünde oluşturduğu etkilerin belirlendiği bir

çalışmada lesitin ilaveli emülsiyonların pH değerleri 5.63-6.47 aralığında belirlenmiştir [22]. Kato ve ark. [25], emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi hakkında bilgi veren türbidimetrik yöntemler ile benzer sonuçlar elde edilen iletkenlik ölçümünü geliştirmişlerdir. Emülsiyonların iletkenliği, dağılmış fazın hacim fraksiyonundaki küçük değişikliklere duyarlı olduğu için iletkenlik ölçümü emülsiyon kararlılığının göstergesi olarak ifade edilmektedir [26]. Ayrıca yağ damlacıklarının iletkenliği etkilediği düşünülmektedir [27]. Farklı yağlar kullanılarak hazırlanan emülsiyonların elektriksel iletkenlik değerleri soya, mısır ve zeytinyağı emülsiyonları için sırasıyla 470.00, 185.40 ve 178.50  $\mu\text{s/cm}$  olarak belirlenmiştir.

Hazırlanan emülsiyon örneklerinin renk değerleri  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  parametreleri üzerinden incelenmiştir. Renk değerlendirmelerinde, parlaklık  $L^*$  değeri, kırmızı/yeşil renk aralığı  $a^*$  değeri, sarı/mavi renkleri ise  $b^*$  değeri ile ifade edilmektedir. Emülsiyonların hazırlanmasında kullanılan bitkisel yağlardan mısır yağının  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri sırasıyla  $25.74 \pm 0.01$ ,  $0.25 \pm 0.03$  ve  $1.97 \pm 0.01$ ; soya yağının  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri  $25.32 \pm 0.02$ ,  $0.52 \pm 0.01$  ve  $1.67 \pm 0.01$ ; zeytinyağının  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri ise  $25.26 \pm 0.01$ ,  $0.89 \pm 0.02$  ve  $2.29 \pm 0.03$  olarak belirlenmiştir. Farklı yağ örnekleri ile hazırlanmış emülsiyonların  $L^*$  değerleri ise 71.63-87.15 aralığında belirlenmiş ve değerler arasındaki fark istatistik açıdan önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Sonuçlar ışığında emülsiyonlar içerisinde beyaza en yakın mısır yağı ile elde edilen örnek olurken en uzak ürün ise soya yağı ile elde edilen emülsiyon olarak belirlenmiştir. Bir diğer renk kriteri olan  $a^*$  değeri sonuçları incelendiğinde ise mısır ve zeytinyağı ile hazırlanan emülsiyonların arasında istatistik açıdan fark bulunmadığı ( $p > 0.05$ ) soya yağının ise diğer örneklerle göre yeşillik göstergesi değerinde daha önde olduğu belirlenmiştir. Sarı/mavi renk skalasını gösteren  $b^*$  değerinde yağ değişiminin sonuçları önemli derecede etkilediği görülmektedir. Zeytinyağı emülsiyonu 19.72 değeri ile en sarı özellik gösteren emülsiyon olarak belirlenmiştir. Öte yandan mısır yağı 13.33 soya yağı emülsiyonu ise 4.52 değeri ile en düşük  $b^*$  sonucuna sahip olmuştur. Emülsiyonların hazırlanmasında kullanılan yağların  $b^*$  değerleri dikkate alındığında da zeytinyağının en yüksek, soya yağının ise en düşük sarılık değerine sahip olduğu görülmektedir. Bu durumda emülsiyonların bileşiminde kullanılan yağların renk değerlerine bağlı olarak son ürünün renginin değişiklik gösterebileceği sonucuna varılabilir. Fındık ve zeytinyağı ile hazırlanmış emülsiyon örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada yağ çeşidi ve oranı değişiminin  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerini etkilediği belirlenmiştir [28]. Ayrıca lesitin ile hazırlanan emülsiyonlarda tuz ilavesi ve çeşit değişiminin renk değerlerini değiştirdiği belirlenmiştir [22].

### Kremalaşma İndeksi

Kremalaşma indeksi emülsiyonların koalesansa olan duyarlılığı olarak bilinmektedir [29]. Öte yandan emülsiyon formülasyonunun stabilitesini gösterir ve damlacık boyutu ile ilişkilendirilmektedir. Stokes yasasına göre kremalaşma indeksinin azalması emülsiyon stabilitesinin artması ve damlacık boyutunda azalma ile açıklanmaktadır [28–30]. Kremalaşma indeksi

değerinin fazla olması daha büyük topaklar ve kümeleşme oluşumu olarak değerlendirilmektedir [33]. Emülsiyon örneklerinin kremalaşma indeksi değerleri ve görünümleri Şekil 1'de gösterilmektedir. Kremalaşma indeksi değerleri 7. güne kadar artış göstermiştir ve 7 ve 14.gün analiz sonuçları arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Yağ değişimi açısından emülsiyonlar incelendiğinde soya yağının en yüksek kremalaşma indeksi değerleri ve faz ayrımı gösterdiği görülmektedir. Diğer taraftan zeytinyağı ile hazırlanan emülsiyonda en düşük faz ayrımı tespit edilmiştir.

Örneklerin kremalaşma indeksi sonuçları iletkenlik analizi sonuçları ile paralellik göstermektedir. Bu durum ise her iki analizin de emülsiyon stabilitesine dair bilgi verdiğini göstermektedir.

### Yatışkın Hal Reolojik Özellikler

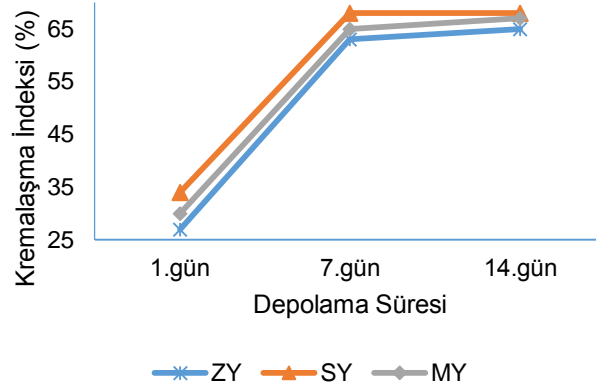
Gıda emülsiyonlarının reolojik değerlendirmeleri damlacık yapılarının anlaşılması, koalesans ve topaklanmaya bağlı raf ömrü belirlenmesi, gıda proses ekipmanlarının seçilmesi ve duyuusal özellikler açısından önemlidir [26, 32]. Bu nedenlerle lesitin varlığında farklı yağlar ile hazırlanan emülsiyonların yatışkın hal reolojik özellikleri değerlendirilmiştir. Şekil 2'de emülsiyonların yatışkın hal (steady state) reolojik özellikleri için kayma gerilmesine karşı çizilen görünür viskozite grafiği görülmektedir.

Emülsiyonların tamamında kesme hızı artışı ile görünür viskozite değerlerinde önce azalma sonrasında ise artış görülmektedir. Kesme hızına karşı viskozitenin ölçümleri damlacıklar arasındaki kolloidal etkileşimin gücü hakkında bilgi verir [28]. Yapılan değerlendirmeler sonucunda emülsiyonların ( $R^2 > 0.99$ ) Oswald-de Waele modeline uygun olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

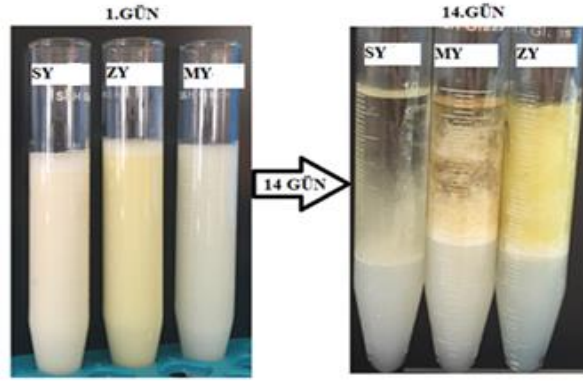
Farklı yağ çeşitleri ile hazırlanan emülsiyonların kıvam katsayısı (K) değerleri incelendiğinde zeytin ve soya yağları ile hazırlanan emülsiyonların K değerleri arasında bir fark olmadığı ( $p > 0.05$ ) öte yandan mısır yağının kıvam katsayısının  $0.003 \text{ Pa.s}^n$  olduğu belirlenmiştir. Akış davranış indeksi ( $n$ ) mısır, soya ve zeytinyağı ile hazırlanmış örneklerde sırasıyla 1.324, 1.344 ve 1.525 olarak belirlenmiştir. Akış davranış indeksinin 1 den fazla olması kayma kalınlaşması olarak tanımlanmaktadır. Diğer taraftan emülsiyonların görünür viskozite değerlerinde en düşük viskozite soya yağında belirlenirken mısır ve zeytinyağının viskozite değerleri 0.013 Pa.s olarak belirlenmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada ayçiçek yağı su ortamında lesitin ile oluşturulan emülsiyonların reolojik analizler sonucunda Oswald-de Waele modeline uyduğu ve yatışkın hal reolojik ölçümlerin tuz ilavesi ve çeşit değişimi ile değiştiği belirlenmiştir. Analiz sonucunda kıvam katsayısı ve görünür viskozite değerlerinin tuz ilavesi ile arttığı belirlenirken, kontrol grubu olan lesitin ilaveli örneklerde viskozite  $0.01 \text{ Pa.s}$  olarak belirlenmiştir [22]. Öte yandan zeytin, fındık, pamuk tohumu, kanola, soya fasulyesi ve ayçiçeği yağının reolojik özelliklerinin incelendiği başka bir makalede soya ve ayçiçeği yağı haricinde diğer yağların viskozitelerin birbirinden farklı olduğu belirlenmiştir [35].





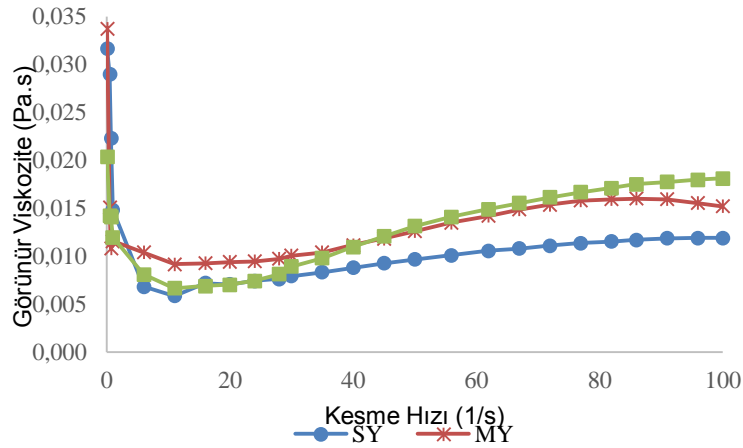
a



b

Şekil 1. Emülsiyon örneklerinin a) kremalaşma indeksi değerleri b) kremalaşma indeksi analizinde 1. ve 14.gün görüntüleri (SY: soya yağı; MY: mısır yağı; ZY: zeytinyağı)

Figure 1. a) Creaming index values of emulsion samples b) 1st and 14th day images of creaming index analysis (SY: soybean oil; MY: corn oil; ZY: olive oil)



Şekil 2. Emülsiyonların yatışkın hal reolojik özellikleri (SY: soya yağı; MY: mısır yağı; ZY: zeytinyağı)

Figure 2. Steady state rheological properties of emulsions (SY: soybean oil; MY: corn oil; ZY: olive oil)

Tablo 2. Emülsiyonların reolojik analiz sonuçları

Table 2. Rheological analysis results of emulsions

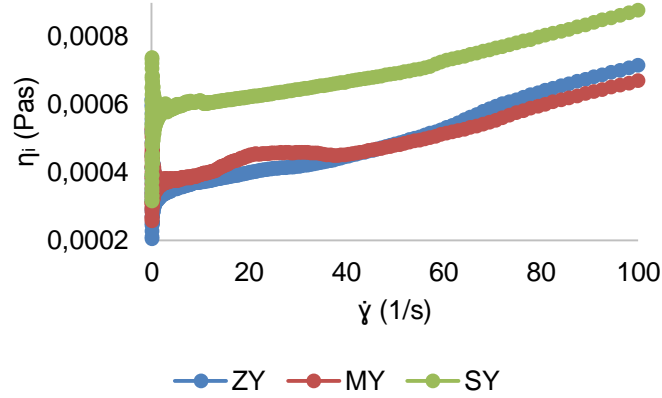
Yağ Türü	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n	R <sup>2</sup>	η <sub>50</sub> (Pa.s)
Zeytin Yağı	0.002±0.00 <sup>c</sup>	1.525±0.00 <sup>a</sup>	0.999±0.02	0.013±0.00 <sup>a</sup>
Mısır Yağı	0.003±0.00 <sup>a</sup>	1.324±0.01 <sup>b</sup>	0.997±0.01	0.013±0.02 <sup>a</sup>
Soya Yağı	0.002±0.00 <sup>b</sup>	1.344±0.03 <sup>b</sup>	1.000±0.00	0.010±0.02 <sup>b</sup>

\*Aynı sütundaki farklı küçük harfle belirtilen değerlerin istatistiksel olarak önemli ölçüde farklı olduğunu belirtmektedir. p<0.05. ortalama±;standart sapma

### Ara Yüzey Reolojik Özellikler

Emülsiyonlar, birbiri içinde çözünmeyen iki sıvının birbiri ile karışması sonucu oluşan ve termodinamik olarak stabil olmayan sistemlerdir. Emülsiyon sistemini oluşturan iki farklı sıvı fazın etkileşim içinde olduğu ve stabilitesinin sağlandığı alan emülsiyonların ara yüzeyidir. Ara yüzey kavramı, gıda endüstrisinde özellikle köpük ve emülsiyon sistemlerinde ayrı bir öneme sahiptir. Emülsiyon oluşturma en temel

prensibi de iki farklı sıvı faz arasında oluşan ara yüzey gerilimini düşürerek geniş bir ara yüzey oluşturmaktır [7]. Farklı yağların emülsiyonların ara yüzeyinde meydana getirdiği değişimin incelendiği bu çalışmada emülsiyonların ara yüzey reolojik özellikleri dinamik titreşimli kayma ara yüzey reoloji testlerinden biri olan frekans tarama (frequency sweep) testi ve yatışkın hal (steady state) ara yüzey reoloji testi ile birlikte değerlendirilmiştir.



Şekil 3. Emülsiyonların yatışkın hal ara yüzey reolojik özellikleri (SY: soya yağı; MY: mısır yağı; ZY: zeytinyağı)

*Figure 3. Steady state interfacial rheological properties of emulsions (SY: soybean oil; MY: corn oil; ZY: olive oil)*

Emülsiyonların yatışkın hal ara yüzey reolojik özellikleri ve hazırlanan emülsiyonların kesme hızına bağlı olarak ara yüzey viskozitesinde ( $\eta_i$ ) meydana gelen değişim incelenmiştir. Şekil 3'te açıkça görülebileceği üzere ara yüzey viskozitesi, artan kesme hızı ile artmıştır. Şekil 3'ten ayrıca mısır yağı ve zeytinyağı ile lesitin kullanılarak hazırlanan emülsiyonların ara yüzey viskozitesinin benzer eğilim gösterdiği anlaşılmaktadır. Öte yandan mısır yağı ve zeytinyağı ile hazırlanan emülsiyonların ara yüzey viskozitesinin soya yağı ile hazırlanan emülsiyonlara oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Lesitin ile soya yağı arasındaki ara yüzey viskozitesi, ölçülen sistemler arasında en yüksek değere sahiptir. Bu durum, lesitin ile soya yağı arasındaki reaksiyonla oluşturulan ara yüzey filminin en yüksek mekanik mukavemete sahip olduğu ve soya yağı ile yağda su (Y/S) emülsiyonlarının stabilitesinin artırabileceği anlamına gelmektedir. Elde edilen deneysel sonuçlar, lesitin ile soya yağı arasındaki reaksiyonun oluşturduğu ara yüzey filminin yüksek mekanik mukavemete sahip olduğunu göstermektedir. Bu durumda da soya yağının daha dayanıklı ve stabil emülsiyonların hazırlanması amacıyla kullanılabileceği öngörülmektedir.

Emülsiyonların artan kesme hızı ile birlikte  $\eta_i$  değerlerinde görülen değişim incelendiğinde en fazla farklılığın mısır yağı ile hazırlanan emülsiyonlarda olduğu gözlenmiştir. Farklı yağlarla hazırlanan emülsiyonlar birbiri ile kıyaslandığında ise soya yağı ile

hazırlanan emülsiyonların  $\eta_i$  değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve en düşük  $\eta_i$  değeri mısır yağı ile hazırlanan MY örneğinde kaydedilmiştir. Emülsiyonlarda iki sıvı faz arasında oluşan ara yüzeyin fonksiyonel özellikleri emülsiyonların ara yüzey viskoelastik özellikleriyle ilişkilendirildiğinden [22] soya yağı ile hazırlanan emülsiyonların ara yüzey viskozitesinin yüksek olmasının nedeninin su ve yağ ara yüzeyindeki iki boyutlu tabakadaki etkileşim kuvvetlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Emülsiyonların ara yüzeylerinde meydana gelen değişim aynı zamanda dinamik titreşimli kayma ara yüzey reoloji testlerinden biri olan frekans tarama testi ile 25°C'de  $\gamma = 0.1$ 'de değerlendirilmiştir. Emülsiyonların frekansa bağlı ara yüzey depo modülü ( $G_1'$ ) ve ara yüzey viskoz modülü ( $G_1''$ ) değerlerinde meydana gelen değişim Şekil 4'te gösterilmiştir.

Örneklerin  $G_1'$  ve  $G_1''$  değerlerinin frekansa bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir (Şekil 4). Bu sonuç, yağ/su ara yüzeylerinin, yüzey modüllerinin frekans bağımlılığının bir sonucu olarak oluşan hidrofobiklikten yararlanarak emülgatör olarak kullanılan lesitin konformasyonel yeniden yapılanmasını desteklediğini göstermektedir. Bu durum yağ/su ara yüzeyinde hidrofobisitenin artmasına yol açar ve fiziksel çapraz bağlarda artışa neden olarak emülgatörün mikro yapısının yeniden düzenlenmesini destekler [36].

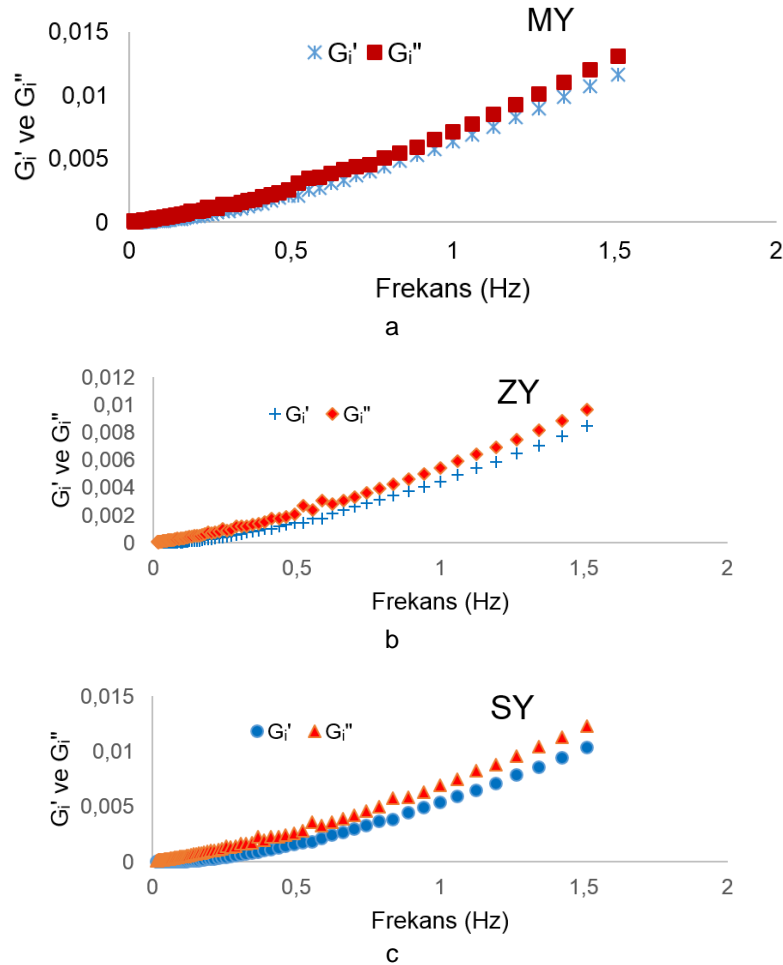
Şekil 4'ten ayrıca ölçülen frekans değerlerinde  $G_i'$  ve  $G_i''$  değerlerinin frekansın artmasıyla birlikte artış görüldüğü anlaşılmaktadır. Ayrıca hiçbir frekans değerinde  $G_i'$  ve  $G_i''$  değerlerinde bir çakışma noktası (crosspoint) belirlenmemiştir. Öte yandan  $G_i''$  değerlerinin  $G_i'$  değerlerinden tüm frekans aralığında daha büyük olduğu gözlenmektedir (Şekil 4). Polimer, ara yüzeyde adsorbe edilerek ara yüzeye büyük ölçüde fiziksel olarak çapraz bağlanabilir. Yeterli mekanik mukavemete sahip ara yüzeyde oluşan bu organize yapı, ara yüzey depo modülünün ( $G_i'$ ) güçlenmesini sağlar. Ara yüzey depo modülü artan polimer konsantrasyonu ile artar ve bu durumda polimer konsantrasyonunun ara yüzey viskoz modülü ( $G_i''$ ) üzerindeki etkisi ihmal edilebilir düzeydedir [37]. Sürfaktan ile karıştırıldığında,  $G_i'$  ve  $G_i''$  değişimi ihmal edilebilir. Elde edilen bulgular emülsiyonların ara yüzey viskoz ve depo modülüne farklı yağ kullanımının etki ettiğini göstermiştir.

Emülsiyonların değişen frekans ile  $G_i'$  ve  $G_i''$  değerlerinin birlikte değerlendirildiği grafik incelendiğinde tüm emülsiyonların  $G_i''$  değerlerinin  $G_i'$  değerinden daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Emülsiyonların ara

yüzeyinde gözlenen viskoz modülünün depo modülünden yüksek olması durumu emülsiyonların ara yüzey özelliklerinin sıvıya yakın (fluid-like) özellik gösterdiği sonucunu desteklemektedir. Ayrıca, emülsiyon örneklerinin  $G_i'$  ve  $G_i''$  değerlerinin frekansa bağımlı olduğu gözlenmiştir.

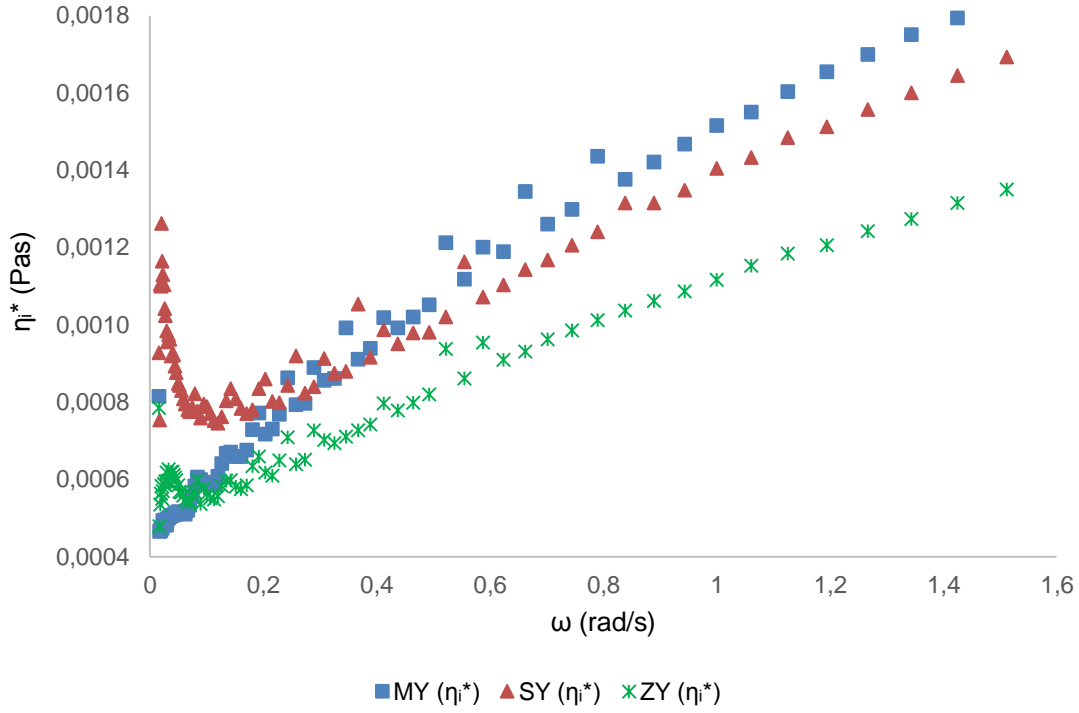
Frekans taraması analizi sonucu artan frekans değerlerine karşı ara yüzey kompleks viskozite ( $\eta_i^*$ ) değerlerinin çizilmesi ile elde edilen grafik Şekil 5'te verilmiştir.

Kompleks viskozite ( $\eta_i^*$ ) bir sistemde yer alan depolanmış enerjinin bırakılması sürecinde yani sistemin gevşeme aşamasında ara yüzeyde yer alan enerjiyi ifade eder [38]. Frekans artışı ile birlikte  $\eta_i^*$  değerlerinin değişiminin incelendiği bu grafikten en düşük  $\eta_i^*$  değerlerinin zeytinyağı ile hazırlanan emülsiyonlarda kaydedildiği anlaşılmaktadır. Elde edilen bu sonuca göre zeytinyağı ile hazırlanan emülsiyonlarda daha zayıf bir ara yüzey filminin oluştuğu gözlenmektedir. Araştırma sonucunda yapılabilen bu çıkarım yatışkın hal ara yüzey reolojik ölçüm sonuçlarıyla da paralellik göstermektedir.



Şekil 4. Emülsiyonların değişen frekanslardaki ara yüzey depo modülü ( $G_i'$ ) ve ara yüzey viskoz modülü ( $G_i''$ ) değerleri [a] SY: soya yağı; b) MY: mısır yağı; c) ZY: zeytinyağı]

Figure 4. Interfacial storage modulus ( $G_i'$ ) and interfacial viscous modulus ( $G_i''$ ) values of emulsions at varying frequencies [a] SY: soybean oil; b) MY: corn oil; c) ZY: olive oil]



Şekil 5. Emülsiyonların değişen frekanslardaki ara yüzey ara yüzey viskozite ( $\eta_i^*$ ) değerleri (SY: soya yağı; MY: mısır yağı; ZY: zeytinyağı)

Figure 5. Interfacial viscosity ( $\eta_i^*$ ) values of emulsions at varying frequencies (SY: soybean oil; MY: corn oil; ZY: olive oil)

## SONUÇ

Emülsiyonlar, birbirine karışmayan iki sıvının oluşturduğu termodinamik olarak stabil olmayan homojen görünümlü heterojen karışımlar olarak tanımlanır. Süt ve ürünleri, salata sosları, margarin ve mayonez başta olmak üzere birçok gıda formülasyonunda emülsiyon sistemlerinden yararlanılır. Emülsiyon sistemlerinin sürekli fazını oluşturan yağların da emülsiyonların stabilite ve kalite parametreleri üzerinde çok önemli etkileri bulunmaktadır. Emülsiyonlardaki farklı yağ kullanımının etkisi göz önüne alınarak, bu çalışmada, farklı yağlar ile hazırlanan emülsiyonların ara yüzey reolojisi, fizikokimyasal özellikleri ve yatışkın hal reolojik özellikleri değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda emülsiyonların fizikokimyasal, emülsifikasyon ve reolojik özelliklerinin birbirini etkilediği görülmüştür. Emülsiyon oluşumunda kullanılan farklı yağların örneklerin fizikokimyasal özelliklerini önemli derecede etkilediği gözlenmiştir. Öte yandan, elde edilen araştırma sonuçlarına göre, gıda emülsiyonlarında daha iyi bir emülsiyon oluşumunu sağlamak ve stabiliteyi artırmak amacıyla farklı yağların kullanımının etkisinin önemli olduğu bulunmuştur. Çalışma sonuçları, emülsiyonların ara yüzey viskoelastisitesinin ve adsorpsiyon özelliklerinin emülsiyon stabilitesi üzerinde çok önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Emülsiyonlarda iki sıvı faz arasında oluşan ara yüzeyin fonksiyonel özellikleri emülsiyonların ara yüzey viskoelastik özellikleriyle ilişkilendirildiğinden, ara yüzey viskozitesinin yüksek olan örneklerin su ve yağ ara yüzeyindeki iki boyutlu tabakadaki etkileşim

kuvvetlerinin daha iyi olduğu ve daha stabil gıda emülsiyonları hazırlamak için kullanılabileceği ön görülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Dickinson, E., Stainsby, G. (1982). Colloids in Food. Elsevier Applied Science, USA, 533p.
- [2] Busmante, A.H.C., Chun, P. (1993). Coarse Dispersion. In Physical Pharmacy Fourth Ed., Lea and Febiger, Philadelphia, USA, pp. 477–511.
- [3] Lawrence, H. (1989). Emulsions and microemulsions, in Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, B. H., Lieberman, M., Rieger, G., Ed., Marcel Dekker Inc, 335–378p.
- [4] McClements, D. J. (2016). Food emulsions: Principles, practices, and techniques. Third Edition, CRC Press, USA, 714p.
- [5] Donsì, F., Annunziata, M., Vincenzi, M., Ferrari, G. (2012). Design of nanoemulsion-based delivery systems of natural antimicrobials: Effect of the emulsifier. *Journal of Biotechnology*, 159(4), 342–350.
- [6] Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloid*, 23, 1473–1482.
- [7] Çelebi, N. (2009). Emülsiyonlar. Modern Farmosetik Teknolojisi, Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, 277–279.
- [8] Moran-Valero, M.I., Ruiz-Henestrosa, V.M.P., Pilosof, A.M.R. (2017). Synergistic performance of lecithin and glycerol monostearate in oil/water

- emulsions. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 151, 68–75.
- [9] Dickinson, E., Leser, M.E. (2013). Food colloids today understanding structural change during processing, storage, eating and digestion. *Current Opinion Colloid Interface Science*, 18, 245–248.
- [10] Bueschelberger, H.G., Tirok, S., Stoffels, I., Schoeppe, A. (2015). Lecithins. In *Emulsifiers in Food Technology: Second Edition*, Wiley & Blackwell, 21–61p.
- [11] Chen, H., Guan, Y., Zhong, Q. (2015). Microemulsions based on a sunflower lecithin-tween 20 blend have high capacity for dissolving peppermint oil and stabilizing coenzyme Q10. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 63(3), 983–989.
- [12] Mottola, M., Vico, R.V., Villanueva, M.E., Fanani, M.L. (2015). Alkyl esters of l-ascorbic acid: Stability, surface behaviour and interaction with phospholipid monolayers. *Journal of Colloid Interface Science*, 457, 232–242.
- [13] Bhattacharya, S., Shylaja, M.H., Manjunath, M.S., Sankar, U. (1998). Rheology of lecithin dispersions. *Journal of American Oil Chemists Society*, 75(7), 871–874.
- [14] Hasenhuettl, G.L., Hartel, R.W. (2008). *Food emulsifiers and their applications: Second edition*, Springer-Verlag New York, USA.
- [15] Turbiano, P.C. (1995). The role of specialty food starches in flavor emulsions. In *Flavor Technology: Physical Chemistry, Modification and Process*. ACS Symposium Series, No. 610, American Chemical Society, Washington, DC, USA, pp. 199–209.
- [16] Taherian, A.R., Fustier, P., Ramaswamy, H.S. (2006). Effect of added oil and modified starch on rheological properties, droplet size distribution, opacity and stability of beverage cloud emulsions. *Journal of Food Engineering*, 77(3), 687–696.
- [17] Miller, R., Ferri, J.K., Javadi, A., Krägel, J., Mucic, N., Wüstneck, R. (2010). Rheology of interfacial layers. *Colloid Polymer Science*, 288(9), 937–950.
- [18] Krägel, J., Derkatch, S.R. (2010). Interfacial shear rheology. *Current Opinion Colloid Interface Science*, 5(4), 246–255.
- [19] Bos, M.A., Van Vliet, T. (2001). Interfacial rheological properties of adsorbed protein layers and surfactants: A review. *Advance Colloid Interface Science*, 91, 437–471.
- [20] Nash, J.J., Erk, K.A. (2017). Stability and interfacial viscoelasticity of oil-water nanoemulsions stabilized by soy lecithin and Tween 20 for the encapsulation of bioactive carvacrol. *Colloids Surfaces A Physicochemical Engineering Aspects*, 517, 1–11.
- [21] Zou, H., Zhao, N., Li, S., Sun, S., Dong, X., Yu, C. (2020). Physicochemical and emulsifying properties of mussel water-soluble proteins as affected by lecithin concentration. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 163, 180–189.
- [22] Doğan, M., Göksel Saraç, M., Aslan Türker, D. (2020). Effect of salt on the inter-relationship between the morphological, emulsifying and interfacial rheological properties of O/W emulsions at oil/water interface. *Journal of Food Engineering*, 275, 109871.
- [23] Firebaugh, J.D., Daubert, C.R. (2005). Emulsifying and foaming properties of a derivatized whey protein ingredient. *International Journal Of Food Properties.*, 8(2), 243–253.
- [24] Göksel Saraç, M., (2018). Rendering Artık Yağlarından Emülgatör Üretimi ve Model Gıdalarda Arayüzey (interfacial) Reolojik Uygulamaları, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. 247.
- [25] Kato, A., Fujishige, T., Matsudomi, N., Kobayashi, K. (1985). Determination of emulsifying properties of some proteins by conductivity measurements. *Journal of Food Science*, 50, 56–62.
- [26] Gundersen, S.A., Sather, Ø., Sjöblom, J. (2001). Salt effects on lignosulfonate and Kraft lignin stabilized O/W-emulsions studied by means of electrical conductivity and video-enhanced microscopy. *Colloids Surfaces A Physicochemical Engineering Aspects*, 186(3), 141–153.
- [27] Tonay, A.N. (2012). Çoklu Emülsiyonların Üretimine Kolloid Değirmendeki Dönüş Hızının Etkisi ve Enkapsülasyon Verimliliklerinin Hesaplanması. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. 61s.
- [28] Aslan, D. (2015). Ultrason Tekniği İle Farklı Fonksiyonel Yağlar Kullanılarak Yeni Süt Bazlı Emülsiyonların Geliştirilmesi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. 103s.
- [29] Pearce, K.N., Kinsella, J.E. (1978) Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 26(3), 716–723.
- [30] Koroleva, M., Tokarev, A., Yurtov, E. (2015). Simulation of flocculation in W/O emulsions and experimental study. *Colloids Surfaces A Physicochemical Engineering Aspects*, 481, 237–243.
- [31] Shi, X yan., Gao, H., Lazouskaya, V.I., Kang, Q., Jin, Y., Wang, L.P. (2010). Viscous flow and colloid transport near air-water interface in a microchannel. *Computers and Mathematics with Applications*, 59(7), 2290–2304.
- [32] Hong, I.K., Kim, S. I., Lee, S.B. (2018). Effects of HLB value on oil-in-water emulsions: Droplet size, rheological behavior, zeta-potential, and creaming index. *Journal of Industrial Engineering Chemistry*, 67, 123–131.
- [33] Wang, B., Li, D., Wang, L.J., Özkan, N. (2010). Effect of concentrated flaxseed protein on the stability and rheological properties of soybean oil-in-water emulsions. *Journal of Food Engineering*, 96(4), 555–561.
- [34] McKenna, B.M., Lyng, J.G. (2003). Introduction to food rheology and its measurement. In *Texture in Food*, Woodhead Publishing Limited, USA, pp. 1-130p.
- [35] Yalcin, H., Toker, O.S., Dogan, M. (2012). Effect of oil type and fatty acid composition on dynamic and steady shear rheology of vegetable oils. *Journal Oleo Science*, 61(4), 181–187.
- [36] Wang, L., Xie, H., Qiao, X., Goffin, A., Hodgkinson,

- T., Yuan, X., Sung, K., Fuller, G. G. (2012). Interfacial rheology of natural silk fibroin at air/water and oil/water interfaces. *Langmuir*, 28(1), 459-467.
- [37] Kang, W., Xu, B., Wang, Y., Li, Y., Shan, X., An, F., Liu, J. (2011). Stability mechanism of W/O crude oil emulsion stabilized by polymer and surfactant. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 384(1-3), 555-560.
- [38] Seta, L., Baldino, N., Gabriele, D., Lupi, F.R., De Cindio, B. (2012). The effect of surfactant type on the rheology of ovalbumin layers at the air/water and oil/water interfaces. *Food Hydrocolloid*, 29(2), 247-257.
-

## Altınçilek (*Physalis peruviana* L.) Meyvesinin Bazı Biyoaktif Özellikleri

Osman Onur Kara<sup>1</sup>  ✉, Erkan Karacabey<sup>2</sup> , Erdoğan Küçüköner<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Tarım ve Orman Bakanlığı, Antalya İl Müdürlüğü, Antalya

<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

Geliş Tarihi (Received): 27.08.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 28.04.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): osmanonurkara@gmail.com (O.O. Kara)

☎ 0 242 722 11 80 📠 0 242 722 69 81

### ÖZ

Altınçilek (*Physalis peruviana* L.) meyvesi, kendine has lezzete ve oldukça yüksek besin değerlerine sahip tropikal bir meyvedir. Meyve, biyoaktif özelliklere sahip olan C ve E vitamini, karotenoidler ve fenolik bileşikler açısından kaynak teşkil eder. Ayrıca yüksek miktarda fosfor ve diyet lifi içeriği ile öne çıkmaktadır. Bu çalışmada Akdeniz iklim koşullarının hakim olduğu Antalya ilinde yetiştirilen altınçilek meyvelerinin bazı biyoaktif özellikleri tespit edilerek değerlendirilmiştir. Meyve örneklerinin, antioksidan aktiviteye başlıca katkı sunan fenolik bileşikler yönünden içeriği incelenmiş toplam fenolik madde miktarı kuru maddede  $1.92 \pm 0.03$  mg gallik asit eşdeğeri/g olarak tespit edilmiştir. Tespit edilen fenolik bileşikler rutin, gallik asit, vanilin, *p*-kumarik asit, ferulik asit ve sinamik asittir. En yüksek oranda saptanan fenolik bileşik rutindir. İkinci en yüksek saptanan fenolik bileşik gallik asittir. Antioksidan aktiviteye katkı sunan bir diğer bileşen olan C vitamini açısından da meyvelerin zengin olduğu görülmüştür. C vitamini miktarı kuru maddede  $159.76 \pm 8.25$  mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Meyvelerin ayrıca kuru maddede  $11.50 \pm 0.05$  mg/100 g karotenoid içerdiği,  $\beta$ -karoten miktarının  $\alpha$ -karoten miktarından belirgin düzeyde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Altınçilek meyvesinin karbonhidratlar açısından da zengin bir meyve olduğu, içerdiği başlıca karbonhidratların sakkaroz, glikoz ve fruktoz olduğu saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Altınçilek, Besin değeri, Biyoaktif bileşen, Fenolik bileşik

### Some Bioactive Properties of Cape Gooseberry (*Physalis peruviana* L.) Fruits

#### ABSTRACT

Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) is a tropical fruit which has a unique flavor and extremely high nutritional value. This fruit is a source of vitamin C, vitamin E, phenolic compounds and carotenoids which have bioactive properties. Also it has high dietary fiber and minerals content too. Cape gooseberry fruits grown in Antalya which has Mediterranean climate conditions are used in this study. Some of bioactive properties of cape gooseberry are determined. Cape gooseberry phenolic compounds content, which is the main contributor to antioxidant activity, has been examined. The total phenolic compound content was found to be  $1.92 \pm 0.03$  mg gallic acid equivalent / g dry weight. Rutin, gallic acid, vanillin, *p*-coumaric acid, ferulic acid and cinnamic acid were determined in fruits. Rutin was determined as dominant phenolic compounds in fruits. The second highest phenolic compound was gallic acid. Also it was observed that fruits were rich in vitamin C, which is another component that contributes to antioxidant activity. The vitamin C content was found to be  $159.76 \pm 8.25$  mg /100 g dry weight. Cape gooseberry contained  $11.50 \pm 0.05$  mg carotenoids per 100 g dry weight, and it was determined that  $\beta$ -carotene contents of samples were significantly higher than  $\alpha$ -carotene contents. Cape gooseberry fruits was also rich in carbohydrates. Sucrose, glucose and fructose were determined as major carbohydrates in cape gooseberry fruits.

**Keywords:** Cape gooseberry, Nutritional value, Bioactive component, Phenolic compound

## GİRİŞ

Patlıcangiller (*Solanaceae*) familyası *Physalis* cinsine ait olan altınçilek (*Physalis peruviana* L.), Güney Amerika'nın Amazonlar ve Ant Dağları Bölgesi kökenli egzotik bir meyvedir [1]. Meyveleri sarı, turuncu renkte, hemen hemen yuvarlak, ortalama çapı 20-25 mm, ağırlığı 4-5 g kadardır. Üzümsü yapıda ve sulu bir meyvedir. Meyve içinde yaklaşık 150-300 kadar sarımsı küçük tohum bulunur. Domatese oldukça yakın tat ve

görünüşü vardır, ancak tatlı ve ekşi karışımı daha zengin bir tada sahiptir [2, 3]. Olgunlaşmış meyve, etrafındaki kağıtsı kese benzeri kaliks adlı yapıyla mekanik olarak korunmaktadır [4]. Kaliks, meyvenin olgunlaşması boyunca meyveyi tamamen kaplar. Meyveyi böceklerle, kuşlara, hastalıklara ve kötü iklim koşullarına karşı korur [5]. Şekil 1-a'da bitki üzerinde kaliks ile altınçilek meyvesi ve Şekil 1-b'de meyvenin olgunlaşmış hali gösterilmektedir.



(a)



(b)

Şekil 1. a) Bitki üzerinde kaliks ile altınçilek meyvesi, b) Altınçilek meyvesi [6]

Figure 1. a) Cape gooseberry fruit with calyx on the plant, b) Cape gooseberry fruit [6]

Uluslararası pazarlarda gitgide artan bir taleple karşılaşan altınçilek meyvesinin dünyadaki en büyük üreticisi Kolombiya'dır. Onu Güney Afrika takip eder. Amerika Birleşik Devletleri, Meksika, Ekvador, Peru, Bolivya, Şili, Hindistan, Yeni Zelanda, Avustralya, İngiltere, Mısır, Zimbabve, Malezya, Çin, Kenya, Madagaskar, Karayipler ve Kosta Rika'da da meyve üretilmektedir [7-10]. Ülkemizde bu meyve hala yeterince bilinmemektedir. Genellikle lüks oteller ve lokantalar tarafından talep edilmektedir. Ülkemizin hemen her bölgesinde başarıyla üretilmekte olan meyveye olan mevcut talep, yurt içindeki üretimle ve ithalatı yapılarak karşılanmaktadır [10]. Kolombiya'nın muzdan sonraki en büyük meyve ihracat kalemidir [11]. Meyveyi ithal eden başlıca ülkeler, Japonya ABD, Kanada, Almanya, Hollanda, İngiltere ve Fransa'dır. Bu ülkeler altınçilek meyvesini çoğunlukla Kolombiya'dan ithal etmektedirler [10]. Güney Amerika'da altın çileğin yetiştirilmeye başlanması İnkalar dönemine kadar gitmektedir. Avrupa'da üretimi 1700'lerde İngiltere'de başlamış ve daha sonra Güney Afrika, Avustralya ve Yeni Zelanda'ya giden ilk göçmenlerce buralara taşınmıştır [12]. Ülkemizde ilk üretim çalışmaları 2007 yılında başlamış olup, başta Marmara, Ege ve Akdeniz Bölgeleri olmak üzere hemen hemen tüm Türkiye'ye yayılmıştır [13, 14].

Altınçilek meyvesi lezzeti, yüksek besin değeri ve potansiyel sağlık faydaları açısından değerli bir meyvedir [15]. Meyve, biyoaktif özelliklere sahip olan C ve E vitamini, karotenoidler ve fenolik bileşikler açısından kaynak teşkil eder. Ayrıca yüksek miktarda fosfor ve diyet lifi içeriği ile öne çıkmaktadır [9, 16]. Altınçilek,

karbonhidrat açısından da zengin bir meyvedir. Olgun altın çilek meyvesinde bulunan şeker bileşimlerinin sakkaroz, glukoz ve fruktoz olduğu bildirilmiştir [17]. Bu şekerlerin miktarları, meyvenin olgunluk aşamasına, çeşidine ve gelişme şartlarına bağlı olarak değişmektedir [2].

Altınçilekte suda çözünen bir vitamin olan askorbik asit (C vitamini) yüksek miktarda bulunmaktadır. Askorbik asit aynı zamanda önemli bir diyet antioksidanıdır. Altınçilek bunun yanında E vitamini (tokoferoller) açısından da zengin bir meyvedir. Tokoferollerin lipid peroksidaz seviyesini düşürerek serbest radikallerce oluşturulan hücre membran zararlarını önlemeye katkı sundukları bildirilmiştir [5]. Altınçilek meyvesi mineral içeriği açısından da zengin bir meyvedir. Mineraller insan vücudunda metabolik fonksiyonlarda rol alan bileşiklerdir. Hücre, doku ve organ oluşumunda rol alan enzimlerin kofaktörü olma, ayrıca üreme, ruhsal stabilite, bağışıklık sisteminde yer alma sahip oldukları fonksiyonlardan bazılarıdır [1, 5]. Altınçilek bir meyveye göre çok yüksek miktarda fosfor içerebilir. Ayrıca demir, potasyum, magnezyum ve çinko mineralleri için de iyi bir kaynaktır. Bununla beraber kalsiyum içeriği düşüktür [18, 1]. Altınçilek meyvesinde yüksek miktarda olduğu tespit edilen, mikro elementlerden çinkonun, enzimatik olmayan antioksidan olarak rol oynadığı, bu nedenle tüketiminin hücrenin oksidatif zararlarına uğramasını önlemeye yardımcı olduğu bildirilmiştir [19].

Altınçilek meyvesinin ayrıca, sahip olduğu fenolik madde içeriği, fonksiyonel özellikler açısından meyveye önem kazandırmaktadır. Fenolik bileşikler, vitaminlerle



karşılaştırıldıklarında daha güçlü antioksidan aktiviteye sahiptirler. Portakalda en çok bulunan antioksidan madde C vitamini olduğu halde, antioksidan aktiviteye belirgin katkının fenolik bileşiklerce yapıldığı bildirilmiştir [20]. Karotenoit içeriği açısından da oldukça zengin olan altınçilekte 22 farklı karotenoit saptanmıştır [3]. Meyvenin turuncu renginden karotenoitler sorumludurlar. Ayrıca  $\beta$ -karoten başta olmak üzere karotenoitlerin, antioksidan aktiviteleriyle dokularda oluşan serbest radikalleri deaktive ederek kanser gibi bazı hastalıkların başlangıç ve gelişimine karşı olumlu etkiye sahip oldukları bildirilmiştir [5]. Altınçilek meyvesinde  $\beta$ -karoten'in en yüksek oranda bulunan karotenoit olduğu bildirilmiştir [8]. Meyve olgunlaştıkça içerdiği  $\beta$ -karoten miktarının arttığı tespit edilmiştir [21].

Altınçilek suyu yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. Antioksidan aktivitesi, içeriğinde bulunan antioksidan bileşiklerin sinerjik etkileriyle meydana gelir. Bu nedenle, antioksidan bileşikler olan, fenolik bileşikler, karotenoitler ve C vitamini açısından zengin olması, meyveye fonksiyonel özellik açısından özel bir önem katar. Bununla beraber altınçilek meyvesinin antioksidan kapasitesi başlıca içerdiği fenolik bileşiklerden kaynaklanır. Meyvenin antioksidan kapasitesi, yetiştirilme yöntemi, çevre şartları, hasat zamanı, olgunlaşma dönemi, depolama ve proses şartları gibi pek çok faktörden etkilenir [20].

Bu çalışmada, tropikal bir meyve olan altınçilek meyvesinin, Antalya ilinde yetiştirilen örneklerinde; meyvenin fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri ve bazı besin değerlerinin saptanması ve literatürde altınçilek meyvesi ile ilgili elde edilen değerlerle karşılaştırılarak değerlendirme yapılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Çalışmada kullanılan meyveler, Antalya'da yerel üreticiden temin edilmiştir. Optimum hasat döneminde seçilen bitkilerden (aynı bahçe, eşit yükseklik ve eşit olgunluk) altınçilek elle toplanarak, Süleyman Demirel

$$\% \text{ İnhibisyon (DPPH)} = [(Abs_{\text{Kontrol}} - Abs_{\text{Örnek}}) / Abs_{\text{Kontrol}}] * 100 \quad (1)$$

Toplam karotenoit analizinde, örnekler metanolle ekstrakte edilmiş ve ekstraktın spektrofotometrede (Unicam, İngiltere) 666, 653 ve 470 nm'lerde absorbans değerleri ölçülerek aşağıdaki denklemler yardımıyla toplam karotenoit içeriği hesaplanmıştır (Denklem 2-4) [26].

$$C_a = 15.65 \times A_{666} - 7.340 \times A_{653} \quad (2)$$

$$C_b = 27.05 \times A_{653} - 11.21 \times A_{666} \quad (3)$$

$$C_{x+c} = 1000 \times A_{470} - 2.860 \times C_a - 129.2 \times C_b / 245 \quad (4)$$

$$C_a = \text{Klorofil a}, C_b = \text{Klorofil b}, C_{x+c} = \text{Toplam karoten}$$

Askorbik asit tayini 2,6-diklorofenolindofenol-ksilen ekstraksiyon metoduna göre spektrofotometrik olarak yapılmıştır [22]. Absorbans değerleri 500 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar, seyreltik askorbik asit çözeltisi ile hazırlanmış çözeltilerden elde edilen kalibrasyon eğrisi

Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarına getirilmiştir. Meyveler analize alınmaya kadar 4°C soğuklukta muhafaza edilmiş ve tüm analizler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

### Metot

Analizler gerçekleştirilmeden önce meyvelerin kaliks kısımları ayrılmıştır. Daha sonra meyvelerdeki toz, toprak kalıntıları gibi her türlü yabancı maddenin uzaklaştırılması için musluk suyunda yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

### Kimyasal Analizler

Meyve örneklerinde yapılan kimyasal analizlerden pH değeri, pH metre (HANNA HI 2211-02, Romanya) ile asitlik değeri ise, titrimetrik yöntemle sitrik asit cinsinden belirlenmiştir. [22]. Renk değerleri renk ölçüm cihazı (PCE-TCR 200, Recoleta, Şili) ile Hunter (L, a, b) ve (L, kroma (C), hue açısı (h)) renk skalaları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Meyvelerde nem içeriği AOAC 2011'de yer alan 930.04 no'lu metoda göre belirlenmiştir. Meyvelerde kül içeriği ise AOAC 2011'de yer alan 940.26 no'lu yöntemle göre belirlenmiştir [23]. Sonuçlar g/100 g olarak hesaplanmıştır.

Toplam fenolik madde içeriği, örnekler metanolle ekstrakte edilerek, Folin-Ciocalteu kolorimetrik metodu kullanılarak belirlenmiştir [24]. Absorbans değerleri spektrofotometrede 720 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar gallik asitten hazırlanmış çözeltilerden elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak gallik asit eşdeğerinde, mg GAE/g yaş katı ve mg GAE/g kuru katı olarak hesaplanmıştır.

Meyve örneklerinde antioksidan aktivite, 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH) serbest radikal yakalama aktivitesi tayini kullanılarak tespit edilmiştir. Absorbans değerleri spektrofotometrede 517 nm'de ölçülmüştür. DPPH serbest radikalleri yakalama aktivitesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar % inhibisyon değerleri olarak verilmiştir [25].

kullanılarak hesaplanmıştır. Meyvelerde protein içeriği, AOAC 2011'de yer alan 920.152 no'lu metoda göre Kjeldahl Metodu kullanılarak belirlenmiştir [23]. Protein tayininde Kjeldahl Metodu ile azot miktarları saptanıp, proteinlerin yapısında bulunan azot miktarından (100/16) elde edilmiş olan 6.25 faktörü ile çarpılarak protein değerleri tespit edilmiştir. Karbonhidrat değerleri, nem, kül, protein ve yağ miktarlarının örneklerdeki yüzde değerlerinin toplamının 100'den çıkarılması ile tespit edilmiştir [27] Meyvelerde yağ içeriği, Soxhlet cihazı kullanılarak belirlenmiştir [28]. Ekstraksiyonda yağ çözücü olarak hekzan kullanılmıştır. Sonuçlar g/100 g olarak hesaplanmıştır. Enerji değeri hesaplanırken aşağıda belirtilen denklem kullanılmıştır (Denklem 5). Meyvede lif oranı %4.9 olarak alınmıştır [3, 18].

$$\text{Enerji (kcal/100 g)} = (\text{Yağ} \times 9) + (\text{Protein} \times 4) + [(\text{Karbonhidrat-Diyet Lif}) \times 4] \quad (5)$$

Örneklerde suda çözünebilir kuru madde içeriği, değerler doğrudan refraktometreden okunarak, belirlenmiştir [22]. Örneklerde su aktivitesi ( $a_w$ ) dijital Aqualab CX-2 su aktivitesi ölçüm cihazı (Decagon Devices Inc. Pulman, Washington, ABD) ile belirlenmiştir [23].

### Fenolik Kompozisyonunun Belirlenmesi

Örneklerdeki fenolik maddelerin kompozisyonu HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografi) ile belirlenmiştir [29]. Meyve örneklerinden öncelikle 10 g tartılarak 20 mL metanol:su (4:1) çözeltisiyle homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işlemi için UltraTorax (IKA T18, Staufen, Almanya) kullanılmıştır. Devamında örnekler santrifüj tüplerine alınarak santrifüj cihazında (Sigma 2-6E, Osterode am Harz, Almanya), 4000 devir/dakika, 4°C, 20 dakika süre ile santrifüjlenerek üstteki berrak kısım alınmıştır. Elde edilen bu kısımlar HPLC analizi öncesi 0.45µm gözenek çaplı membran filtrelerden (Millex, HV) geçirilip, filtratlardan 20 µL cihaza enjekte edilerek, fenolik madde kompozisyonu belirlenmiştir. Analiz HPLC cihazı (Shimadzu, Kyoto, Japonya) ile gerçekleştirilmiştir. DAD dedektör ile 278 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. Kolon sıcaklığı 30°C'ye ayarlanmıştır. Kolon olarak Agilent Eclipse XDB-C18 (250 x 4.60 mm, partikül büyüklüğü 5 µm) kolonu kullanılmıştır. Analizde gradient program kullanılmıştır. Kullanılan mobil fazlar, çözücü A; su:asetik asit (3:97; v/v), çözücü B; metanoldür. Akış hızı 0.8 mL/dakikaya ayarlanmıştır. Gradient sistem çözücü akış konsantrasyonu, çözücü B oranları: 0 dakika, %7; 0-10 dakika, %7; 10-20 dakika, %7-28; 20-28 dakika, %25; 28-35 dakika, %25-30; 35-50 dakika, %30; 50-60 dakika, %30-33; 60-62 dakika, %33-42; 62-70 dakika, %42-50; 70-73 dakika, %50-70; 73-75 dakika, %70-80; 75-80 dakika, %80-100; 80-81 dakika, %100-7; 81-90 dakika, %7 şeklindedir.

### Karotenoit Kompozisyonunun Belirlenmesi

Karotenoit kompozisyon tayini için, HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografi) ile örneklerde α-karoten ve β-karoten miktarları belirlenmiştir [30]. Analiz için HPLC cihazı (Shimadzu, Kyoto, Japonya) kullanılmıştır. Öncelikle hekzan, aseton ve etanolün (50/25/25, v/v/v) karıştırılmasıyla ekstraksiyon çözeltisi elde edilmiştir. Daha sonra 5 g numuneye 50 mL ekstraksiyon çözeltisi ilave edilmiştir. Çözelti manyetik karıştırıcıda 30 dakika karıştırılmıştır. Üzerine 10 mL saf su ilave edilerek üst faz bir balona aktarılmıştır. Evaporatörde (IKA Rv10, Staufen, Almanya) kurutma işlemi gerçekleştirilip daha sonra balon 1 mL kloroform ile yıkanmıştır. Seyreltmeler metanol/asetonitril/tetrahidrofuran (55/30/15, v/v/v) ile yapılip örneklerden 20 µL cihaza enjekte edilerek analiz uygulanmıştır. DAD dedektör ile 450 nm'de ölçüm yapılmıştır. Kolon sıcaklığı 30°C'ye ayarlanmıştır. Kolon olarak Luna C18 (250 x 4.60 mm, partikül büyüklüğü 5 µm) kolonu kullanılmıştır. Kullanılan mobil fazlar; Metanol/Asetonitril (90/10) ve 9 µM trietil amindir. Akış hızı 1.2 mL/dakikaya ayarlanmıştır.

### Şeker Kompozisyonunun Belirlenmesi

Örneklerde şeker kompozisyon analizi, HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografi) ile belirlenmiştir [31]. Ekstraksiyon su ile gerçekleştirilmiştir. 10 g örneğe 40 mL su eklenerek ultratoraksta (IKA T18, Staufen, Almanya) homojenize edilmiştir. Daha sonra santrifüj cihazında (Sigma 2-6E, Osterode am Harz, Almanya) 6000 devir/dakikada 30 dakika santrifüj gerçekleştirilmiştir. Üstteki berrak kısım, 0.45 µm gözenek çaplı membran filtrelerden (Millex, HV) geçirilecek 20 µL'si HPLC'ye enjekte edilmiştir. Analiz için Shimadzu markalı (Kyoto, Japonya) HPLC cihazı kullanılmıştır. RID 10A dedektör ile ölçüm yapılmıştır. Kolon sıcaklığı 80°C'ye ayarlanmıştır. Kolon olarak Aminex HPX-87C (300 x 7.8 mm) karbonhidrat kolonu kullanılmıştır. Kullanılan mobil faz ultra saf sudur. Akış hızı 0.6 mL/dakikaya ayarlanmıştır.

### İstatistik Analizleri

İstatistik analizlerinde, SPSS programı (versiyon 19, IBM, 2010) kullanılmıştır. Analizler, üçer kez tekrar edilmiş ve ortalamaları alınmıştır ve tüm analizler üç paralelli gerçekleştirilmiştir.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

Altınçilek meyve örneklerinde gerçekleştirilen fizyokimyasal analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Titrasyon asitliği değerleri sitrik asit cinsinden literatürde, %1.90-2.10 arasında [5] ve %1.827 olarak [32] bildirilmiştir. Meyvelerde olgunlaşma ile asitlik miktarının azaldığı ve şeker miktarının arttığı bilinmektedir. Olgunlaşma ile sitrik asit miktarı da düşmektedir [33]. Bu bağlamda meyvenin olgunluk düzeyi titrasyon asitliği değerlerinde önemli etkiye sahiptir. Çalışmamızda bulunan meyve titrasyon asitliğinin yukarıda belirtilen iki çalışmaya kıyasla daha düşük olması muhtemelen bu nedenden kaynaklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda altınçilek meyvesinin pH değeri, 4.46 olarak [32] ve 3.39-3.67 değerleri arasında [5] bildirilmiştir. Çalışmamızda tespit edilmiş olan meyvenin pH değerinin bu sonuçlarla oldukça yakın olduğu görülmektedir. Meyvelerde renk değerleri ise, tüketici tercihlerini etkileyebilen bir kalite kriteridir. Çalışmamızda belirlenen renk değerlerinden L değeri yüzey parlaklığını, a değeri yeşilden kırmızıya renk değerlerini, b değeri de maviden sarıya renk değerlerini ifade ederken, kroma ve hue açısı ise rengin yoğunluğu ve algılanan renk farkını belirtmede kullanılmaktadır [34]. Literatürde, yapılan bir çalışmada, altın çileğin L değerini; 56.62, a değerini; 5.45 ve b değerini; 31.98 olarak tespit edilmiştir [32]. Bir başka çalışmada L değeri; 69.56, a değeri; 17.12, b değeri; 60.78, kroma değeri; 63.15 ve hue açısı değeri; 74.26 olarak tespit edilmiştir [16].

Karotenoitler meyve ve sebzelerde renk maddeleri olmalarının yanı sıra antioksidan özellikleri, A vitamininin öncül vitamini olmaları gibi önemli fonksiyonel özelliklere sahip olan bileşiklerdir. Meyvede toplam karotenoit

içeriği ortalama 2.52 mg/100 g (yaş ağırlık) olarak tespit edilmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda, 1.60 mg/100 g (yaş ağırlık) olarak [9] ve yaklaşık 1.80 mg/100 g (yaş ağırlık) [16] bildirilmiştir. Sebze ve meyvelerde karotenoit miktarları olgunluk seviyesi, iklim, toprak tipi, gübre kullanımı gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir [35]. Çalışmamızda bulduğumuz karotenoit değerlerinin diğer iki çalışmaya göre yüksek olması muhtemelen bu faktörlerden kaynaklanmaktadır. Farklı meyve ve sebzelerle yapılan çalışmalarda da toplam karotenoit içeriğinde, yukarıda belirtilen nedenlerle önemli farklılıklar görülebilmektedir. Yapılan bir çalışmada; yaş ağırlıkta havucun 15.9 mg/100 g, domatesin 12.7 mg/100 g, portakalın 0.40 mg/100 g, kayısının 1.13 mg/100 g, çileğin 0.05 mg/100 g ve böğürtlenin 0.90 mg/100 g toplam karotenoit içerdiği ve genel olarak sebzelerde, meyvelere göre karotenoit içeriğinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir [36]. Altınçilek meyvesinde toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri olarak ortalama 42.2 mg/100 g (yaş ağırlık) olarak bulunmuştur. Literatürde, yapılan bir çalışmada, altınçilek meyvesinde yaş ağırlıkta ve gallik asit eşdeğerinde 40.45 mg/100 g toplam fenol [37], bir diğer çalışmada ise, 39.15 mg/100 g toplam fenol tespit edilmiştir [38]. Farklı meyve ve sebzelerin toplam fenolik madde içeriklerini belirlemek için yapılan bir çalışmada; gallik asit eşdeğeri olarak yaş ağırlıkta şeftalinin 19.46 mg/100 g, armutun 9.48 mg/100 g, ananasın 44.14 mg/100 g, portakalın 79.73 mg/100 g, domatesin 17.89 mg/100 g, muzun 10.22 mg/100 g toplam fenolik madde içerdiği tespit edilmiştir [39].

Meyvelerde gerçekleştirilen bir diğer analiz de antioksidan aktivite analizidir. Antioksidan aktivite, fenolik bileşikler, karotenoitler, askorbik asit gibi meyvedeki biyoaktif bazı bileşenlerin sinerjik etkisiyle gerçekleşmekle birlikte başlıca etki fenolik bileşiklerce oluşturulur. Literatürde, yapılan bir çalışmada, altınçilek suyunun DPPH indirgeme oranı %78 olarak bildirilmiştir [40]. Buradan altınçilek meyvesinin karakteristik olarak yüksek antioksidan aktivite sergilediği görülmektedir. Meyvenin protein miktarı için, literatürde, yapılan çalışmalarda protein içeriğinin yaş ağırlıkta %0.3-1.9 değerleri arasında olduğu bildirilmiştir [5]. Bizim çalışmamızda da meyvenin protein oranı yaş ağırlıkta %1.64 ile bu değerler aralığı içinde tespit edilmiştir. Yağ oranı için, yapılan bir çalışmada, altınçilek meyvesinin yaş ağırlıkta %2 yağ içerdiği bildirilmiştir [8]. Bir diğer çalışmada, yapılan çalışmalarda yaş ağırlıkta %0.2-0.5 arasında değerler bulunduğu bildirilmiştir [5]. Başka bir çalışmada ise, altınçilekte yağ miktarı, kurumadde bazında %3.16 olarak belirtilmiştir [41]. Bizim çalışmamızda meyvede yağ oranı yaş ağırlıkta %0.98 olarak saptanmıştır. C vitamini insan sağlığı açısından özel bir öneme sahiptir. Vücutta sentezlenemediği ve depolanamadığı için düzenli olarak tüketimi gereklidir. Suda çözünen bir vitamin olan C vitamini, pek çok sebze ve meyvede doğal olarak bulunmaktadır [42]. Altınçilek meyvesinin de oldukça yüksek oranda (159.76 mg/100 g kurumadde) ihtiva ettiği bu vitamin, ne var ki çok duyarlı

bir gıda bileşenidir. Özellikle işlenmiş gıdalarda yüksek sıcaklık, oksijen, ağır metaller gibi nedenlerle kolaylıkla parçalanarak denatüre olabilmektedir. Literatürde altınçilek meyvesinde C vitamini için farklı değerler bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, yaş ağırlıkta 43 mg/100 g [3], bir diğerinde, 95-97 mg/100 g kuru ağırlık [43], başka bir çalışmada, yaklaşık olarak 90 mg/100 g kuru ağırlık [44], son bir çalışmada ise, yaş ağırlıkta 20-43 mg/100 g arası [5] değerler bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise yaş ağırlıkta 34.98 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. İklim şartları, özellikle de sıcaklık ve ışık yoğunluğunun meyvelerde besinsel özellikler üzerinde güçlü etki sahibi olduğu bilinmektedir. Düşük sıcaklıklarda C vitamini sentezinin arttığı ve oksidasyonunun azaldığı ve ışık yoğunluğundaki artışın C vitamini miktarını arttırdığı bildirilmiştir [45, 46]. Farklı çalışmalarda C vitamini değerlerinin farklı çıkması muhtemelen bu nedenlerden kaynaklanmaktadır. Farklı meyve ve sebzelerin C vitamini miktarlarının verildiği bir kaynaktan; yaş ağırlıkta, portakalın 40-55 mg/100 g, elmanın 2-10 mg/100 g, çileğin 60 mg/100 g, eriğin 3-5 mg/100 g, muzun 10-25 mg/100 g, havucun 6-10 mg/100 g ve domatesin 25-35 mg/100 g C vitamini içerdiği bildirilmiştir [47]. Bu değerler ışığında, altınçilek meyvesinin C vitamini açısından iyi bir kaynak olduğu belirtilebilecektir.

Meyve örneklerinde ayrıca  $\alpha$ -karoten ve  $\beta$ -karoten içeriği saptanmış,  $\beta$ -karoten miktarının  $\alpha$ -karoten miktarından belirgin düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 1). Altınçilekte belirlenen fenolik bileşikler ise, Tablo 2'de gösterilmiştir. Meyvede rutin, gallik asit, vanilin, *p*-kumarik asit, ferulik asit ve sinamik asit saptanmıştır. Başlıca saptanan fenolik bileşik rutindir. İkinci en yüksek saptanan fenolik bileşik gallik asittir. Literatürde, bir çalışmada, altınçilek meyvesinde bulunan flavanoller çalışılmıştır [48]. Bu çalışmada, meyvede rutin, mirisetin ve kuersetin varlığı gözlenmiş, kuersetin bulunmadığı başlıca rutin ayrıca mirisetin bulunduğu tespit edilmiştir [48]. Olgun meyvede 6.76-6.90  $\mu$ g/g rutin olduğunu tespit etmişlerdir. Bu değer bizim çalışmamızda bulunan rutin içeriğine (0.0058 mg/g yaş ağırlık) oldukça yakındır. Literatürde altınçilek meyvesinin fenolik kompozisyonu ile ilgili daha kapsamlı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Altınçilek meyvesinde başlıca şekerler ise, sakkaroz, glikoz ve fruktoz olarak belirlenmiştir (Tablo 3). Literatürde altınçilek meyvesinin şeker kompozisyonunun belirlendiği bir çalışmada, çalışmamızda bulunan sonuç ile uyumlu olarak meyvede, sakkaroz miktarı, glikoz ve fruktozdan daha yüksek olarak tespit edilmiştir [2]. Portakal, kavun, ananas, şeftali, kayısı ve muz meyvelerinin de en fazla içerdikleri şeker sakkarozdur. Elma, armut, çilek ve nar meyvelerinin başlıca içerdikleri şeker ise fruktozdur [2, 45]. Altınçilek meyvesinin en fazla içerdiği şeker sakkaroz olmakla birlikte, sakkaroz ve fruktoz miktarları birbirine çok yakın tespit edilmiştir.

Tablo 1. Altınçilek meyvesinin bazı fizikokimyasal özellikleri

*Table 1. Some physicochemical properties of cape gooseberry fruit*

Özellikler	Ortalama±Standart Sapma
pH	3.64±0.01
Titre edilebilir asitlik (%)	1.69±0.04
Su aktivitesi (a <sub>w</sub> )	0.97±0.01
Kül (% km*)	4.62±0.04
Suda çözünebilir kuru madde	15.10±0.10
Kuru madde	21.90±0.19
L	57.89±0.15
a	14.35±0.31
b	41.07±0.22
Kroma	43.51±0.19
Hue açısı	70.73±0.44
Protein (% km)	7.49±0.13
Yağ (% km)	4.47±0.51
Karbonhidrat (% km)	83.43±0.63
Enerji (kcal/100 g)	68.87±1.12
Toplam fenolik madde (mg/g km)	1.92±0.03
Toplam karotenoit madde (mg/100 g km)	11.50±0.05
Vitamin C (mg/100 g km)	159.76±8.25
Antioksidan inhibisyon (%)	88.03±0.13
α-karoten (mg/100 g km)	2.79±0.05
β-karoten (mg/100 g km)	5.37±0.07

Tablo 2. Altınçilek meyvesinin fenolik kompozisyonu (mg /100 g km)

*Table 2. Phenolic composition of cape gooseberry (mg /100 g dry matter)*

Fenolik bileşen	Ortalama±Standart Sapma
Rutin	2.65±0.15
Gallik asit	2.10±0.92
Vanilin	0.37±0.10
Ferulik asit	0.27±0.10
p-Kumarik asit	0.18±0.00
Sinamik asit	0.09±0.00

Tablo 3. Altınçilek meyvesinin şeker kompozisyonu (g /100 g km)

*Table 3. Carbohydrate composition of cape gooseberry (mg /100 g dry matter)*

Şeker bileşeni	Ortalama±Standart Sapma
Sakkaroz	11.42±0.65
Früktoz	10.11±1.54
Glikoz	8.57±1.12

## SONUÇ

Meyveler insan metabolizmasının fonksiyonlarını yerine getirmesi için düzenli olarak ihtiyaç duyulan bileşenleri içerir. Ayrıca sağlık üzerinde olumsuz etkilere neden olan pek çok etkene karşı koruyucu etki gösterdikleri bilinmektedir. Bu nedenle sağlıklı bir diyet için yeterli miktarda meyve tüketimi önemlidir. Altınçilek meyvesi, fenolik bileşikler, vitamin C ve karotenoidler gibi biyoaktif özelliklere sahip bileşenleri içeren tropikal bir meyvedir. Ayrıca yüksek miktarda diyetel lif ve mineral içeriğine sahiptir. Bu özellikleri ile ve kendine has farklı tadı ile yeni geliştirilecek gıda ürünlerine işlenmeye aday bir meyvedir. Bu çalışmada, son yıllarda tropikal meyve yetiştiriciliğinin oldukça yaygınlaştığı Antalya ilinde yetiştirilen altınçilek meyvelerinin fizikokimyasal özellikleri ve besin değerleri incelenmiştir. Meyvenin, C

vitamini, karotenoidler ve fenolik bileşikler açısından oldukça zengin olduğu tespit edilmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Rodrigues, E., Rockenbach, I.I., Cataneo, C., Gonzaga, L.V., Chaves, E.S., Fett, R. (2009). Minerals and essential fatty acids of the exotic fruit *Physalis peruviana* L. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 29(3), 642-645.
- [2] Fischer, G., Lüdders, P. (1997). Developmental changes of carbohydrates in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits in relation to the calyx and the leaves. *Agronomia Colombiana*, XIV(2), 95-107.
- [3] Ramadan, M.F. (2011a). Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape

- gooseberry (*Physalis peruviana* L.): An overview. *Food Research International*, 44, 1830-1836.
- [4] Berger R.G., Drawert F., Kollmannsberger H. (1989). The flavour of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *Z Lebensm Unter Forsch*, 188, 122-126.
- [5] Puente, L.A., Pinto, C.A., Castro, E.S., Cortes, M. (2011). *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*, 44, 1733-1740.
- [6] Anonim. (2007). Mystery fruit-poha, or cape gooseberry. Erişim Tarihi: 19.01.2014. <http://lastcrumb.com/2007/10/21/mystery-fruit-poha-or-cape-gooseberry/>
- [7] Trincherro, G.D., Sozzi, G.O., Cerri, A.M., Vilella, F., Frasciara, A.A. (1998). Ripening-related changes in ethylene production, respiration rate and cell-wall enzyme activity in goldenberry (*Physalis peruviana*) a solanaceous species. *Postharvest Biology and Technology*, 16, 139-145.
- [8] Ramadan, M.F., Moersel, J.T. (2003). Oil goldenberry (*Physalis peruviana* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 969-974.
- [9] Ramadan, M.F. (2011b). *Physalis peruviana*: A rich source of bioactive phytochemicals for functional foods and pharmaceuticals. *Food Reviews International*, 27, 259-273.
- [10] Anonim. (2014). Altınçilek (*Physalis peruviana* goldenberry). Erişim Tarihi: 15.01.2014. [http://web.ogm.gov.tr/birimler/merkez/odundisiurun/Dkmanlar/bitkisel\\_urunler\\_sube\\_mudurlugu/BITKIS\\_EL%20URUNLER/ALTIN%20C%3%87%C4%BOL\\_EK.pdf](http://web.ogm.gov.tr/birimler/merkez/odundisiurun/Dkmanlar/bitkisel_urunler_sube_mudurlugu/BITKIS_EL%20URUNLER/ALTIN%20C%3%87%C4%BOL_EK.pdf)
- [11] Mayorga, H., Knapp, H., Winterhalter, P., Duque, C. (2001). Glycosidally bound flavor compounds of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1904-1908.
- [12] Klinac, D.J. (1986). Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) production systems. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 1986(14), 425-439.
- [13] Anonim. (2010). Malatya'nın yeni ürünü altın çilek. Erişim Tarihi: 15.01.2014. <http://www.kobiden.com/malatyanin-yeni-urunu-altin-cilek-7941h.htm>
- [14] Çelik, H. (2011). Altınçilek, yeni alternatif meyve. Erişim Tarihi: 01.10.2012. [http://www.gifimey.com/altin\\_cilek\\_hakinda.pdf](http://www.gifimey.com/altin_cilek_hakinda.pdf)
- [15] El-Tohamy, W.A., El-Abagy, H.M., Abou-Hussein, S.D., Gruda, N. (2009). Response of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) to nitrogen application under sandy soil conditions. *Gesunde Pflanzen*, 61, 123-127.
- [16] Valdenegro, M., Almonacid, S., Henriquez, C., Lutz, M., Fuentes, L., Simpson, R. (2013). The effects of drying processes on organoleptic characteristics and the health quality of food ingredients obtained from goldenberry fruits (*Physalis peruviana*). *Open Access Scientific Reports*, 642(2), 2.
- [17] Sugiyama, N., Roemer, K., Bünemann, G. (1991). Sugar pattern of exotic fruits from the Hannover market, Germany. *Gartenbauwissenschaft*, 56(3), 126-129.
- [18] National Research Council. (1989). Lost crops of the Incas: Little known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. 240-251. Washington D.C., National Academy Press
- [19] Wu, S., Ng, L., Huang, Y., Lin, D., Wang, S., Huang, S., Lin, C. (2005). Antioxidant activities of *Physalis peruviana*. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, 28(6), 963-966.
- [20] Valdenegro, M., Fuentes, L., Herrera, R., Moya-Leon, M.A. (2012). Changes in antioxidant capacity during development and ripening of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) fruit and in response to 1-methylcyclopropene treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 67, 110-117.
- [21] Gutierrez, M.S., Trincherro, G.D., Cerri, A.M., Vilella, F., Sozzi, G.O. (2008). Different responses of goldenberry fruit treated at four maturity stages with the ethylene antagonist 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 199-205.
- [22] Cemeroglu, B. (2010). Gıda Analizleri, 2. baskı. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 34, 657 s, Ankara.
- [23] AOAC. (2011). Official methods of analysis, 18th ed. (2005) Revizyon 4. Gaithersburg, MD.
- [24] Singleton, V.L., Rossi, J.R., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphothungstic acid. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- [25] Dorman, H.J.D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M.J. (2003). Characterization of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs, *Food Chemistry*, 83(2), 255-262.
- [26] Dere, Ş., Güneş, T., Sivacı, R. (1997). Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*, 22, 13-17.
- [27] Otles, S. (1993). The nutrient composition of watermelons (*Citrullus vulgaris*) in Turkey. *Tropicultura*, 11, 70-71.
- [28] Uylaşer, V., Başoğlu, F. (2011). Temel Gıda Analizleri. Dora Yayınları, 125s, Bursa.
- [29] Tomas Barberan, F.A., Gil, M.I., Cremin, P., Waterhouse, A., Hess Pierce, B., Adel, K. (2001). HPLC-DAD\_ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4748-4760.
- [30] Olives Barba, A.I., Camara Hurtado, M., Sanchez Mata, M.C., Fernandez Ruiz, V., Lopez Saenz de Tejada M. (2006). Application of a UV-vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and  $\beta$ -carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 95, 328-336.
- [31] Karkacier, M., Erbaş, M., Uslu, M.K., Aksu, M. (2003). Comparison of different extraction and detection methods for sugars using amino-bonded phase HPLC. *Journal of Chromatographic Science*, 41, 331-333.
- [32] Ersoy, N., Bağcı, Y. (2011). Altınçilek (*Physalis peruviana* L.), pepino (*Solanum muricatum* Ait.) ve passiflora (*Passiflora edulis* Sims) tropikal meyvelerinin bazı fizikokimyasal özellikleri ve

- antioksidant aktiviteleri. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 25(3), 67-72.
- [33] Anton, G.E., Lestrage, M., Barrett, D.M. (2011). Changes in pH, acids, sugars and other quality parameters during extended vine holding of ripe processing tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(7), 1175-1181.
- [34] McGuire, R.G. (1992). Reporting of objective color measurements. *Hort Science*, 27, 1254-1255.
- [35] Akdoğan, A., Özdemir, F. (2006). Gıdaların işlenmesi sırasında karotenoid bileşiklerde meydana gelen değişiklikler. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- [36] Müller, H. (1997). Determination of carotenoid content in selected vegetables and fruit by HPLC and photodiode array detection. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung*, 204, 88-94.
- [37] Restrepo, A. (2008). Nuevas perspectivas de consumo de frutas: Uchuva (*Physalis peruviana* L.) y Fresa (*Fragaria vesca* L.) minimamente procesadas fortificadas con vitamina E. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Magister en Ciencia y Tecnología de Alinoentos, 107.
- [38] Botero, A. (2008). Aplicacion de la Ingenieria de matrices en el desarrollo da la uchuva minimamente procesada fortificada con calcio y vitaminas C y E. Facultad de quimica farmaceutica, Magister en Ciancias Farmaceuticas, Entasis en Alimentos, 185.
- [39] Youn, G., Yeum, K., Cho, Y., Oliver Chen, C., Tang, G., Blumberg, J.B., Russell, R.M., Yoon, S., Lee-Kim, Y. (2012). Carotenoids and total phenolic contents in plant foods commonly consumed in Korea. *Nutrition Research and Practice*, 6, 481-490.
- [40] Ramadan, M.F., Moersel, J.T. (2007). Impact of enzymatic treatment on chemical composition, physicochemical properties and radical scavenging activity of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 452-460.
- [41] Zhang, Y.J., Deng, G.F., Xu, X.R., Wu, S., Li, H.B. (2013). Chemical components and bioactivities of cape gooseberry (*Physalis peruviana*). *International Journal of Food Nutrition and Safety*, 3(1), 15-24.
- [42] Iqbal, K., Khan, A., Khattak, M.A.K. (2004). Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health-a review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1, 5-13.
- [43] Rop, O., Mlcek, J., Jurikova, T., Valsikova, M. (2012). Bioactive content and antioxidant capacity of cape gooseberry fruit. *Central European Journal of Biology*, 7(4), 672-679.
- [44] Lopez, J., Vega-Galvez, A., Torres, M.J., Lemus-Mondaca, R., Quispe-Fuentes, I., Scala, K.D. (2013). Effect of dehydration temperature on physico-chemical properties and antioxidant capacity of goldenberry (*Physalis peruviana* L.). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 73(3), 293-300.
- [45] Anonim. (2001). Nutritional quality and its importance to human health. Erişim Tarihi:12.08.2014. <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/nutritionalQuality.pdf>
- [46] Schonhof, H., Krumbein, A., Clauben, W., Schreiner, M. (2007). Effect of temperature increase under low radiation conditions on phytochemicals and ascorbic acid in greenhouse grown broccoli. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 119, 103-111.
- [47] Cemeroglu, B.S. (2013). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Bizim Grup Basımevi, 707s, Ankara.
- [48] Licodiedoff, S., Koslowski, L.A.D., Ribani, R.H. (2013). Flavonols and antioxidant activity of *Physalis peruviana* L. fruit at two maturity stages. *Acta Scientiarum Technology, Maringa*, 35(2), 393-399.

## Blok Tip Eritme Peynirinden Üretilen Peynir Cipslerinin Bazı Özellikleri

Zehra Albay  ✉, Tuğçe İşliyen , Yoldaş Yıldırım , Bedia Şimşek 

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

Geliş Tarihi (Received): 07.11.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 11.05.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): zehraalbay32@gmail.com (Z. Albay)

📞 0 246 211 1541 📠 0 246 211 1072

### ÖZ

Bu çalışmada, mikrodalga kurutma uygulanarak blok tip Eritme peynirinden peynir cipsi üretimi gerçekleştirilmiştir. Cips hamurları mikrodalga fırında 360 ve 600W mikrodalga güçlerinde 120 ve 240 saniye sürelerde üretilerek dört grup peynir cipsi elde edilmiştir. Peynir cipslerine bazı fizikokimyasal, renk, tekstür, mikrobiyolojik ve duyu analizler uygulanmıştır. Peynir cipsi örneklerinin ortalama kuru madde değerleri %92.77-97.24 arasında belirlenmiştir. Kurutma süresi veya uygulanan mikrodalga gücü arttıkça kuru madde, tuz ve kül oranlarının arttığı, su aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir. Renk analiziyle 360W-120s koşullarında kurutulan örneklerin daha parlak ve sarı renkte olduğu belirlenmiştir. Mikrodalga gücü ve kurutma süresi arttıkça sarı rengin ve parlaklık değerinin azaldığı tespit edilmiştir. Cipslerin ortalama sertlik değerlerinin 384.66-520.92 g aralığında olduğu görülmüştür. Peynir cipslerinden 360W-240s koşullarında üretilen cipslerin genel kabul edilebilirlik değerinin en yüksek düzeyde olduğu ve bunu 600W-120s koşullarında üretilen cipslerin izlediği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Blok tip eritme peyniri, Peynir cipsi, Mikrodalga kurutma

### Some Properties of Cheese Chips Produced from Block Type Melting Cheese

#### ABSTRACT

In this study, cheese chips were produced from block type melting cheese by applying microwave drying. Four groups of cheese chips were obtained by producing the chips doughs at 360 and 600W microwave power for 120 and 240 seconds in a microwave oven. Some physicochemical, color, texture, microbiological and sensory analyses were applied to cheese chips. The mean dry matter values of cheese chips samples were determined between 92.77-97.24%. The dry matter, salt and ash contents of chips increased as the drying time or applied microwave power increased, and the water activity values decreased. By color analysis, it was determined that the samples dried in 360W-120s conditions were brighter and more yellow. The yellow color and brightness values of chips decreased as the microwave power and drying time increased. The mean hardness values were in the range of 384.66-520.92 g. The overall acceptability value of chips produced in a 360W-240s condition was at the highest level, followed by chips produced at 600W-120s.

**Keywords:** Block type melting cheese, Cheese chips, Microwave drying

#### GİRİŞ

Atıştırmalık, "normal bir öğünden daha küçük, genellikle öğün aralarında yenen bir yiyecek parçası olarak" tanımlanmaktadır [1]. Tuzlu atıştırmalıklar, çoğunlukla

sebze ve tahıl malzemelerden üretilen, su içeriği yaklaşık %6 olan kuru ve gevrek ürünlerdir. Patates cipslerin, mısır ezmesi ekstrüde atıştırmalıkların, un tuzlu çubukların ve bütün mısır taneleri patlamış mısırdan üretiminde kullanılmaktadır. Ancak katkısız et ve peynir

cipsleri diğer atıştırmalıklardan daha az bulunmaktadır veya hiç bulunmamaktadır [2].

Eritme peyniri; telemenin, bir veya farklı peynirlerin, direk olarak veya gerektiğinde krema, peyniraltı suyu tozu gibi süt mamulleri ilave edilerek elde edilen karışıma emülsifiye edici tuzlar katılarak ve ısı işlem uygulanması ile üretilen, sürülebilir veya dilimlenebilir nitelikte olan peynirdir [3]. Eritme peyniri; oda sıcaklığında saklanabilmesi, patojen mikroorganizmaların bulunmaması, aşırı derecede olgunlaşmış ve uzun süre muhafaza edilmiş peynirlerin kullanılarak değerlendirilmesi gibi avantajlara sahiptir [4]. Eritme peyniri, genel olarak suda ve yağda eriyebilen vitaminler, süt yağı, protein, esansiyel ve esansiyel olmayan aminoasitleri içermektedir [5].

Atıştırmalıkların üretiminde hammaddenin ısı işlemi için yaygın olarak kızartma, ekstrüzyon, genleşme ve fırınlama yöntemleri kullanılmaktadır [2]. Mikrodalga enerjisi kullanılan ısıyla kurutma, proses teknolojisindeki birçok soruna çözüm olmaktadır. Mikrodalgayla kurutmada ısı, elektromanyetik enerjinin doğrudan kinetik moleküler enerjiye dönüştürülmesiyle üretilmektedir, böylece ısı kurutulacak malzemenin iç kısmında oluşmaktadır. Mikrodalgayla kurutma, kurutulmuş ürünün son kalitesini bozmadan kuruma süresini kısaltarak daha iyi bir tekstür elde edilmesini sağlamaktadır [6].

Patates cipsleri yüksek sıcaklıklarda yağda kızartılarak üretilen ürünler oldukları için [1] yüksek miktarda akrilamid içermektedirler, bundan dolayı da potansiyel sağlık riski taşıdığı belirtilmektedir. Patates cipslerinde akrilamid içeriğini azaltma üzerine ve patates cipsine alternatif olarak ananas, havuç, elma, muz, gluten, buğday ve tarhana gibi farklı hammaddelerden cips üretimi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır [7].

Katkı ilavesi yapılmadan yalnızca peynirden üretilen peynir cipsi ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Dil peyniri ve Teleme peynirinden fırında pişirme ile üretilen peynir cipslerinin bazı özellikleri ve akrilamid içeriği [7], genleşerek gevrek atıştırmalık bir ürüne dönüşen mikrodalgayla şişirilmiş imitasyon peynirlerin özellikleri [8-11], mısır unundan yapılan peynirli atıştırmalıkta zearalenon varlığının belirlenmesi [12], mikrodalga vakumlu kurutucuda üretilen Cheddar peynirli atıştırmalıkların bazı özellikleri [6], anlık kontrollü basınç düşüşü işlemi ile tekstüre edilmiş katkısız peynir atıştırmalıklarının karakterizasyonu [13], peynir tozu kullanılarak yemeye hazır ekstrüde atıştırmalıkların geliştirilmesi [14], asitle olgunlaştırılmış peynire (Harzer peyniri) mikrodalga vakumlu kurutma uygulanarak üretilen katkısız peynirli pufların özellikleri [2], peynir aromalı mısır bazlı şişirilmiş atıştırmalıkların özellikleri [15, 16], yağsız Cottage peynirine dayalı çerez hamurunun emülsiyon kapasitesinin incelenmesi [17], tatlı kırmızı biber, chumichurri ve biberli safran ile lezzetlendirilmiş peynir hamuruyla yapılan atıştırmalıkların kabul edilebilirliğinin geliştirilmesi [18] ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Kaşar benzeri Eritme

peyniri kullanılarak mikrodalga fırında kurutma yapılarak peynir cipsi üretimi ve özelliklerinin incelenmesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada proteince zengin besleyici değeri yüksek bir süt ürünü olan peynir alternatif cips hammaddesi olarak düşünülmüştür. Bu amaçla blok tip Eritme peynirinden cips üretim olanakları araştırılmıştır. Peynir cipslerinin kimyasal, fiziksel, tekstürel, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri tespit edilerek Eritme peynirinden cips üretim olanakları değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın ekonomiye ve bilime olan katkılarının yanı sıra peynir üretiminin farklı bir gıda sektöründe değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Çalışmada kullanılan blok tip Eritme peyniri Isparta Ünsüt Süt ve Süt Ürünleri İşletmesi'nde üretilmiştir. Peynir cipslerinin üretimi Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

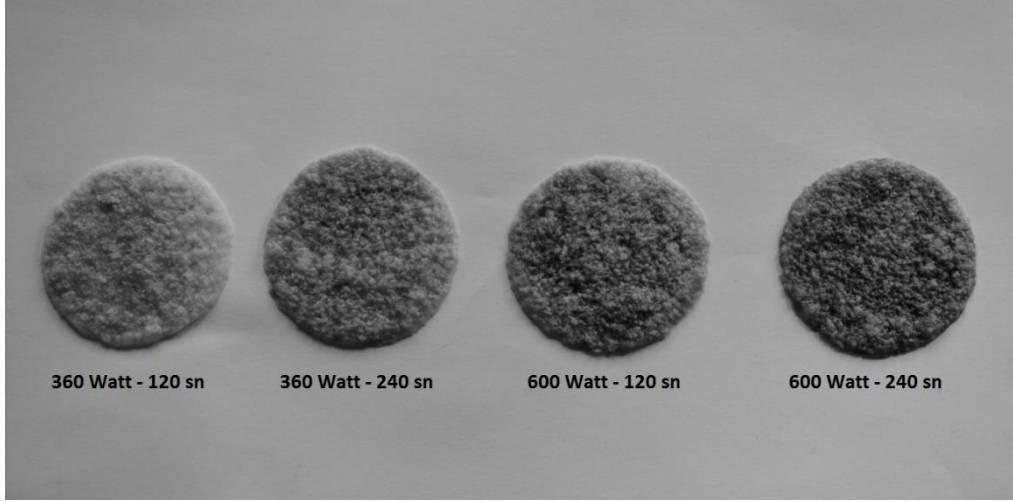
### Metot

#### Eritme Peyniri ve Peynir Cipsi Üretimi

Eritme peyniri üretimi için çiğ inek sütü 68°C'de 15-20 dakika pastörize edilip 35-36°C'ye kadar soğutulmuştur. Starter termofilik kültür (Chr-Hansen TCC-50) (%2) ve kimozen peynir mayası (Maxiren) ilavesi yapıldıktan sonra 35-36°C'de 45 dakika mayalanmıştır. Daha sonra pıhtı kırımı yapıp dinlendirmeye bırakılmıştır. Elde edilen pıhtı 38-40°C'ye kadar ısıtıldıktan sonra peyniraltı suyu uzaklaştırılmıştır. pH 5.80-5.90 olana kadar asitlendirme işlemi yapılmıştır ve ardından pH 5.40 iken doğrama yapılmıştır. pH 5.25'e gelince %0.5 oranında eritme tuzu (2185 ve 3112 no'lu) ilave edilmiştir. Son olarak kalıplama ve kurutma işlemlerinden (24-48 saat) sonra vakum paketlenme yapılmıştır. Paketlenen Eritme peynirleri 4±1°C'de depolanmıştır. Eritme peyniri örneklerinin kimyasal, renk ve tekstür profil analizleri yapılmıştır.

Üretilen Eritme peynirleri rendelendikten sonra yoğrularak hamur haline getirilmiştir. Eritme peyniri hamurları 0.6±0.1 cm'e inceltirilmiştir. Daha sonra yuvarlak cips şekli verilmiştir. Elde edilen cips hamurları dört gruba ayrılmıştır. Peynir cipsi hamurları mikrodalga fırında kullanılan cam tepsi üzerine yerleştirilmiştir. Cips grupları ön deneme sonucuna göre belirlenen 360 W 120 s (A1), 360 W 240 sn (A2), 600 W 120 s (A3) ve 600 W 240 s (A4) mikrodalga fırında (Bosch 5870 GH, Almanya) kurutulmuştur (Şekil 1). Üretilen cipsler vakum ayarı kapatılarak hava almayacak şekilde şeffaf vakum torbalarda ambalajlanarak 4±1°C'de ilk gün analizleri tamamlanana kadar depolanmıştır. Cips örneklerinin kimyasal, renk, tekstür, mikrobiyolojik ve duyuşsal analizleri yapılmıştır.





Şekil 1. Blok tip Eritme peynirinden üretilmiş peynir cipsi  
*Figure 1. Cheese chips made from block type melted cheese*

### Çiğ Süt Analizleri ve Eritme Peyniri Analizleri

Eritme peyniri yapımında kullanılacak sütün kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla, çiğ süte; özgül ağırlık, yağ (%), kuru madde (%), titrasyon asitliği (%LA) ve kül (%) analizleri yapılmıştır [19].

Eritme peyniri örneklerinin titrasyon asitliği % laktik asit cinsinden [20], toplam kuru madde, yağ içeriği, kül oranı [21] ve tuz oranları [5] tespit edilmiştir. Örneklerin pH değeri WTW pH 315 (Weilhelm, Almanya) dijital pH metre yardımıyla ve su aktivitesi değeri Novasina marka (Lab Touch-aw, Lachen, İsviçre) su aktivitesi cihazı yardımıyla belirlenmiştir.

Eritme peynirlerinin L\* (parlaklık), a\* (yeşil/kırmızı) ve b\* (mavi/sarı) renk değerleri Minolta Chroma Meter (CR-400 Konica Minolta, Inc., Japan) cihazı yardımıyla saptanmıştır. Renk ölçümü rastgele seçilen 3 örneğin 3 farklı noktasında yapılmıştır.

Eritme peynirlerinden 36x36x25 mm boyutlarında kesildikten sonra 20±2°C sıcaklıkta tekstür analiz cihazında (Texture Stable Micro Systems, TA-XT Plus, İngiltere), P/0.75S numaralı ¼" ball tip prop (Stable Micro Systems) kullanılarak tekstür analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz sırasında 1 mm/s prob hızı ve 10 mm uzaklık (prob-peynir yüzeyi arası mesafe) değerleri kullanılarak her peynir örneğinden en az 3 farklı ölçüm yapılmıştır. Tekstür profili analizi sonucunda sertlik (hardness), dış yapışkanlık (adhesiveness), esneklik (springiness), iç yapışkanlık (cohesiveness), sakızimsılık (gumminess), çiğnenebilirlik (chewiness) ve elastikiyet (resilience) parametreleri tespit edilmiştir.

### Peynir Cipsi Analizleri

#### Fizikokimyasal Analizler

Peynir cipsi örneklerinin kalınlık ve çap ölçümleri dijital kumpas (0.001 mm, Mitutoyo, Tokyo, Japonya) yardımıyla [22] ve su aktivitesi değeri Novasina marka (Lab Touch-aw, Lachen, İsviçre) su aktivitesi cihazı

yardımıyla belirlenmiştir. Peynir cipsi örneklerinin pH değeri WTW pH 315 (Weilhelm, Almanya) dijital pH metre yardımıyla ve titrasyon asitliği değeri % laktik asit (LA) cinsinden belirlenmiştir [19]. Cips örneklerinin kuru madde içeriği gravimetrik yöntemle, yağ oranı Gerber yöntemiyle, kül miktarı örneklerin 550°C'de kül fırınında (Nüve, MF 120, Ankara, Türkiye) yakılması sonucu [21] ve tuz oranları Mohr titrasyon yöntemiyle [5] saptanmıştır.

#### Renk Analizi ve Tekstür Analizi

Peynir cipslerinin renk değerleri (L\*, a\* ve b\*) CR-400 Minolta Chroma Meter (Konica Minolta, Inc., Japonya) renk ölçer cihazı yardımı ile belirlenmiştir. Rastgele seçilen üç peynir cipsinin her iki yüzeyinden üçer farklı noktadan renk ölçümü yapılmıştır.

Cips örneklerinin tekstür analizi, Texture Stable Micro Systems (TA-XT Plus, İngiltere) tekstür analiz cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her cips grubundan dört adet örnek analiz edilmiştir. Tekstür analizi için 1 mm/s prob hızı ve 7 mm uzaklık (prob-cips yüzeyi arası mesafe) değerleri kullanılmıştır. Three Point Bend Rig probu kullanılarak üç nokta eğme testi uygulanmıştır. Örnekler üzerine uygulanan maksimum kuvvetin uygulandığı deformasyon değeri cipsin kırılabilirliğiyle ve maksimum kuvvet değeri cipsin sertliğiyle ilişkilendirilmiştir. Cips örneklerinin kırılabilirlik (fracturability) (mm) ve sertlik (hardness) (g) değerleri belirlenmiştir.

#### Mikrobiyolojik Analizler

Maya-küf sayımı için dökme yöntemi ile Potato Dextrose Agar (Merck, Almanya) besiyerine ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan petripler 25°C'de 4-5 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Petri plaklarında gelişen koloniler sayılmıştır. 90 ml'lik ringer çözeltisi içine 10 g peynir cipsi örneği ilave edilmiştir ve karıştırılıp homojenize edilmiştir. Hazırlanan seyreltmeden 1 mL alınıp Merck Marka EMB (Eosin Methiylen-blue Lactose Sucrose) besiyerine yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petri kaplarınının 37°C'de 48 saat sonunda gelişen kolonileri Halkman [23]'e göre sayılmıştır.

## Duyusal Analizler

Peynir cipsi örneklerinin 20-25 yaş aralığındaki 10 kişilik (5 kadın ve 5 erkek) panelist grup tarafından duyu analizleri gerçekleştirilmiştir. Cips örnekleri oda sıcaklığına getirilmiştir. Rastgele belirlenen üç basamaklı sayılar ile kodlanan cips örnekleri, panelistlere su ile servis edilmiştir. Cips örneklerinin duyu analizlerinde iki ayrı test uygulanmıştır. Birinci testte peynir cipsleri renk ve görünüş, yapı ve gevreklik, tat ve koku ile genel kabul edilebilirliği açısından genel olarak değerlendirilmiştir. Uygulanan ikinci testte hedonik puanlama sistemi için puanlar en fazla beğeni 9 ve en az beğeni 1 puan olacak şekilde belirlenmiştir. Duyusal analizler konusunda deneyimli olan panelistler cips örneklerini değerlendirmeye başlamadan önce bir eğitim verilerek belirtilen duyu özellikler bakımından çok iyi ve çok kötüye temsil edecek örnekler panelistlere tattırılmış ve asıl örneklerin değerlendirilmesinde referans olarak kullanılmaları istenmiştir. Yaklaşık 3 günde tamamlanan analizler her gün sabah 10.00 ve öğleden sonra 14.00 de gerçekleştirilmiştir [24].

## İstatistiksel Analizler

Çalışmanın istatistik değerlendirmesi için SPSS (Ver. 22.0) istatistik programı kullanılarak Tukey Çoklu Karşılaştırma analizi ile sonuçlar belirlenmiştir.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

### Çiğ Süt ve Blok Tip Eritme Peyniri Analiz Sonuçları

Eritme peyniri üretimi için kullanılan çiğ inek sütlerinin ortalama özgül ağırlık ( $g/cm^3$ ), pH, titrasyon asitliği (% laktik asit), kuru madde (%), yağ (%) ve kül (%) değerlerinin sırasıyla 1.027, 6.63, 0.16, 11.84, 3.54 ve 0.75 olduğu belirlenmiştir. Eritme peyniri üretiminde kullanılan çiğ inek sütünün analiz sonuçları, Eritme peyniri ilgili yapılan diğer çalışmalarda kullanılan çiğ sütlerin analiz sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir [20, 25].

Üretilen Eritme peyniri örneklerinin ortalama pH, titrasyon asitliği (% laktik asit), kuru madde (%), yağ (%), tuz (%), kül (%) ve su aktivite değerlerinin sırasıyla 6.26, 1.75, 56.41, 21.00, 0.99, 4.05 ve 0.89 olduğu saptanmıştır. Elde edilen pH ve kuru madde değerlerinin Eritme peyniri ile yapılan diğer çalışmalardan [4, 5] yüksek, yağ oranının düşük olduğu belirlenmiştir. Tuz oranının ise Çavuş [25] tarafından belirlenen değerden düşük olduğu tespit edilmiştir.

Eritme peynirlerinin renk analiz sonuçlarına göre ortalama  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri sırasıyla  $82.18 \pm 0.55$ ,  $-1.96 \pm 0.01$  ve  $25.47 \pm 12.87$  olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen  $L^*$  ve  $a^*$  değerlerinin Boran [26]'ın yaptığı çalışma sonucuyla ve  $b^*$  değerinin Çavuş [25]'un yaptığı çalışma sonucuyla benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Yapılan tekstür analizi sonucuna göre Eritme peyniri örneklerinin ortalama sertlik değerinin  $3610.98 \pm 77.03$  g, dış yapışkanlık değerinin  $-0.60 \pm 0.10$  g/s, esneklik

değerinin  $0.93 \pm 0.00$  ve iç yapışkanlık değerinin  $0.88 \pm 0.00$  olduğu belirlenmiştir. Eritme peyniri ile ilgili yapılan bir çalışmada, örneklerin sertlik değerleri 1874.4 g ile 3760 g, dış yapışkanlık değerleri  $-2.04$  g/s ile  $-0.46$  g/s, esneklik değerleri 0.83 ile 0.66 ve iç yapışkanlık değerleri 0.73 ile 0.87 arasında değişkenlik göstermiştir [4]. Doruk [5], yaptığı çalışmada klasik yöntemle üretilen Eritme peyniri örneklerinin sertlik ve yapışkanlık değerlerini sırasıyla 77.161-95.992 g ve  $-96.28$  -  $-85.28$  g/sn aralıklarında olduğunu saptamıştır. Yapılan bir diğer çalışmada ise ortalama sertlik, esneklik, iç yapışkanlık ve dış yapışkanlık değerleri sırasıyla 3167.45 g, 0.85, 0.75 ve  $-0.57$  olarak belirlenmiştir [25]. Elde ettiğimiz tekstür sonuçlarının diğer çalışmalardan farklılık gösterdiği görülmüştür. Tekstür değerlerindeki bu farklılıklara Eritme peynirlerindeki farklı pH, kuru madde, yağ ve tuz oranlarının, kullanılan eritme tuzlarının ve oluşan biyokimyasal olayların etki ettiği düşünülmektedir.

### Peynir Cipsinin Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Yapılan ölçümler sonucunda peynir cipslerinin ortalama çaplarının 53.02-54.05 mm ve kalınlıklarının 2.10-2.85 mm arasında olduğu bulunmuştur (Tablo 1). Peynir cipslerinden 360 W-240 s koşullarında kurutulan cips örneklerinde (A2) titrasyon asitliği (%LA) değerinin daha yüksek olduğu, pH değerinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Peynir cipsi örneklerinin ortalama % kuru madde değerleri 92.77 ila 97.24 arasında değişmektedir. Kurutma süresi veya uygulanan mikrodalga gücü arttıkça kuru madde, tuz ve kül oranlarının arttığı, ancak su aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. Peynir cipsi örneklerinin hepsinde yağ içeriği %33 olarak bulunmuştur. Başlangıçta Eritme peynirinin ortalama kuru maddede % yağ değeri %37.23 iken, peynir cipslerinin ortalama kuru maddede % yağ değerlerinin %33.93 (A4 örneği)-%35.57 (A1 örneği) aralığında olduğu belirlenmiştir. Çalışma ile mikrodalga ile kurutma sonucunda örneklerin kuru maddede % yağ değerlerinin 1.04-1.09 kat aralığında azaldığı, en çok azalmanın 600 W-240 s koşullarında kurutulmuş peynir cipsi örneğinde (A4) olduğu görülmüştür. Mikrodalga ile kurutma işlemi sonucunda peynir cipslerindeki % kuru madde değerlerinin değişmesi nedeniyle örneklerin kuru maddede % yağ değerlerinin değiştiği tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, mikrodalga vakumlu kurutucuda 23 dakikalık kurutma işleminin Cheddar peynirinin yağ içeriğini 1.2 kat azalttığı ve buna kurutma işlemi sırasında kısmi yağ erimesi sonucunda peynirden salınan yağın bir kısmının plastik silindirin iç duvarlarına yerleşmesinin neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kurutma ile nem içeriğinin başlangıç seviyesine göre 4.4 kat azaldığı görülmüştür [6]. Bir diğer çalışmada 60 saniyelik mikrodalga vakumlu kurutmadan sonra imitasyon peynirde %55 su kaybı olduğu belirlenmiştir [8]. Yapılan bir diğer çalışmada ise mikrodalga vakumlu kurutma uygulanarak asitle olgunlaştırılmış peynirden (Harzer peyniri) üretilen katkısız peynirli pufların su aktivitesinin 0.35 olduğu saptanmıştır. Ayrıca %67 su ve %0.5 yağ içeriğine sahip peynirden, mikrodalgada vakumlu kurutma sonucunda %4 su ve %1.4 yağ içeriğine sahip peynirli puflar elde edildiği belirtilmiştir.

Tüm süreç boyunca peynirdeki su kaybının ortalama %94 olduğu gözlemlenmiştir [2]. Bu çalışmada elde edilen pH, kuru madde, su aktivitesi ve yağ değerlerinin, Dil peyniri ve Teleme peyniri cipsleri ile ilgili yapılan bir çalışmada belirlenen değerlerle benzer olduğu görülmüştür [7]. Valero vd. [27] çiğ süte uygulanan mikrodalga uygulamalarında pH değerlerinde önemli bir değişimin olmadığını belirtmiştir. Cips örnekleri üzerine yapılan çalışmada da sadece A1 örneğinin daha yüksek bir pH'da olduğu, diğer örneklerin arasında istatistiksel bir farklılığın bulunmadığı görülmektedir. Turgut [28] yoğurtlara farklı sürelerde uygulanan mikrodalga işleminin titrasyon asitliği üzerine önemli etkiler yaptığını bildirmiştir. Cipslere uygulanan farklı güç ve süredeki

mikrodalga işleminin bu çalışmada da önemli düzeyde etki ettiği görülmektedir. Mikrodalga uygulama süresi arttıkça örneklerin asitliklerinde bir miktar artış olmuştur. Farklı güçlerde olmasına rağmen uygulama süreleri benzer olan örneklerin yakın asitliklerde olduğu görülmektedir. Burada sıcakta bekleme aşamasında mikrobiyal ve/veya biyokimyasal birtakım reaksiyonların titrasyon asitliğini etkilemiş olabileceği düşünülmektedir. Cips örneklerine uygulanan 600 W-240 s koşullarında (A4) su aktivitesi değerinin, mikrodalga vakumlu kurutma uygulanan peynir pufar ile ilgili yapılan bir çalışma sonucunda belirlenen değere yakın olduğu saptanmıştır [2].

Tablo 1. Peynir cipsinin bazı fizikokimyasal analiz sonuçları (n=3)

*Table 1. Some physicochemical analysis results of cheese chips (n=3)*

	A1	A2	A3	A4
Ebat (çap) (mm)	53.02±0.12 <sup>b</sup>	53.45±0.25 <sup>b</sup>	53.47±0.27 <sup>b</sup>	54.05±0.02 <sup>a</sup>
Kalınlık (mm)	2.10±0.10 <sup>c</sup>	2.53±0.07 <sup>b</sup>	2.55±0.15 <sup>b</sup>	2.85±0.12 <sup>a</sup>
pH	5.56±0.02 <sup>a</sup>	5.44±0.02 <sup>b</sup>	5.45±0.05 <sup>b</sup>	5.45±0.03 <sup>b</sup>
Laktik Asit (%)	2.52±0.26 <sup>b</sup>	3.04±0.29 <sup>a</sup>	2.43±0.18 <sup>b</sup>	2.89±0.06 <sup>ab</sup>
Kuru madde (%)	92.77±0.24 <sup>c</sup>	95.95±0.01 <sup>b</sup>	95.61±0.10 <sup>b</sup>	97.24±0.42 <sup>a</sup>
Yağ (%)	33.00±0.00	33.00±0.00	33.00±0.00	33.00±0.00
Kül (%)	6.74±0.02 <sup>b</sup>	6.99±0.11 <sup>ab</sup>	6.72±0.24 <sup>b</sup>	7.29±0.04 <sup>a</sup>
Su aktivitesi (aw)	0.47±0.03 <sup>a</sup>	0.39±0.01 <sup>bc</sup>	0.40±0.01 <sup>b</sup>	0.36±0.00 <sup>c</sup>
Tuz (%)	1.54±0.00 <sup>d</sup>	1.69±0.00 <sup>c</sup>	1.73±0.01 <sup>b</sup>	1.82±0.01 <sup>a</sup>

Peynir cipslerine uygulanan mikrodalga gücü ve süresi; A1: 360 Watt-120 sn, A2: 360 Watt-240 sn, A3: 600 Watt-120 sn, A4: 600 Watt-240 sn. a-d: Küçük harfler farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05).

### Peynir Cipsinin Renk Analiz Sonuçları

Peynir cipslerinin renk analiz sonuçları Tablo 2'de verilmektedir. Yapılan renk analizi ile peynir cipsi örneklerinin ortalama a\* değerlerinin 9.77-13.36 aralığında olduğu saptanmıştır. 360 W-120 s koşullarında kurutulmuş cips örneklerinin (A1) daha parlak ve sarı renkte olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kurutma süresi ile mikrodalga güç arttıkça sarı rengin ve L\* (parlaklık) değerinin azaldığı tespit edilmiştir. Çalışma ile Eritme peynirinin başlangıçtaki parlaklık değerinin mikrodalga ile kurutma sonrasında peynir cipslerinde azaldığı görülmüştür. Ayrıca Eritme peynirinin başlangıçtaki sarı renginin, 360 W mikrodalga gücünde kurutulmuş cips örnekleri ile yakın değerlerde olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada fırında pişirme uygulanan Teleme peyniri cipslerinin, Dil peyniri cipslerine göre daha parlak olduğu ve Dil peyniri cipslerinin Teleme peyniri cipslerine göre daha sarı renkte olduğu bildirmiştir [7]. Diğer bir çalışma ile mikrodalga vakumlu kurutma uygulanan Cheddar peyniri atıştırmalıklarının renginin değişerek koyu sarıya dönüştüğü ve bu duruma kurutma sonucunda nem içeriğinin azalmasının ve peynirdeki yağda çözünen karoten içeriğinin artmasının neden olduğu bildirilmiştir [6]. Başka bir çalışmada ise peynirin L\*, a\* ve b\* değerlerinin sırasıyla 46.09, -0.85 ve 8.60 olduğu ve peynire mikrodalga vakumlu kurutma uygulanması ile elde edilen peynir pufarının L\*, a\* ve b\* değerlerinin sırasıyla 82.81, 1.51 ve 20.54 olduğu belirlenmiştir [2].

Tablo 2. Peynir cipslerinin renk analiz ve tekstür sonuçları

*Table 2. Color and texture analysis results of cheese chips*

Peynir Cipsi Örneği	L*	a*	b*	Sertlik (g) (Hardness)*	Kırılabilirlik (mm) (Fracturability)*
A1	67.24±2.81 <sup>a</sup>	9.77±0.83 <sup>b</sup>	26.23±1.11 <sup>a</sup>	440.20±144.34	36.60±0.39
A2	60.92±0.77 <sup>b</sup>	13.36±0.63 <sup>a</sup>	24.24±0.62 <sup>a</sup>	438.27±67.26	37.27±0.15
A3	56.03±1.44 <sup>c</sup>	13.05±1.30 <sup>a</sup>	19.64±2.67 <sup>b</sup>	520.92±127.12	37.28±0.32
A4	53.87±1.18 <sup>c</sup>	13.32±0.24 <sup>a</sup>	18.45±0.79 <sup>b</sup>	384.66±24.22	36.64±0.63

A1: 360 W-120 s, A2: 360 W-240 s, A3: 600 W-120 s, A4: 600 W-240 s koşullarında kurutulmuş peynir cipsi. a-c: Küçük harfler farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05). \*İstatistiksel fark önemli bulunmamıştır.

### Peynir Cipsinin Tekstür Analiz Sonuçları

Eritme peyniri hamurlarının cips kalınlığına kadar inceltmesi ve mikrodalga kurutma uygulanması sonucunda üretilen peynir cipslerinin ortalama sertlik

değerlerinin 384.66-520.92 g aralığında ve kırılabilirlik değerlerinin 36.60-37.28 mm aralığında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2). Tekstür analiz cihazı ile elde edilen sertlik ve kırılabilirlik değerleri için örnekler arasında istatistiksel bir fark gözlenmemiştir. Çalışmada

uygulanan farklı güç ve süredeki mikrodalga işleminin sertlik ve kırılma değeri üzerinde önemli derecede etki etmediği görülmektedir. Uygulama güç ve sürelerinin birbirine yakın olmasının burada etkili olmuş olabileceği düşünülmektedir.

Uğur [7], çalışmada peynir cipslerine Three Point Bend Rig probu kullanarak üç nokta eğme testi uygulamıştır. Fırında kurutarak ürettiği Dil peyniri cipslerinin (kalınlık 0.04-0.10 mm, çap 3.29-3.63 mm) sertlik değerlerinin 141.74-427,26 g (1.39-4.19 N) ve Teleme peyniri cipslerinin (kalınlık 0.03-0.06 mm, çapları 2.95-3.34 mm) sertlik değerlerinin 45.88-110,13 g (0.45-1.08 N) aralığında olduğunu belirlemiştir. Çalışma ile Dil peyniri cipslerinin Teleme peyniri cipslerine göre daha sert olduğu saptanmıştır. Ayrıca Dil peyniri cipslerinin (29.25-33.91 mm) ve Teleme peyniri cipslerinin (26.24-33.94 mm) kırılma değeri benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada üretilen Eritme peyniri cipslerinin kırılma değerlerinin (36.59-37.27 mm), Dil peyniri cipsleri ve Teleme peyniri cipslerinden daha yüksek olduğu da görülmüştür. Bir diğer çalışmada, iki hava kurutma aşaması arasına yerleştirilen anlık kontrollü basınç düşüşü işlemi ile katkısız peynir gevrek atıştırmalıklarının düşük su içeriğine ve yüksek gevreklik seviyesine ulaşabileceği belirtilmiştir [13]. Yapılan bir çalışmada, mikrodalga vakumlu kurutma ile elde edilen peynir pufalarının sertlik ve kırılma (brittleness) değerlerinin sırasıyla 1511.17 g ve 3.20 mm olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca peynire uygulanan şişirme işleminin, heterojen gözenekli yapının oluşmasına neden olduğu bildirilmiştir. Vakum altında mikrodalgayla kurutma, üründe bulunan suyun buhara dönüşmesine ve hava kabarcıklarının oluşmasına neden olarak peynirin yapısının değişmesine neden olmuştur. Ayrıca rehidrasyon, su aktivitesinde artışa neden olmakta ve pufalara yapışkan bir doku vermektedir [2]. Başka bir çalışmada, farklı protein oranına sahip mikrodalgayla şişirilmiş imitasyon peynirli atıştırmalıklarda genleşme ve gevrekliğin, ısıtma süresi arttıkça arttığı ve azalan protein içeriği ile azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca mikrodalgayla genişletilmiş imitasyon peynirin gevrekliğinin, protein içeriğinden ve peynir matrisinin plastikleşme derecesinden etkilendiği bildirilmiştir [10]. Kırılma, cips yapısındaki büyük boşluklarla ve malzemenin genişlemesi ile ilişkilidir [29]. Tortilla cipslerinde kızartma süresinin tekstürel özelliklere etkisinin incelendiği bir çalışmada, sabit sıcaklıkta kırılmanın belli süreye kadar arttığı, ancak daha uzun kızartma süresinde azalma olduğu belirtilmiştir [30].

### **Peynir Cipsinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları**

Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda üretilen peynir cipslerinde maya-küf ve koliform grubu bakterilerin gelişimine rastlanmamıştır. Böylece Eritme peyniri ve peynir cipsi üretiminin kontrollü ve hijyenik koşullarda yapıldığı görülmüştür.

### **Peynir Cipsinin Duyusal Analiz Sonuçları**

Peynir cipslerine panelistler tarafından yapılan duyusal analiz sonuçları Tablo 3'de verilmiştir. Yapılan duyusal analizler sonucunda 360 Watt-120 saniye koşullarında kurutulan (A1) örneğin daha sarımsı, parlak ve yağlı görünümüne sahip olduğu saptanmıştır. Cips örneklerindeki alacalı görünümün 3.14-7.21 aralığında puan aldığı ve en yüksek puanı A4 örneğinin aldığı belirlenmiştir. Peynir cipsi örneklerinin renk ve görünüş puanlarının uygulanan mikrodalga gücü ve kurutma süresi arttıkça azaldığı ve A4 örneğinde ret aralığında (9 noktalı hedonik skalada 1-4 aralığı) olduğu görülmüştür. Sertlik, çiğnenebilirlik, çıtır sesi, elastiklik-kırılma ve kalınlık-incelik gibi cipsin karakteristik özelliklerini belirleyen duyusal parametrelerin, A1 örneğinde en az değerde olduğu ve mikrodalga gücü ve kurutma süresi arttıkça arttığı bulunmuştur. Yanık koku, yavan tat ve yabancı koku, yabancı tat ve ransit tadın hiçbir örnekte hissedilmediği görülmüştür. Cips örneklerindeki peynir kokusunun 4.57-5.64 aralığında olduğu saptanmıştır. Şekerli tat, tüm cips örneklerinde aynı puanı (0.29) almıştır. Peynir cipslerindeki tuz tadı puanının en düşük A1 örneğinde (2.29) ve en yüksek A4 örneğinde (5.14) olduğu belirlenmiştir. Peynir cipsi örneklerinden A2 örneğinin genel kabul edilebilirlik değerinin en yüksek düzeyde olduğu (7.93) ve bunu A3 örneğinin (7.87) izlediği tespit edilmiştir. Ayrıca A3 örneğinin yapı ve gevreklik, tat ve koku, çiğnenebilirlik gibi duyusal parametrelerinin daha yüksek puanlarda olduğu saptanmıştır.

### **SONUÇ**

Atıştırmalıklar, özellikle çocuk ve genç kesimin tercih ettiği ve genellikle karbonhidrat ağırlıklı hammaddeden üretilen bir gıda çeşididir. Bu nedenle besleyici değeri yüksek ve protein bazlı blok Eritme peynirinden, mikrodalgayla kurutma uygulanarak sağlıklı atıştırmalık bir peynir cipsinin üretim olanakları araştırılmıştır.

Peynir cipslerine uygulanan analizler sonucunda kurutma süresi veya uygulanan mikrodalga gücü arttıkça kuru madde, tuz ve kül oranlarının arttığı, su aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. Örneklerde sarı renk ve parlaklık değeri de azalmıştır. Genel kabul edilebilirlik değerinin 360 W-240 s koşullarında üretilen cipslerde en yüksek düzeyde olduğu ve bunu 600 W-120 s koşullarında üretilen cips örneklerinin izlediği tespit edilmiştir. Ayrıca 600 W-120 s koşullarında hazırlanan cipslerin yapı ve gevreklik, tat ve koku, çiğnenebilirlik gibi duyusal parametrelerinin daha yüksek puanlarda olduğu ve tekstür açısından daha sert ve kırılma yapıda olduğu görülmüştür. Yapılan çalışma ile Eritme peynirinden mikrodalga kurutma yöntemi kullanılarak, cips için istenen tat ve tekstüre sahip peynir cipsi üretilebileceği kanısına varılmıştır.

Tablo 3. Peynir çipsinin duyu analizi sonuçları  
 Table 3. Sensory analysis results of cheese chips

	A1	A2	A3	A4
Renk ve Görünüş	4.71±0.00 <sup>a</sup>	4.07±0.07 <sup>b</sup>	2.93±0.36 <sup>c</sup>	1.50±0.07 <sup>d</sup>
Yapı ve Gevreklik	3.07±0.64 <sup>a</sup>	3.79±0.07 <sup>a</sup>	4.00±0.00 <sup>a</sup>	3.43±0.57 <sup>a</sup>
Tat ve Koku	3.00±0.00 <sup>b</sup>	3.71±0.00 <sup>a</sup>	3.86±0.14 <sup>a</sup>	2.50±0.07 <sup>c</sup>
Genel Kabul Edilebilirlik	5.43±0.14 <sup>b</sup>	7.93±0.50 <sup>a</sup>	7.87±0.56 <sup>a</sup>	5.07±0.36 <sup>b</sup>
Mat- Parlak	8.00±0.14 <sup>a</sup>	5.89±0.32 <sup>b</sup>	3.71±0.14 <sup>c</sup>	2.14±0.14 <sup>d</sup>
Yağlı Görünüm	7.36±0.07 <sup>a</sup>	5.07±0.21 <sup>b</sup>	3.86±0.29 <sup>c</sup>	2.64±0.50 <sup>d</sup>
Alacalı Görünüm	3.14±0.00 <sup>c</sup>	4.57±0.43 <sup>b</sup>	6.64±0.21 <sup>a</sup>	7.21±0.50 <sup>a</sup>
Sertlik	3.86±0.00 <sup>d</sup>	4.86±0.14 <sup>c</sup>	6.07±0.36 <sup>b</sup>	7.21±0.07 <sup>a</sup>
Çiğnenebilirlik	4.21±0.21 <sup>b</sup>	6.93±0.07 <sup>a</sup>	7.29±0.14 <sup>a</sup>	7.00±0.29 <sup>a</sup>
Çıtır Ses	4.93±0.36 <sup>b</sup>	7.21±0.21 <sup>a</sup>	7.71±0.43 <sup>a</sup>	7.93±0.64 <sup>a</sup>
Elastiklik-Kırılganlık	4.64±0.50 <sup>c</sup>	6.71±0.14 <sup>b</sup>	7.71±0.29 <sup>a</sup>	8.43±0.14 <sup>a</sup>
Kalınlık-İncelik	4.36±0.07 <sup>b</sup>	6.57±0.43 <sup>a</sup>	7.00±0.43 <sup>a</sup>	7.14±0.57 <sup>a</sup>
Peynir Kokusu	5.07±0.21 <sup>b</sup>	5.50±0.21 <sup>ab</sup>	5.64±0.07 <sup>a</sup>	4.57±0.14 <sup>c</sup>
Yabancı Koku	1.79±0.07 <sup>a</sup>	1.43±0.14 <sup>a</sup>	1.64±0.21 <sup>a</sup>	1.93±0.36 <sup>a</sup>
Yanık Koku	1.64±0.07 <sup>d</sup>	3.07±0.21 <sup>c</sup>	4.43±0.43 <sup>b</sup>	6.79±0.07 <sup>a</sup>
Tuz Tadı	2.29±0.00 <sup>b</sup>	4.36±0.50 <sup>a</sup>	4.64±0.07 <sup>a</sup>	5.14±0.43 <sup>a</sup>
Yanık Tat	1.57±0.14 <sup>c</sup>	3.21±0.21 <sup>b</sup>	3.64±0.50 <sup>b</sup>	5.79±0.21 <sup>a</sup>
Şekerli Tat	0.29±0.00 <sup>*</sup>	0.29±0.00 <sup>*</sup>	0.29±0.00 <sup>*</sup>	0.29±0.00 <sup>*</sup>
Yabancı Tat	1.21±0.21 <sup>ab</sup>	1.07±0.07 <sup>b</sup>	1.00±0.00 <sup>b</sup>	1.43±0.14 <sup>a</sup>
Ransit Tat	1.29±0.14 <sup>b</sup>	1.43±0.14 <sup>b</sup>	1.93±0.36 <sup>ab</sup>	2.43±0.43 <sup>a</sup>
Yavan Tat	3.21±0.07 <sup>b</sup>	2.64±0.07 <sup>c</sup>	3.43±0.36 <sup>b</sup>	5.36±0.21 <sup>a</sup>

A1: 360 W-120 s, A2: 360 W-240 s, A3: 600 W-120 s, A4: 600 W-240 s koşullarında kurutulmuş peynir çipsi. a-d: Küçük harfler farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05). \*İstatistiksel fark önemli bulunmamıştır.

## KAYNAKLAR

- [1] Duarte-Correa, Y., Díaz-Osorio, A., Osorio-Arias, J., Sobral, P.J.A., Vega-Castro, O. (2020). Development of fortified low-fat potato chips through vacuum impregnation and microwave vacuum drying. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 64, 1-11.
- [2] Chudy, S., Makowska, A., Piatek, M., Krzywdzinska-Bartkowiak, M. (2019). Application of microwave vacuum drying for snack production: Characteristics of pure cheese puffs. *International Journal of Dairy Technology*, 72(1), 82-88.
- [3] TSE. (2015). Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği, Sayı: 29261, Tebliğ No: 2015/6, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- [4] Cankurt, H., Yüksel, R., Yetim, H. (2019). Investigation on using possibilities of egg in the production of diet block type melting cheese. *European Journal of Science and Technology*, 15, 579-590.
- [5] Doruk, İ. (2018). Farklı Proses Tekniklerinin Eritme Peyniri Yapımında Ürün Kalitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- [6] Rakcejeva, T., Zagorska, J., Dukalska, L., Galoburda, R., Eglitis, E. (2009). Physical-chemical and sensory characteristics of Cheddar cheese snack produced in vacuum microwave dryer. *Cheminé Technologija*, 3(52), 16-20.
- [7] Uğur, S. (2019). Tatlı ve Tuzlu Peynir Çipsi Özelliklerinin ve Akriamid İçeriklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- [8] Arimi, J.M., Duggan, E., O’Riordan, E.D., O’Sullivan, M., Lyng, J.G. (2008). Microwave expansion of imitation cheese containing resistant starch. *Journal of Food Engineering*, 88, 254-262.
- [9] Arimi, J.M., Duggan, E., O’Sullivan, M., Lyng, J.G., O’Riordan, E.D. (2011). Effect of protein:starch ratio on microwave expansion of imitation cheese-based product. *Food Hydrocolloids*, 25, 1069-1076.
- [10] Arimi, J.M., Duggan, E., O’Sullivan, M., Lyng, J.G., O’Riordan, E.D. (2012). Crispiness of a microwave-expanded imitation cheese: Mechanical, acoustic and sensory evaluation. *Journal of Food Engineering*, 108, 403-409.
- [11] Liu, L., Zhang, H., Li, X., Han, X., Qu, X., Chen, P., Wang, H., Wang, L. (2018). Effect of waxy rice starch on textural and microstructural properties of microwave-puffed cheese chips. *International Journal of Dairy Technology*, 71(2), 501-511.
- [12] Oveisi, M.R., Hajimahmoodi, M., Memarian, S., Sadeghi, N., Shoeibi, S. (2005). Determination of zearalenone in corn flour and a cheese snack product using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Food Additives and Contaminants*, 22(5), 443-448.
- [13] Mounir, S., Halle, D., Allaf, K. (2011). Characterization of pure cheese snacks and expanded granule powders textured by the instant controlled pressure drop (DIC) process. *Dairy Science and Technology*, 91, 441-455.
- [14] Kocherla, P., Aparna, K., Lakshmi, D.N. (2012). Development and evaluation of RTE (Ready to Eat) extruded snack using egg albumin powder and cheese powder. *Agric Eng Int: CIGR Journal*, 14(4), 179-187.

- [15] Menis-Henrique, M.E.C., Janzantti, N.S., Andriot, I., Sémon, E., Berdeaux, O., Schlich, P., Conti-Silva, A.G. (2019). Cheese-flavored expanded snacks with low lipid content: Oil effects on the invitro release of butyric acid and on the duration of the dominant sensations of the products. *LWT-Food Science and Technology*, 105, 30-36.
- [16] Menis-Henrique, M.E.C., Janzantti, N.S., Monteiro, M., Conti-Silva, A.G. (2020). Physical and sensory characteristics of cheese-flavored expanded snacks obtained using butyric acid and cysteine as aroma precursors: Effects of extrusion temperature and sunflower oil content. *LWT-Food Science and Technology*, 122, 1-9.
- [17] Gurskyi, P., Pertsevov, F. (2020). Investigation of the emulsifying capacity of snack paste based on fatless Cottage cheese. *Eureka: Life Sciences*, 1, 18-20.
- [18] Vieira, S.M., Bandeira, S.F. (2020). Development and evaluation of the acceptability of cheese snack. *Brazilian Journal of Development, Curitiba*, 6(4), 20187-20191.
- [19] AOAC. (1997). Official Methods of Analysis AOAC INTERNATIONAL. 16th Edition, Washington DC, USA.
- [20] Yüksel, R. (2019). Diyet blok tip Eritme peyniri üretiminde yağ ikame maddesi olarak yumurta kullanımı. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 69s, Kayseri, Türkiye.
- [21] AOAC. (2000). Official Methods of Analysis AOAC INTERNATIONAL. Volume I, II, 17th Edition, Gaithersburg, USA.
- [22] AACC. (2000). American Association of Cereal Chemists, Approved Methods of the AACC The Association St. Paul.
- [23] Halkman, K.A. (2005). Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Basak Matbaacılık Ltd. şti., Ankara, Türkiye.
- [24] Lawless, H.T., Heymann, H. (2010). Sensory Evaluation of Food Principles and Practices. 2nd Edition, XXIII, ISBN 978-1-4419-6488-5.
- [25] Çavuş, M. (2015). Blok Tip Eritme Peyniri Üretiminde Tavuk Yumurtası Kullanımının Peynirin Fizikokimyasal, Tekstürel ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. İğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İğdır.
- [26] Boran, O.S. (2012). Yağı Azaltılmış Eritme Peyniri Üretiminde İnülin Kullanımıyla Peynirin Fonksiyonel Özelliklerinin Geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Malatya.
- [27] Valero, E., Villamiel, M., Sanz, J., Martinez-Castro, I. (2000). Chemical and sensorial changes in milk pasteurised by microwave and conventional systems during cold storage. *Food Chemistry*, 70, 77-81.
- [28] Turgut, T. (2016). The effect of microwave heating on the some quality properties and shelf life of yoghurt. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(6), 809-814.
- [29] Zhang, F., Zhang, M., Mujumdar, A.S. (2011). Drying characteristics and quality of restructured wild cabbage chips processed using different drying methods. *Drying Technology*, 29(6), 682-688.
- [30] Moreira, R.G., Palau, J., Sun, X. (1995). Deep-fat frying of tortilla chips: an engineering approach. *Food Technology*, 49(4), 146-150.

## Düşük Frekansta Elektriksel İşlem Destekli Ekstraksiyon Yöntemleri ile Gıdalardan Değerli Bileşen Eldesi

Buse Melek Çabas<sup>1</sup>  , Filiz İçier<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 35100 Bornova İzmir

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100 Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 26.03.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 24.04.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [buse.cabass@gmail.com](mailto:buse.cabass@gmail.com) (B.M. Çabas)

☎ 0 232 311 30 21 📠 0 232 311 48 31

### ÖZ

Son yıllarda gıdaların yapısında bulunan yağ, esansiyel yağ, renk maddesi, polifenol, protein ve pektin gibi değerli bileşenlerin eldesinde kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinin bazı olumsuz yönlerinin olduğu bazı olumsuz yönlerinin iyileştirilmesi amacıyla güncel alternatif yöntemleri üzerine yapılan çalışmalar artmaktadır. Ekstraksiyon işlemi ile gıdaların yapısındaki değerli bileşenleri yüksek verim ve kalitede elde edebilmek amaçlanmaktadır. Güncel yöntemler arasında yer alan düşük frekansta elektrik işlem ile desteklenmiş ekstraksiyon yöntemleri, geleneksel yöntemlere kıyasla yüksek ekstraksiyon ve enerji verimliliği, daha az solvent tüketimi ve daha kısa işlem süresi gibi bazı avantajlar sağlamaktadır. Bu çalışmada, ohmik ısıtma, ılımlı elektrik alan ve vurgulu elektrik alan gibi düşük frekansta uygulanan elektriksel işlemlerin ekstraksiyon mekanizması üzerine etkileri, etki eden işlem parametreleri (sıcaklık, frekans, dalga tipi, voltaj gradyanı ve elektriksel iletkenlik) ve gıda endüstrisindeki uygulama alanları derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ekstraksiyon, Ohmik, Frekans, Voltaj, Elektriksel iletkenlik

### Extraction of Valuable Constituents from Foods by using Low Frequency Electrical Process Assisted Extraction Methods

#### ABSTRACT

In recent years, studies on novel extraction methods have been increasing to eliminate some disadvantages of conventional extraction methods to extract valuable components as oil, essential oil, color compounds, polyphenol, protein, pectin etc. from foodstuff. The aim of the extraction process is to obtain valuable components from food materials with high product yield and quality. The low-frequency electrical process assisted extraction methods, which are the novel extraction methods, provide advantages such as high extraction efficiency, less solvent consumption, short processing time and high energy efficiency compared to conventional methods. In this study, the effects of low-frequency electrical assisted extraction methods such as ohmic heating, moderate electric field and pulsed electric field on extraction mechanism, the effective process parameters (temperature, frequency, wave type, voltage gradient, electrical conductivity), and application areas in the food industry were reviewed.

**Keywords:** Extraction, Ohmic, Frequency, Voltage, Electrical conductivity

#### GİRİŞ

Gıda endüstrisinde gıdalarda bulunan değerli bileşenlerin elde edilebilmesi için yaygın olarak

kullanılan işlemlerden birisi olan ekstraksiyon işleminde, işlem sonunda gıda maddesinin yapısındaki bozulma ile elde edilecek ürün verimi doğrudan ilişkilidir. Gıda sanayinde, hammaddeden son ürün eldesine kadar

uygulanan çeşitli işlemlerde yüksek oranda enerji tüketilmektedir. Endüstride artan enerji gereksinimi ve enerjinin efektif kullanılamaması hem ekonomik hem de ekolojik açıdan büyük sorun yaratmaktadır [1].

Enerji gereksinimini azaltmak ve enerjiyi daha verimli kullanabilmek için alternatif işleme tekniklerine ihtiyaç duyulmaktadır [2]. Alternatif gıda işleme yöntemleri arasında yer alan elektriksel işlemlerin geleneksel yöntemlere kıyasla daha verimli ve daha kaliteli ürün eldesi gerçekleştirebildikleri bilinmektedir. Ohmik ısıtma (OI), ılımlı elektrik alan (IEA), vurgulu elektrik alan (VEA), mikrodalga ve radyo frekans gibi elektriksel işlemlerin ısı ve/veya ısı olmayan etkilerinden yararlanarak gıdaların işlenmesi sağlanmaktadır [3, 4].

Gıdalar üzerinde yaygın olarak uygulanan elektriksel işlemlerden biri olan mikrodalga ışınım, elektromanyetik spektrumun bir parçasıdır ve 0.3 ve 300 GHz frekanslarına karşılık gelen milimetrik (0.01m) ve radyo (1 m) dalgaları bölgesine düşmektedir [4]. Gıda yüzeyine gönderilen mikrodalgalar, elektrik alan varlığında gıdadaki polar moleküller (su) ile aynı polarite düzeyine girmeye çalışmakta ve böylece kinetik enerji ile gıda ısınmaktadır [4]. Ardından ısı transferi iletim ve taşınım mekanizmaları ile devam etmektedir [5, 6]. Radyo frekans yöntemi ise 1 ve 300 MHz arasında frekans uygulanarak gerçekleştirilmektedir. Radyo frekans bölgesinde dalga boyu mikrodalgalara kıyasla daha uzun olduğu için penetrasyon kalınlığı da daha yüksektir [7]. Radyo frekans mekanizmasında iki elektrot arasında elektrotlara temas etmeden elektrik alanına maruz kalmaktadır. Böylece, elektrik alan altında gıdadaki iyonlar yer değiştirerek ve dipolar moleküller elektrik alan polaritesine göre yön değiştirerek gıda içerisine ısı enerjisi absorbe olmaktadır [4]. Her iki dielektrik ısıtma yönteminin de gıdalara uygulanması sırasında tespit edilen aşırı ısınma, heterojen yapı içerisinde sıcak nokta oluşumu, gıdanın şekline göre absorplanan elektriksel güç miktarı değişimi ve gıdanın boyutuna göre değişen penetrasyon kalınlığı gibi bazı dezavantajları bulunduğu bilinmektedir [4].

Güncel alternatif yöntemler arasında bulunan ve son yıllarda araştırmacıların enerji verimliliği yüksek alternatif gıda işleme yöntemleri olarak değerlendirdiği düşük frekansta elektriksel işlemler (OI, IEA ve VEA) ise dielektrik ısıtma bölgesine kıyasla daha düşük frekansta (1 - 80000 Hz) uygulanan elektriksel işlemler arasında yer almaktadır. Bu nedenle enerji aktarım hızının kontrolü daha kolaydır, uygulamaları daha pratiktir, enerji verimliliği daha yüksek işlemlerdir. Bu işlemler, elektrik akım veya elektriksel alan etkisi ile gıdaların ısıtılması, pişirilmesi, pastörize/sterilize edilmesi gibi ısı yöntemleri olarak uygulanabilmektedir [4]. Diğer yandan, gıdalardan değerli bileşenlerin eldesi, reolojik özelliklerin iyileştirilmesi ve verim artırılması gibi amaçlarla uygulanmaları durumunda ısı olmayan etkileri ile de dikkat çekmektedirler [8-14].

Elektriksel işlem desteği ile gıdalardan yağ [10, 15], esansiyel yağ [8, 9, 16], antosiyanin, betalain, karotenoid, klorofil gibi doğal renk maddeleri [17-23], inülin [24, 25], pektin [26, 27] ve protein [28] vb. değerli

bileşenlerin eldesinde hem enerji hem ürün eldesi açısından daha verimli ekstraksiyon işlemleri uygulanabilmektedir.

Ohmik ısıtma, gıda maddesi ile temas halinde olan elektrotlardan 1 - 2000 Hz frekans ve 1-100 V/cm voltaj gradyanı aralığında alternatif akım geçirilmesi ve gıda maddesinin direnç olarak kullanılması prensibine dayanmaktadır. Gıda maddesinin elektrik akımına karşı oluşturduğu direnç gıda içerisinde ısı oluşumuna neden olmakta ve böylece elektriksel enerji ısı enerjisine dönüşmektedir; oluşan bu değişim Ohm kanunu ile açıklanabilmektedir [4, 29-31]. Ohmik ısıtmanın başarısı, ısı üretim hızına, gıdanın elektriksel iletkenliğine, gıdanın bileşimine, elektrik alan şiddetine ve işlem süresine bağlıdır [32]. Ohmik ısıtma teknolojisi ile çözündürme, evaporasyon, fermentasyon, haşlama, pişirme, enzim inaktivasyonu ve ekstraksiyon yapılabilmektedir [16, 29, 33-36]. Ohmik ısıtma bu işlemlerde kolay proses kontrolü, kısa işlem süresi ve yüksek miktarda enerji tasarrufu gibi birçok avantaj sağlamaktadır [37]. IEA işlemi de 1 - 2000 Hz frekans ve 1-1000 V/cm aralığında uygulanmaktadır [11, 14, 17, 19, 38]. Uygulanan elektriksel alan şiddetinin düşük olduğu durumlarda, ısı olmayan elektrik alan etkisi ile hücre membranının geçirgenlik özelliğinde değişimler meydana geldiği belirlenmiş [39], aynı zamanda uygulanan frekans değerinin ise bu değişimlerin geri dönüşümlü veya kalıcı olması üzerine etkisinin olduğu rapor edilmiştir [40]. Diğer yandan yüksek elektriksel alan şiddetindeki uygulamalar ile elektrik alanın ısı olmayan etkisinin yanında joule ısıtmanın daha belirgin şekilde yapıda değişiklikler meydana getirdiği belirtilmiştir [14, 19]. Prensip olarak birbirlerine çok benzemek ile beraber, düşük frekanslı elektriksel işlemlerin ısı olmayan etkilerden yararlanma amaçlı uygulanması durumunda IEA olarak isimlendirildiği dikkati çekmektedir [3]. OI ve IEA uygulaması gıda içerisinde ısı jenerasyonuna neden olurken elektrik alandan kaynaklı ısı olmayan etkisi de gözlemlenmektedir [17, 19, 41]. Ohmik ısıtma işleminde Joule ısıtma etkisi daha belirgin olarak gözlemlenirken, IEA uygulamalarında elektrik alanın etkisi öne çıkmaktadır [42]. Yapılan çalışmalarda IEA işleminin uygulama alanları haşlama [19], kurutma ön işlemi [19, 43], ekstraksiyon [12, 14, 19], biyokütle üretiminin artırılması [38, 44], enzim inaktivasyonu [45, 46] ve mikrobiyal inaktivasyon [47] olarak belirlenmiştir. Kulshrestha ve ark. [39], ılımlı elektrik alan uygulamasının termal etki olmadan da dokuların su ve çözünür maddelerin geçirgenliğini arttırdığını rapor etmişlerdir.

Isıl olmayan bir başka elektriksel işlem ise vurgulu elektrik alan uygulamasıdır. VEA mekanizması, kısa süreli (1-10 mikrosaniye) ve yüksek şiddette elektrik alan (15-80 kV/cm) uygulanmasına dayanan [48] ve geniş frekans aralığında uygulanabilen ısı olmayan güncel gıda işleme tekniklerinden birisidir. Hem elektrik akımı hem de elektriksel alan varlığında elektrik enerjisinin mikrosaniye aralıklarla uygulanması ile hücre membranında geri dönüşümlü veya kalıcı olarak gözenek oluşumu meydana gelmektedir. Bu olay ise elektroporasyon olarak adlandırılmaktadır. Diğer yandan



VEA uygulaması, OI ( $\leq 100$  V/cm) ve IEA ( $\leq 1000$  V/cm) işlemlerinden daha yüksek elektrik alana maruz bırakıldığı yöntem olarak öne çıkmaktadır [12, 34, 49].

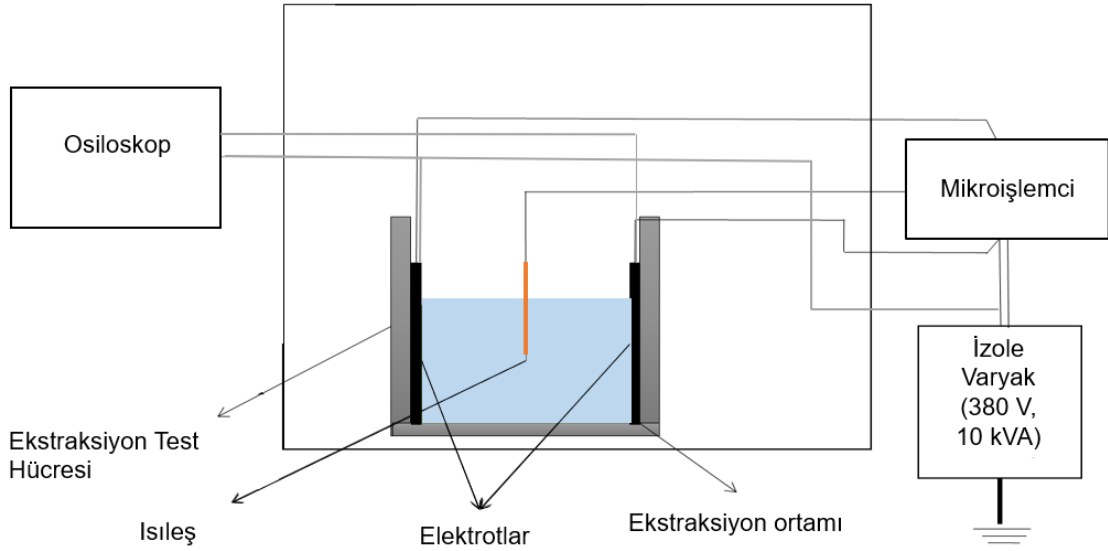
Bu çalışmanın amacı, düşük frekansta uygulanan elektriksel işlemlerin gıdalardan değerli bileşenlerin ekstraksiyonunda uygulanması, işlemlerin mekanizması, işlem sırasında sıcaklık, frekans, dalga tipi, elektrik alan şiddeti ve elektriksel iletkenlik gibi parametrelerin ekstraksiyon üzerine etkilerinin derlenmesi ile literatüre katkı sağlamaktır.

## DÜŞÜK FREKANSTA ELEKTRİKSEL İŞLEM DESTEKLİ EKSTRAKSİYON MEKANİZMASI

Geleneksel ekstraksiyon işleminde genelde kimyasal çözümlere ihtiyaç duyulmaktadır. Isıtıcı ortam sağlamak için ısıtıcı ekipmanlardan faydalanılmaktadır. Genel olarak iletim ve konveksiyon ısı transfer mekanizmaları ön planda olmakta ve homojen bir ısı transferinin

gerçekleşmesi güçleşmektedir. Ayrıca, aşırı ısınmadan dolayı istenmeyen bileşenlerin açığa çıkması, ekstrakte edilmek istenen bileşenlerin bozulması homojen ısınma gerçekleşmemesi, düşük ısı transfer hızında ve düşük ekstraksiyon verimi gibi bazı dezavantajlara sahiptir [3, 50].

Elektriksel ısıtma işlemi esnasında gıda, yapısından geçen elektrik akımına karşı direnç göstermekte ve bu sayede elektrik enerjisi ısı enerjisine dönüşmektedir. Gıda, oluşan ısı ile hacimsel olarak ısınmakta ve homojen ısı dağılımı gerçekleşmektedir. Bahsedilen prensibe dayanan IEA, OI ve VEA gibi elektriksel işlemlerin gıda alanında uygulanması için kullanılan sistemler temel olarak benzer donanım gereksinimine sahiptir. Bu sistemler, frekans ve voltaj değerleri ayarlanabilen güç ünitesi (varyak), test hücresi, elektrotlar, sıcaklık ölçüm üniteleri, osiloskop, akım ve voltaj ölçümlerini kaydeden ve sistemi kontrol eden bir mikroişlemciden oluşmaktadır [55] (Şekil 1).



Şekil 1. Düşük frekansta elektriksel işlem sisteminin ana parçalarının şematik gösterimi [55]

*Figure 1. Schematic representation of the main parts of the low frequency electrical processing system [55]*

Elektriksel işlem uygulamasında gıdanın yapısından geçirilen elektrik akımı, sistemde bulunan güç ünitesi (varyak) yardımıyla sağlanmaktadır. Doğru akım ve alternatif akım olmak üzere iki tip akım çeşidi uygulanabilmektedir. Alternatif akım, doğru akıma kıyasla gıdada gerçekleşebilecek elektroliz olayına daha az neden olduğu için elektriksel işlem sırasında daha çok tercih edilmektedir [3]. Ayrıca düşük frekans değerinde elektriksel işlemlerin uygulanabilmesi için gıdanın iki elektrot arasında olması gerekmektedir. Literatürdeki çalışmalarda, paslanmaz çelik [15, 17, 51], titanyum [14, 18, 52, 53], platinyum [12, 26], platinize titanyum [54] gibi çeşitli materyallerden elde edilmiş elektrotlar kullanılabileceği belirtilmektedir.

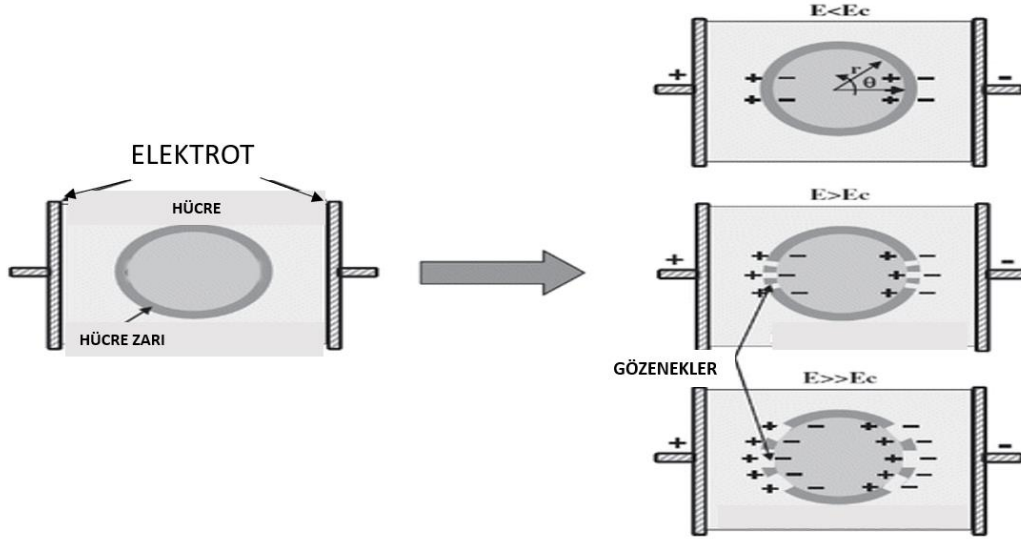
Genel olarak düşük frekansta uygulanan elektriksel işlemlerinin ekstraksiyon işlemine katkısı hem ısı hem de elektroporasyon etkisi ile kütle transfer hızının artması olarak açıklanmaktadır. Gıda, uygulanan elektrik alana direnç göstermekte ve böylece gıdanın yapısında

ısı jenerasyonu meydana gelerek gıdanın sıcaklığında artışa sebep olmaktadır [4, 29, 30, 31]. Özellikle ohmik ısıtma işlemi sırasında elektriksel alan şiddetinin sürekli uygulanması ve uygulama süresinin uzun olması, gıda üzerinde termal etkiye neden olmaktadır. IEA işleminde elektriksel alan şiddeti ve frekansın düzeyine bağlı olarak ısı etkisi sınırlı kalabilmektedir. VEA yönteminde ise işlemin daha yüksek frekansta ve daha yüksek elektriksel alan şiddetinde mikrosaniye düzeyinde darbe olarak uygulanması nedeniyle ısı etkisi minimum düzeyde tutulabilmektedir [4].

Elektriksel işlemlerde termal etkiye ek olarak termal olmayan elektrik etkisinin de gözlenebileceği literatürde belirtilmektedir. Elektriksel etkisi, gıda materyalinden elektrik alan geçirilmesi ile hücre membranı boyunca trans-membran potansiyelin indüklenmesi ve hücrenin geçirgenliğinin artması olarak gözlenmektedir. Özellikle hücre membranında biriken elektrik yükü, hücre membranında bulunan ve kütle transferinden sorumlu

olan fosfolipid yapıların ısı veya ısı olmayan nedenler ile denatürasyonuna sebep olabilmektedir [3, 19]. Böylece hücre duvarının iyon yük dengesi bozularak membranın geçirgenliği artmaktadır. Düşük sıcaklıkta elektrik alana maruz kalan genişlemiş hücre vakuollerinin elektromekanik olarak sıkışması nedeniyle hücre yapısında uzama meydana gelmekte ve bu nedenle hücre geçirgenliği artmaktadır [3, 19]. Elektrik alan şiddeti hücrenin sahip olduğu kritik trans-membran

gerilimi altında uygulandığında hücre membranında bir değişiklik görülmezken, kritik trans-membran gerilimi üzerinde uygulandığında ise geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olarak elektroporasyon oluşmaktadır (Şekil 2). Hücre membranındaki değişimin geri dönüşümlü ve/veya geri dönüşümsüz olmasını, uygulanan elektrik alan şiddetinin yanı sıra frekans değerinin de etkilediği belirtilmektedir [40].



Şekil 2. Elektrik alanın biyolojik hücre membranı üzerine etkisi [56]  
 Figure 2. Effect of electric field on biological cell membrane [56]

Düşük frekanslı elektrik işlem uygulamasında, hücre membranında meydana gelen elektroporasyon sayesinde hücre içi değerli bileşenler ekstraksiyon ortamına kolayca transfer olabilmektedir [3]. Düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilen düşük frekanslı elektriksel işlemlerin, elektriksel olarak hücre yapısına verdiği zarar ile hücre zarındaki açıklık sayısını arttırmasının ekstraksiyon verimini arttırdığı bildirilmektedir [11, 19]. Ancak, yüksek sıcaklık değerlerinde çalışıldığında, elektriksel işlemin baskın termal etkisi ile termal denatürasyondan ve hücrenin aşırı derecede genişlemesinden dolayı hücre membranı parçalanabilmektedir [35, 57].

Elektriksel işlemler ile desteklenmiş ekstraksiyon işleminin sağladığı avantajlar; yüksek enerji verimi [9, 15, 17], yüksek ekstraksiyon verimi, düşük işlem süresi ve kimyasal çözügen gereksiniminde azalmadır [11, 12, 14, 19, 58]. Fakat elektriksel sistemler ile çalışmak için bilgi/donanım gereksinimi, kalifiye eleman ihtiyacı, güvenlik önlemleri ve elektrotlarda meydana gelecek korozyon olasılığı gibi dezavantajları göz önünde bulundurmak gerekmektedir [4].

## İŞLEM ETKİNLİĞİNİ ETKİLEYEN PARAMETRELER

### Sıcaklığın Etkisi

Yüksek sıcaklıkta ekstrakte edilen materyalin çözügen içerisindeki çözünürlüğü artmakta ve buna bağlı olarak ekstraksiyon verimi de artmaktadır [26, 59, 60]. Ancak, protein, polisakkarit ve kolay degrade olan değerli

bileşenlerce zengin gıdaların ekstraksiyon sıcaklığının belirlenmesi kritik öneme sahiptir.

Ohmik ısıtma ile desteklenmiş ekstraksiyon yöntemi ile portakal kabuklarından pektin ekstrakte edilen bir çalışmada, farklı işlem süresi (5, 17.5 ve 30 dakika) ve sıcaklık değerlerinin (50, 70 ve 90°C) pektin verimi üzerine etkisi incelenmiştir. 90°C sıcaklık değerinde belli bir işlem süresine (30 dakika) kadar pektin veriminin artmakta olduğu belirtilmiştir. Ancak bu işlem süresinden sonra hammaddenin yapısında değişiklikler meydana geldiği için çözügen difüzyonunun yavaşladığı, dolayısıyla kütle transfer hızının düşebileceği ileri sürülerek ekstraksiyon veriminin değişmeyeceği bildirilmiştir [26].

Renkli patateslerden antosiyanin ekstraksiyonunun incelendiği bir çalışmada, sıcaklık (30, 60 ve 90°C) ve işlem süresi (0, 5 ve 10 dk.) artışı ile ekstraksiyon veriminin arttığı rapor edilmiştir [17]. Gıda içerisinde ısı jenerasyonu ile gerçekleşen hacimsel ısınmanın birçok değerli bileşenlerin ekstraksiyon ortamına transferini hızlandırdığı; deniz yosunu [61], aromatik bitki [62], pirinç kepeği [18], soya fasulyesi [51] ve şeker pancarı [63] ile yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Benzer şekilde, kütle transferindeki artışın sebebi, termal etki ile gıdanın hücre ve dokusunda meydana gelen tahribat ile açıklanmıştır.

### Frekansın ve Dalga Tipinin Etkisi

Ekstraksiyon sırasında frekansın etkisi işlem sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. Diğer yandan, IEA

uygulanmasında düşük sıcaklıkta frekans değeri azaldıkça, sıcaklık artış hızının ve ekstraksiyon veriminin arttığı belirtilmektedir [16, 19, 64]. Düşük frekans değerinde işlem süresi artarak hücre duvarında yükün birikmesi için daha fazla süre sağlanmakta ve hücre geçirgenliği artmaktadır [14, 54, 65]. Ayrıca, frekans arttıkça hücre geçirgenliğini arttırmak için gerekli eşik değeri de artmaktadır [14].

Wang ve Sastry [53] ılımlı elektrik alan destekli ekstraksiyon yöntemi ile elma suyunu ekstrakte ettikleri çalışmalarında, düşük frekans değerinin nem difüzyonunu olumlu yönde etkilediğini ve ekstraksiyon veriminin artmasına sebep olduğunu belirtmişlerdir. Pancar örneklerinden doğal renk maddesi difüzyonu üzerine yapılan bir çalışmada, 0-5000 Hz frekans aralığında, 23.9 V/cm voltaj gradyanında, 45°C sıcaklığa kadar uygulanan ohmik ısıtma işlemi için, düşük frekans değerinde daha yüksek ekstraksiyon verimi elde edilebileceği rapor edilmiştir [14]. Ohmik ısıtma sırasında uygulanan frekans değeri azaldıkça, hücre zarının sahip olduğu geçirgenlik özelliğini arttırmak için gerekli eşik değerinde azalma olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, hücre zarında fiziksel bir tahribat oluşmadığı, meydana gelen ekstraksiyonun elektriksel etki ile hücre zarında meydana gelen elektroporasyondan kaynaklandığı vurgulanmıştır. Kim ve Pyun [66], soya fasulyesinden soya sütünün ekstraksiyonu için ohmik ısıtma sırasında uygulanan kare dalga tipinin sinüs dalga tipinden daha az etkili olduğunu ve elde edilen sütün pH değerini arttırdığını belirtmişlerdir. Kare dalga tipi uygulamasının, soya sütünün pH değerinde artışa neden olmasının, kimyasal bileşenlerin parçalandığı anlamına geldiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, Kim ve Pyun [66] yaptıkları çalışmada, farklı frekans değerlerinin (500-10000 Hz) etkisini inceleyerek, 1000 Hz frekans uygulamasının hücre içindeki sıvının hareket edebileceği boşluklar yarattığını ve bu nedenle elektriksel iletkenlik değerinde artış meydana gelerek ekstraksiyon veriminin yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

### **Voltaj Gradyanının Etkisi**

Yüksek voltaj gradyanı değerinde hücre içinde bulunan değerli bileşenin difüzyon hızı artmaktadır [14]. Uygulanan voltaj gradyanı değerinin hücre geçirgenlik özelliği üzerine etkisinin olduğu ve genelde ohmik ısıtma prosesinde işleminde 10-20 V/cm aralığında voltaj gradyanının uygun olduğu belirtilmiştir [67]. Bu bilgiye dayanarak, Yodsuwan ve ark. [54], ohmik ısıtma ön işlemi uygulanmış alglerden biyodizel ürettikleri çalışmalarında, alglerin hücre geçirgenliğini arttırmak için gerekli eşik değerinin düşük olduğunu belirttikleri 15.97 V/cm voltaj gradyanında ve 5-100000 Hz frekans aralığında uygulama yapmışlardır. Araştırmacılar, optimum işlem koşulunu 5 Hz olarak tespit etmişlerdir. Diğer yandan yüksek voltaj gradyanı değerlerinde ısınma hızı da arttığı için ekstraksiyon veriminin arttığı belirtilmektedir [16, 18, 26, 68, 69]. Elma gibi yumuşak dokuya sahip gıdalara 70 V/cm ve daha yüksek voltaj gradyanında elektrik alan uygulandığında hücrelerin parçalandığı ve donmuş-çözünmüş gıdaların dokusunda olduğu gibi tahribata

uğradığı belirtilmektedir [68]. Ohmik ısıtma desteği kullanılarak buğday kepeğinden fenolik madde ekstrakte edilen çalışmada, uygulanan voltaj gradyanındaki artış ile ekstraksiyon veriminin arttığı tespit edilmesine karşın ekstrakte edilen fenolik maddenin antioksidan aktivitesinde azalma olduğu belirtilmiştir [70]. Aynı şekilde, soya fasulyesinden soya yağı elde edilen bir çalışmada ise, ohmik ekstraksiyon sırasında uygulanan voltaj değeri arttıkça ekstraksiyon veriminin arttığı, ancak ekstrakte edilen yağdaki serbest yağ asidi içeriğinin artması nedeniyle yağ kalitesinin azaldığı bildirilmiştir [51].

İncelenen çalışmalar doğrultusunda, uygulanan voltaj değeri arttıkça ekstraksiyon veriminde ve hızında artış görülmektedir. Ancak, voltaj gradyanındaki artış ekstraksiyon işlemi ile elde edilen bileşenin kalitesini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Gıdalardan değerli bileşen ekstraksiyonu sırasında, işlem parametresi olan voltaj gradyanının elde edilen bileşen kalitesine etkisi de göz önünde bulundurularak en uygun voltaj gradyanı değeri seçilmelidir.

### **Elektrik İletkenliğinin Etkisi**

Geleneksel ısıtma yöntemlerinde kontrol mekanizması gıdanın termal iletkenlik özelliği iken düşük frekansta uygulanan elektriksel ısıtma yöntemlerinde ise gıdanın elektriksel iletkenlik özelliğidir. Elektrik iletkenliğini etkileyen faktörler; sıcaklık, işlem süresi, gıdanın gözenekli yapısı, gıdanın iyon ve besin içeriğidir. Ayrıca gıdalara uygulanan işlemler sırasında da gıdanın yapısında meydana gelen değişimler sonucunda gıdanın elektriksel iletkenliği değişmektedir [71].

Ohmik ısıtma esnasında gıda içerisinde gerçekleşen ısı jenerasyonu doğrudan gıdanın elektrik iletkenlik özelliği ile ilişkilidir ve gıdanın ısınma süresini etkilemektedir [25, 68]. Yüksek işlem sıcaklığında, gıda içerisindeki iyonların hareketinden kaynaklı gıdanın elektriksel iletkenliğinde artış olduğu bilinmektedir [24, 25, 72]. Ohmik ısıtma destekli domates suyunun evaporasyonu sırasında, uygulanan elektrik alan şiddeti arttıkça iyonik hareketlerin arttığı ve hücrenin protopektin yapısı yıkıma uğradığı için yalıtkan olan gaz moleküllerinin uzaklaşması nedeniyle elektriksel iletkenliğin arttığı belirtilmiştir. Fakat 80°C ve üzerindeki işlem sıcaklığında ve yüksek elektrik alan şiddetinde, köpük oluşumu nedeniyle elektriksel iletkenlik değerinin azaldığını tespit etmişlerdir [86]. El Darra ve ark. [38] ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon yöntemi ile polifenol ekstraksiyonu yaptıkları çalışmada, uygulanan voltaj gradyanı 200 V/cm'den 400 V/cm'ye arttırıldıkça elektriksel iletkenliğin arttığını tespit etmişlerdir.

Hasar görmemiş elma ve patatesin elektrik iletkenliği karşılaştırıldığında, elmanın gözenekli yapısından dolayı elektrik iletkenliğinin patatese kıyasla daha düşük olduğu belirtilmiştir [68]. Diğer yandan elektroporasyon ile elektriksel iletkenlik değişimi arasında bir ilişki olabileceği öne sürülmektedir [51, 68]. Ohmik hidrodistilasyon yöntemiyle esansiyel yağ ekstraksiyonu amacıyla yapılan çalışmalarda, yağın elektriksel iletkenlik değerinin düşük olması nedeniyle çözgen

olarak su kullanarak yağın damlacık halinde su içerisinde disperse olması sağlanmıştır [36, 73]. Termittikül ve ark. [24] ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon yöntemi ile yer elması yumru tozundan inülin ekstrakte ettikleri çalışmalarında, kuru öğütülmüş yer elması yumru tozunun yaş öğütülmüş yer elması yumru tozuna göre yapısının daha çok hasar gördüğünü, bu nedenle öğütülmüş tozun elektriksel iletkenlik değerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Lima ve ark. [74] ohmik ısıtma yönteminde uygulanan frekans (4, 10, 25 ve 60 Hz) ve dalga tipinin (Sinüs, Kare, Testere) turpun elektriksel iletkenlik değeri üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarında, tüm frekans değerlerinde kare dalga tipinin sinüs ve testere dalga tipine kıyasla daha düşük elektriksel iletkenlik değerlerine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Düşük elektriksel iletkenlik değerlerinin işlem süresinde uzamaya neden olduğu ve kütle transfer hızını azalttığı belirtilmiştir. Ayrıca düşük frekans değerlerinde (4 Hz), sinüs ve testere dalga tiplerinin elektriksel iletkenliğin sıcaklık ile değişimi üzerine etkisinin yüksek frekans değerlerine (10, 25 ve 60 Hz) kıyasla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Gıdanın elektriksel iletkenlik değerine bağlı olarak ısı etkisi sağlanması istenmiyorsa voltaj gradyanının düşük tutulması ve yüksek frekanslarda çalışılması uygun olacaktır.

### **DÜŞÜK FREKANSTA ELEKTRİKSEL İŞLEM DESTEKLİ EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN DEĞERLİ BİLEŞEN ELDESİ AMACIYLA GIDALARDAKİ UYGULAMALARI**

Düşük frekansta elektriksel işlemler ile destekli ekstraksiyon yöntemleri, son yıllarda güncel alternatif yöntemler arasında enerji verimliliği yüksek alternatif gıda işleme yöntemleri olarak değerlendirilmektedir. Genel olarak bu yöntemler ile ekstrakte edilen değerli bileşenler; yağ, esansiyel yağ, renk maddesi (antosiyenin, betanin, karotenoid, klorofil), fitokimyasal bileşikler, inülin, pektin ve proteindir (Tablo 1-3). Bu derleme çalışmasında özellikle benzer etkilerin rapor edildiği araştırmalardan örnekler seçilerek, gıdalara uygulanması sırasında ulaşılan ana sonuçlar verilmeye çalışılmıştır.

Ohmik destekli bir ekstraksiyon ünitesi ile pirinç kepeğinden yağ ekstrakte edilen bir çalışmada, ohmik ısıtma ile ön-işlem yapılan örneklerde verim %49-92 arasında değişmiş olup, ön-işlemsiz örneklerde verim %53 olarak bulunmuştur [52] (Tablo 2). Saberian ve ark. [26] ise portakal kabuğundan ohmik ısıtma ile desteklenmiş ekstraksiyon işlemiyle pektin elde ettikleri çalışmada, elektriksel işlem ile hücrelerin parçalandığını ve pektin ekstraksiyon veriminin arttığını tespit etmişlerdir (Tablo 3). Ayrıca, ekstraksiyon veriminin uygulanan elektrik alan kuvveti ve pH değerinden etkilendiğini vurgulamışlardır. Khuenpet ve ark. [25] enginar toz ürününden ohmik ve geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile inülin elde ettikleri çalışmada, ekstraksiyon verimleri arasında fark olmadığını belirtmişlerdir (Tablo 3). Diğer yandan, Termittikül ve

ark. [24] enginardan (*Helianthus tuberosus L.*) ohmik ısıtma (10.5, 15.8, 21.1V/cm ve 50 Hz) destekli inülin ekstraksiyonu gerçekleştirdikleri çalışmalarında, elektriksel işlemler ile desteklenmiş ekstraksiyon proseslerinde hammadde özelliğinin ekstraksiyon verimini doğrudan etkilediğini belirtmişlerdir (Tablo 3). Onwuka ve Ejikeme [75] OI destekli ekstraksiyon yöntemi ile domates ve portakal meyvelerindeki suyu ekstrakte ettikleri çalışmalarında, yüksek voltaj değerinin bakır elektrot kullanılması durumunda aşırı ısınmaya neden olduğunu ve elde edilen meyve suyunun askorbik asit konsantrasyonunda azalma gerçekleştiğini rapor etmişlerdir (Tablo 3).

Elma suyu eldesinde ön işlem olarak ılımlı elektrik alan uygulanan çalışmada, 50°C sıcaklıkta elektriksel işlem uygulanan elmalardan elde edilen elma suyu veriminin 40°C sıcaklıkta işlem gören elmalara kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [53]. Böylece ekstraksiyon işlemi sırasında IEA yönteminin uygulamasının, ekstraksiyon verimi üzerine hem ısı hem de elektriksel etkisinin olduğu ortaya koyulmuştur [53] (Tablo 3).

Literatürde, düşük frekanslı elektriksel ekstraksiyon yöntemleri ile bitkilerden doğal renk maddelerinin eldesi üzerine yapılan çalışmalar da mevcuttur (Tablo 1). Lima ve ark. [76] OI destekli ekstraksiyon işlemi ile kırmızı pancardan renk maddesi (betanin) difüzyonu üzerine yaptıkları çalışmada, ohmik ekstraksiyon işleminin geleneksele (72°C) kıyasla daha düşük sıcaklıklarda (42 ve 58°C) gerçekleştiğini tespit etmişlerdir (Tablo 1). Ayrıca ohmik yöntem ile ekstrakte edilen örneklerin elektriksel iletkenlik değerinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Porros-Parral ve ark. [58], kırmızı pancardan farklı sıcaklık (40, 50 ve 60°C), farklı örnek pozisyonu (elektrotlara dik ve paralel) ve farklı voltaj gradyanlarının (0, 6 ve 10 V/cm) betalain renk maddesinin difüzyon mekanizması üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, uygulanan voltaj gradyanı ile ekstrakte edilen betalain miktarının arasında doğru bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir (Tablo 1). OI destekli ekstraksiyonunda, işlem sıcaklığının ve sürenin elde edilen betalain miktarı üzerine etkili olduğunu belirtmişlerdir. 60°C işlem sıcaklığında 1 saat işlem süresinden sonra elde edilen betalain miktarının azaldığını tespit etmişlerdir. Ohmik işlem sırasında, sıcaklık arttıkça hücreler üzerine etki eden elektriksel etkinin azaldığını termal etkinin ise artacağını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Loginova ve ark. [20]'nın VEA destekli ekstraksiyon yöntemi ile kırmızı pancardan renk maddesi ekstraksiyonu üzerine yaptıkları çalışmada, 60°C'den yüksek sıcaklık değerinde uygulanan VEA işleminin ekstraksiyon verimini arttırdığını, ancak betalain miktarını olumsuz etkilediğini belirtmişlerdir. 80°C sıcaklıkta 1 saat ekstraksiyon işlemi sonucunda hammaddede bulunan betalainin neredeyse tümünün degrades olduğunu vurgulamışlardır (Tablo 1). IEA destekli ekstraksiyon yöntemi ile pancardan betalain bileşeni eldesi üzerine yapılan çalışmada ise, farklı voltaj gradyanı (0-23.9 V/cm) ve frekans (0, 10, 50, 250 ve 5000 Hz) değerlerinin betalain renk maddesi ekstraksiyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Yüksek voltaj değeri (23.9 V/cm) ve düşük frekans değerinin (50 Hz)

ekstraksiyon verimini arttırdığı ve düşük frekans değerinde (50 Hz) hücre geçirgenliğine ait eşik potansiyelinin daha düşük olduğu bildirilmiştir [14] (Tablo 1). Pereira ve ark. [17] ohmik ısıtma ile renkli patateslerden fitokimyasal bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine yaptıkları çalışmada, ohmik ısıtma ile desteklenmiş ekstraksiyon yönteminin geleneksel ekstraksiyon yöntemine kıyasla daha kısa sürede ve daha az enerji tüketimiyle gerçekleştiğini tespit etmişlerdir (Tablo 1).

Literatürde son yıllarda, esansiyel yağ ekstraksiyonu için uygulanan hidrodistilasyon ve buhar distilasyon işlemlerinin düşük frekanslı elektriksel işlemler ile desteklendiği çalışmaların yaygın olduğu görülmektedir (Tablo 2) [8, 9, 16, 35, 77-79]. Gavahian ve ark. [16] ve Hashemi ve ark. [77] farklı kekik türlerinde ohmik ısıtma destekli hidrodistilasyon ile uçucu yağ eldesini çalışmışlardır. Her iki çalışmada da seçilen işlem parametrelerine göre uygulanan bu yöntemin işlem süresini %30'a kadar kısaltabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmalarda uygulanan frekans 50 Hz şebeke frekansı ve sinüs dalga tipidir. Ayrıca, Gavahian ve Chu [8] ODBH yöntemiyle lavanta bitkisinden esansiyel yağ ekstrakte ettikleri çalışmada, geleneksel buhar distilasyonuna kıyasla işlem sırasında kullanılan enerji değerinde %58 ve işlem süresinde ise %56 azalma sağlanabildiğini tespit etmişlerdir. Jaeschke ve ark. [11] mikroalglerden (*Heterochlorella luteoviridis*) IEA uygulaması ile karotenoid ve yağ ekstrakte etmişlerdir. Çözgen ortamında kullanılan etanol konsantrasyonu arttıkça ekstraksiyon veriminin arttığını ve 75 mL/100 mL etanol çözeltisinin kullanıldığı koşulda en yüksek ekstraksiyon verimini (%83) elde edildiği rapor edilmiştir.

Polifenol ve antosiyanin gibi değerli bileşenlerin ekstraksiyonunda da degradasyonu önlemek, işlem süresini kısaltmak ve ekstraksiyon verimini arttırmak için elektriksel işlemler ile desteklenmiş ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır (Tablo 3). Darra ve ark. [37] OI destekli ekstraksiyon yöntemi ile üzüm posasından polifenol ekstrakte ettikleri çalışmada, 200-800 V/cm voltaj gradyanı aralığında voltaj gradyanı arttırıldıkça hücrelerin membran geçirgenliğinin ve dolayısıyla polifenol ekstraksiyonunun arttığını tespit edilmiştir. Loypimai ve ark. [18] OI ile destekli ekstraksiyon yöntemiyle siyah pirinçten antosiyanin bileşimini ekstrakte etmişlerdir. Ohmik ekstraksiyon yönteminin hücre membranının ve çevresindeki yapıların parçalanmasına sebep olduğunu ve çözgen difüzyonunu hızlandırarak polifenol ekstraksiyonunun arttığını belirtmişlerdir.

Düşük frekanslı elektriksel ekstraksiyon yöntemleri ile gerçekleştirilen çalışmalarda işlem parametrelerindeki gerçekleştirilen düzenlemeler ile işlem süresinin geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinden çok daha kısa sürelerde gerçekleştirilebileceği görülmektedir. Ohmik hidrodistilasyon yöntemi ile esansiyel yağ ekstraksiyonu yapılan çalışmalarda, ohmik hidrodistilasyon yönteminde ısınma ve ekstraksiyon işlem sürelerinin daha kısa olduğu tespit edilmiştir [16, 35, 77]. Gavahian ve Chu [8] lavanta bitkisinden ohmik destekli buhar distilasyonu (ODBD) yöntemi ile esansiyel yağ ekstraksiyonu üzerine

yaptıkları çalışmada, ODBD yönteminde örneğin ısınma hızı daha yüksek olması nedeniyle, ekstrakte edilen ilk yağ damlasının 13 dk., geleneksel buhar distilasyonunda ise 26 dk. gözlemlendiği belirtilmiştir. Gavahian ve ark. [79] ve Manouchehri ve ark. [9] yaptıkları çalışmalarda, ohmik ısıtma destekli hidrodistilasyon yönteminin geleneksel hidrodistilasyon yöntemine kıyasla limon otundan ve gül yaprağından esansiyel yağ ekstraksiyonunu işlem süresini sırasıyla 2 ve 6 kat azalttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca, daha kısa sürede daha az enerji tüketimi ile daha yüksek ekstraksiyon verimi elde edilebileceğini ve böylece ohmik ısıtma destekli hidrodistilasyon sisteminin sürdürülebilir üretime katkısının daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir [9]. Damyeh ve Niakousari [78] *Pulicaria Undulata L.* bitkisinden esansiyel yağ ekstraksiyonunda geleneksel yöntemle 159 dk. olan işlem süresinin, ohmik ısıtma destekli hidrodistilasyon yöntemi ile 61 dk.'a düşürüldüğü rapor edilmiştir. Lopez ve ark. [21] VEA yöntemiyle kırmızı pancardan betanin ekstraksiyonunu inceledikleri üzerine yaptıkları çalışmada, 7 kV/cm voltaj gradyanında toplam betanin değerinin %90'ının ekstrakte edilebildiğini ve bu sonuca VEA uygulanmadan gerçekleştirilen işlemde 5 kat daha kısa sürede ulaşabildiğini bildirmişlerdir.

## GELİŞTİRİLMESİ GEREKEN HUSUSLAR

Elektrik alan işlemi hücre membranında geçirgenliği arttırmaya yardımcı olsa da elektroporasyonun birçok değişkene (hücre tipi, sıcaklık, elektrik alan şiddeti, frekans, dalga tipi) bağlı olarak farklı şekillerde gerçekleştiği bilinmektedir [80]. Ancak özellikle IEA işleminin hidrodistilasyon amaçlı uygulandığı çalışmalarda sabit frekans ve dalga tipinde sadece voltaj gradyanının etkisinin incelendiği dikkati çekmektedir. Voltaj gradyanının yanı sıra önemli işlem parametrelerinden olan dalga tipinin de hücreler üzerindeki etkisinin incelenmesi gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca, 4 Hz'den daha düşük frekans değerlerinde çalışılarak düşük frekans değerinin ekstraksiyon verimi üzerine olumlu etkileri araştırılabileceği ve bu konuda yeterli çalışma olmadığı bildirilmiştir [14, 74].

Ohmik ısıtma yönteminin geleneksel tekniklere göre ön işlem olarak kullanmanın endüstriyel avantajını kanıtlamak için ayrıntılı bir tekno-ekonomik analiz ihtiyacı vardır [17]. Genel olarak düşük frekanslı elektriksel işlemler ile destekli ekstraksiyon işlemlerinin performans analizi ve modellenmesi üzerine yapılan çalışmalar da oldukça kısıtlıdır. Güncel ekstraksiyon yöntemlerinin alternatifliğinin ortaya koyulabilmesi için enerji ve ekserji analizi gibi performans analizlerinin ve işlemlerin tahminlenebilirliğini ortaya koymak adına modelleme yapılması gerektiği düşünülmektedir. Elektriksel destekli ekstraksiyon işlemlerinin dokular üzerindeki elektrik etkisinin açık bir şekilde tespit edilebilmesine yönelik kısıtlı çalışma olduğu dikkati çekmektedir. Özellikle histolojik ve anatomik değişimlerin ve dokusal özelliklerdeki değişimlerin (reolojik özellikler, hücre bozulma indeksi) belirlenmesine yönelik çalışmaların yapılması önerilmektedir.

Tablo 1. Elektriksel işlem destekli ekstraksiyon yöntemleri ile renk maddesi ekstraksiyonu üzerine yapılan bazı çalışmalar

Değerli Bileşen	Hammadde	İşlem	İşlem Koşulu	Çalışma Çıktıları	Kaynak
Renk maddesi	Kırmızı Pancar	OI	0, 6, 10 V/cm, 40, 50, 60 °C, 50 Hz	Yüksek sıcaklık değerinde, ekstraksiyon verimi üzerine elektrik alan etkisinin azaldığı tespit edilmiştir.	[57]
Renk maddesi	Kırmızı Pancar	IEA	0-23.9 V/cm 0-5000 Hz	Yüksek elektrik alan ve düşük frekans değerine sahip işlem koşulunda ekstraksiyon veriminin arttığı tespit edilmiştir.	[14]
Renk maddesi	Kırmızı Pancar	VEA	375-1500 V/cm, 0-0.2 sn.	60°C'den yüksek sıcaklık değerinde uygulanan VEA işleminin ekstraksiyon verimini artırdığını fakat betalaın miktarını olumsuz etkilediği belirtilmiştir.	[20]
Renk maddesi	Kırmızı Pancar	VEA	0,3,5,7,9 kV/cm, 2 µs, 1 Hz, 5 darbe	Ekstraksiyon ortami 7 kV/cm voltajı gradyanı, 3,5 pH ve 30°C sıcaklıkta gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonucu kırmızı pancarda bulunan toplam betaninin %90'nin 300 dakikada ekstrakte edildiği tespit edilmiştir.	[21]
Renk maddesi	Kırmızı Pancar	VEA	3 kV/cm, 20 µs 100 darbe	Ön işlem olarak VEA uygulanmış kırmızı pancarlardan elde edilen ekstrakt miktarı ön işlem görmemişlere (yalnızca baskı işlemi, 100 kg/cm <sup>2</sup> ) kıyasla %90 daha fazla olduğu tespit edilmiştir.	[22]
Pigment (karotenoid, klorofil)	Mikroalg	VEA	10-25 kV/cm, 3ms, 50 Hz, Kare dalga tipi	İşlem koşullarının yanı sıra, hücre büyüklüğü ve şeklinin de ekstraksiyon verimini etkilediği bildirilmiştir.	[81]
Renk maddesi	Renkli Patates	OI	15 V/cm ve 30 V/cm, 25 kHz	OI yöntem ile renk maddelerinin geleneksel bir ekstraksiyon yönteminden çok daha kısa sürede ve daha düşük enerji tüketimi ile elde edilebildiği bildirilmiştir.	[17]

OI: Ohmik ısıtma; IEA: İlimli Elektrik alan; VEA: Vurgulu Elektrik Alan

Tablo 2. Elektriksel işlem destekli ekstraksiyon yöntemleri ile esansiyel yağ ve yağ ekstraksiyonu üzerine yapılan bazı çalışmalar

Değerli Bileşen	Hammadde	İşlem	İşlem Koşulu	Çalışma Çıktıları	Kaynak
Esansiyel yağ	Şam gülü	OIDH	220 V, 50 Hz	OIDH ile daha kısa işlem süresinde daha az enerji gereksinimi ile daha yüksek ekstraksiyon verimine ulaşıldığı tespit edilmiştir.	[9]
Esansiyel yağ	Kekik	OIDH	100-200 V	OIDH yöntemi ile ekstraksiyon süresini 95 dakikadan 77 dakikaya düşüğü belirlenmiştir.	[77]
Esansiyel yağ	<i>Pulicaria undulata</i> bitkisi	OIDH	150 V, 50 Hz	OIDH yöntemi ile ekstraksiyon süresini 159 dakikadan 61 dakikaya düşüğü tespit edilmiştir.	[78]
Esansiyel yağ	Lavanta	ODBD	4.8-7.1 V/cm, 500 W	Geleneksel buhar distilasyonu ve ODBD işleminin ekstraksiyon verimi üzerine istatistiksel bir etki tespit edilmemiştir.	[8]
Esansiyel yağ	Limon otu Bitkisi	OIDH	5.5-8.5 V/cm, 500 W	OIDH yöntemi geleneksel hidrodistilasyon yönteme kıyasla enerji tüketimini %46 seviyesinde azaltığı tespit edilmiştir.	[79]
Esansiyel yağ	Nane	OIDH	220, 380 V/cm; 25, 50, 100 Hz	OIDH işlemi geleneksel hidrodistilasyon yöntemine kıyasla işlem süresini %30 kısalttığı bildirilmiştir.	[16]
Esansiyel yağ	Nane	OIDH	220 V, 50 Hz	OIDH ile daha kısa işlem süresi ve daha az enerji tüketimi ile geleneksel hidrodistilasyon ile aynı verimi elde edilebildiği bildirilmiştir.	[35]
Esansiyel yağ	Tarçın	OIDH	7.5-12.5 V/cm 30-120 dk	OIDH işlemi için belirlenen optimum koşulda (119.9 dk, 8.83 V/cm) esansiyel yağ verimi geleneksel hidrodistilasyon yöntemine kıyasla daha yüksek elde edilebildiği belirlenmiştir.	[87]
Yağ	Pirinç Kepeği	OI	60,100, 140 V/cm, 60Hz	OI ile ön-işlem yapılan örneklerde verim %49-92 arasında iken, ön-ışlemsiz örneklerde verim %53 olarak tespit edilmiştir.	[52]
Yağ	Pirinç Kepeği	OI	54 V/cm, 50 Hz	Ohmik ekstraksiyon ile işlem süresinin kısaldığı ve enerji gereksiniminin azaldığı bildirilmiştir. Geleneksel solvent ekstraksiyonuna kıyasla avantajlı bir yöntem olduğu tespit edilmiştir.	[15]
Yağ	Soya Fasüyesi	OI	96, 120, 144 V/cm, 50 Hz, 70, 80, 90°C	90°C ve 96 V/cm işlem koşulunda 10 dk. uygulama ile maksimum elektriksel iletkenlik (1.36 S/m) ve yağ verimi elde edilmiştir.	[51]
Yağ	Sarımsak	OI	0, 5.6 ve 11.2 V/cm, 50 Hz	Hücre membranının geçirgenlik özelliğinin ve ekstraksiyon veriminde artış meydana geldiği bildirilmiştir.	[10]

OIDH: Ohmik Destekli Hidrodistilasyon; OI: Ohmik ısıtma

Tablo 3. Elektriksel işlem destekli ekstraksiyon yöntemleri ile değerli bileşen eldesi üzerine yapılan bazı çalışmalar  
 Table 3. Some studies on the extraction of valuable components by electrical process assisted extraction methods

Bileşen	Hammadde	İşlem	İşlem Koşulları	Çalışma Çıktıları	Kaynak
Pektin	Portakal kabuğu atığı	OI	7-15 V/cm, 50 Hz	Pektin ekstraksiyon veriminin arttığı, verimin uygulanan elektrik alan şiddeti ve pH değerinden etkilendiği bildirilmiştir.	[26, 27]
Protein	Mikroalg	VEA	20 kV/cm, 1-4 µs, 13.3-53.1 kJ/kg	VEA uygulaması ile suda çözünebilen değerli bileşenlerin ve suda çözünür proteinlerin seçici olarak ekstraksiyonunun mümkün olduğu, %3.6 oranında protein elde edilebildiği bildirilmiştir.	[82]
Protein	Mikroalg	VEA	7.5-30 kV/cm, 1-40 darbe, 0.05-5 µs,	VEA uygulamasının hücre geçirgenliğine katkı sağladığı fakat mekanik parçalamaya kıyasla ekstrakte edilebilen protein miktarının daha düşük olduğu bildirilmiştir.	[28]
Antosiyanin	Siyah pirinç	OI	50, 100, 150 ve 200 V/cm, 50Hz	Pirinç su içeriği düşük ve yağ içeriği yüksek olduğu için elektrik iletkenliğinin düşük olduğu bildirilmiştir. İşlem öncesi hammadde nem içeriği %30-40 değerine ulaşana kadar nemlendirme işlemi uygulanmıştır. Yüksek voltaj gradyanında polifenol ekstraksiyonunun daha kolay gerçekleştiği tespit edilmiştir.	[18]
Domates ve portakal suyu	Domates, Portakal	OI	9 ve 110 V	110 Voltaj değerinde ekstraksiyon veriminin arttığı fakat elde edilen meyve suyunda renk ve askorbik asit özelliğinde düşüş gerçekleştiğini tespit etmişlerdir.	[75]
Elma suyu	Elma	IEA	40 V/cm, 60 Hz, 40-50°C	IEA uygulaması ile meyve suyu ekstraksiyon verimi ve difüzyon iyileştirilmesinin gerçekleştirildiği rapor edilmiştir. Ayrıca sıcaklık artışının ekstraksiyon üzerine olumlu etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir	[53]
İnülin	Enginar	OI	15-20 V/cm, 20 kHz	Elektriksel işlemin inülin miktar ve kalitesi üzerine olumsuz bir etkisi gözlenmemiştir.	[25]
İnülin	Enginar	OI	10.5, 15.8, 21.1 V/cm, 50 Hz	Kuru öğütülmüş yer elması tozunun yaş öğütülmüş yer elması tozuna kıyasla daha yüksek elektriksel iletkenliğe sahip olduğu ve ekstraksiyon veriminin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.	[24]
Polifenol	Kırmızı üzüm posası	OI	100-800 V/cm	OI yöntem ile hücre geçirgenliği artırılarak geleneksel yöntemle kıyasla daha düşük enerji tüketimiyle daha fazla polifenol ekstrakte edilebildiği tespit edilmiştir.	[83]
Polifenol	Fermente üzüm	VEA	5, 10 kV/cm, 50 darbe, 1 Hz	Ön işlem olarak VEA uygulanan üzümlerden elde edilen ekstraktların toplam polifenol indeksi, kontrol yöntemi ile elde edilen ekstraktlara kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir.	[21]
Polifenol	Papaya tohumu	VEA	13.3 kV/cm, 8.3 µs, 1-2000 vurgu	Ön işlem olarak VEA uygulanmış ekstraksiyon işlemi elde edilen protein ve fenolik madde miktarı, ön işlem uygulanmadan ekstrakte edilenlere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.	[23]
Polifenol	Üzüm	VEA	80 kV/cm, 10 µs, 80 vurgu, 0.5 Hz, 160 s	VEA uygulamasının, ekstraksiyon süresini ve işlem sıcaklığını azalttığı tespit edilmiştir.	[84]
Polifenol	Çay	YVED	0.1-1.1 kV/cm, 0.0001-0.1 s, 10-50 vurgu	Düşük voltaj gradyan (0.4 kV/cm) değerinde çalışırken uzun süre uygulanan vurgunun, işlem süresini uzattığı ve daha etkili bir ekstraksiyon gerçekleştirdiği bildirilmiştir. Voltaj gradyanı artırılarak (0.9 kV/cm) daha kısa işlem süresinde aynı ekstraksiyon veriminin elde edildiği belirtilmiştir.	[85]
Biyoaktif bileşenler	Safran	OI	75-225 V 15-45 dk	OI işlemi için belirlenen optimum koşulda (225 V, 45 dk) antosiyanin, toplam fenol ve flavonoid içeriği ultrason ve mikrodalgalı ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.	[88]

OI: Ohmik ısıtma; IEA: İlimli Elektrik Alan; VEA: Vurgulu Elektrik Alan; YVED: Yüksek Voltaj Elektrik Deşarj

## TEŞEKKÜR

Bu derleme çalışması, Ege Üniversitesi BAP FYL-2019-21153 nolu proje kapsamında maddi olarak desteklenen "Kırmızı Pancardan Renk Maddesi Ekstraksiyonunda Ohmik Isıtma Desteğinin Kullanımı" başlıklı Yüksek Lisans Tezi kapsamında hazırlanmıştır.

## KAYNAKLAR

- [1] Dincer, I., Rosen, M.A. (2013). Exergy and energy analyses. In Exergy, Elsevier, London, 21-30.
- [2] Apaiah, R.K., Linnemann, A.R., van der Kooij, H.J. (2006). Exergy analysis: A tool to study the sustainability of food supply chains. *Food Research International*, 39(1), 1-11.
- [3] Gavahian, M., Chu, Y.H., Sastry, S. (2018). Extraction from food and natural products by moderate electric field: Mechanisms, benefits, and potential industrial applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 1040-1052.
- [4] Baysal, T., İçier, F., Baysal, A.H. (2011). Güncel Elektriksel Isıtma Yöntemleri. Sidas Yayıncılık (1. Baskı), İzmir.
- [5] Sumnu, S.G., Ozkoc, S.O. (2010). Infrared baking and roasting. In Infrared Heating for Food and Agricultural Processing, Edited by Zhongli Pan and Griffiths Gregory Atungulu. CRC Press, Florida, USA, 203-223p.
- [6] Sevda, S., Singh, A. (2020). Mathematical and statistical applications in food engineering: Mathematical Modelling for Predicting the Temperatures During Microwave Heating of Solid Foods, Edited by Ilicali, C., İçier, F., Cokgezme, Ö.F., CRC press, Florida, ABD.
- [7] Ştefănoiu, G.A., Tănase, E.E., Miteluţ, A.C., Popa, M. E. (2016). Unconventional treatments of food: microwave vs. radiofrequency. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 10, 503-510.
- [8] Gavahian, M., Chu, Y.H. (2018). Ohmic accelerated steam distillation of essential oil from lavender in comparison with conventional steam distillation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 50, 34-41.
- [9] Manouchehri, R., Saharkhiz, M.J., Karami, A., Niakousari, M. (2018). Extraction of essential oils from damask rose using green and conventional techniques: Microwave and ohmic assisted hydrodistillation versus hydrodistillation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 8, 76-81.
- [10] Aamir, M., Jittanit, W. (2017). Ohmic heating treatment for Gac aril oil extraction: Effects on extraction efficiency, physical properties and some bioactive compounds. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 41, 224-234.
- [11] Jaeschke, D.P., Menegol, T., Rech, R., Mercali, G.D., Marczak, L.D.F. (2016). Carotenoid and lipid extraction from *Heterochlorella luteoviridis* using moderate electric field and ethanol. *Process Biochemistry*, 51(10), 1636-1643.
- [12] De Oliveira, C.F., Giordani, D., Gurak, P.D., Cladera-Olivera, F., Marczak, L.D.F. (2015). Extraction of pectin from passion fruit peel using moderate electric field and conventional heating extraction methods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29, 201-208.
- [13] Yildiz, H., Bozkurt, H., İçier, F. (2009). Ohmic and conventional heating of pomegranate juice: effects on rheology, color, and total phenolics. *Food Science and Technology International*, 15(5), 503-512.
- [14] Kulshrestha, S., Sastry, S. (2003). Frequency and voltage effects on enhanced diffusion during moderate electric field (MEF) treatment. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4(2), 189-194.
- [15] Nair, G.R., Divya, V.R., Prasanna, L., Habeeba, V., Prince, M.V., Raghavan, G.V. (2014). Ohmic heating as a pre-treatment in solvent extraction of rice bran. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2692-2698.
- [16] Gavahian, M., Farhoosh, R., Javidnia, K., Shahidi, F., Farahnaky, A. (2015). Effect of applied voltage and frequency on extraction parameters and extracted essential oils from *Mentha piperita* by ohmic assisted hydrodistillation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29, 161-169.
- [17] Pereira, R.N., Rodrigues, R.M., Genisheva, Z., Oliveira, H., de Freitas, V., Teixeira, J. A., Vicente, A.A. (2016). Effects of ohmic heating on extraction of food-grade phytochemicals from colored potato. *Food, Science and Technology*, 74, 493-503.
- [18] Loypimai, P., Moongngarm, A., Chottanom, P., Moontree, T. (2015). Ohmic heating-assisted extraction of anthocyanins from black rice bran to prepare a natural food colourant. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 27, 102-110.
- [19] Sensoy, I., Sastry, S.K. (2004). Ohmic blanching of mushrooms. *Journal of Food Process Engineering*, 27, 1-15.
- [20] Loginova, K.V., Lebovka, N.I., Vorobiev, E. (2011). Pulsed electric field assisted aqueous extraction of colorants from red beet. *Journal of Food Engineering*, 106(2), 127-133.
- [21] López, N., Puértolas, E., Condón, S., Raso, J., Alvarez, I. (2009). Enhancement of the extraction of betanin from red beetroot by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 90(1), 60-66.
- [22] Bellebna, Y., Bermmaki, H., Semmak, A., Tilmatine, A. (2016). Experimental design for enhancement of betanin in beet juice using pulsed electric field. Bulletin of the Transilvania University of Brasov. Forestry, Wood Industry, *Agricultural Food Engineering*, Series II, 9(2), 71.
- [23] Parniakov, O., Barba, F.J., Grimi, N., Marchal, L., Jubeau, S., Lebovka, N., Vorobiev, E. (2015). Pulsed electric field and pH assisted selective extraction of intracellular components from microalgae *Nannochloropsis*. *Algal Research*, 8, 128-134.
- [24] Termrittikul, P., Jittanit, W., Sirisansaneeyakul, S. (2018). The application of ohmic heating for inulin extraction from the wet-milled and dry-milled powders of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tuber. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 48, 99-110.



- [25] Khuenpet, K., Fukuoka, M., Jittanit, W., Sirisansaneeyakul, S. (2017). Spray drying of inulin component extracted from Jerusalem artichoke tuber powder using conventional and ohmic-ultrasonic heating for extraction process. *Journal of Food Engineering*, 194, 67-78.
- [26] Saberian, H., Hamidi-Esfahani, Z., Gavlighi, H.A., Barzegar, M. (2017a). Optimization of pectin extraction from orange juice waste assisted by ohmic heating. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 117, 154-161.
- [27] Saberian, H., Hamidi-Esfahani, Z., Ahmadi Gavlighi, H., Banakar, A., Barzegar, M. (2017b). The potential of ohmic heating for pectin extraction from orange waste. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13458.
- [28] Lam, G.P., Postma, P.R., Fernandes, D.A., Timmermans, R.A.H., Vermuë, M.H., Barbosa, M.J., Eppink, M.H. M., Wijffels, R.H., Olivieri, G. (2017). Pulsed Electric Field for protein release of the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Neochloris oleoabundans*. *Algal Research*, 24, 181-187.
- [29] İçier, F. (2003). Gıdaların ohmik ısıtılmasının deneysel ve kuramsal olarak incelenmesi. Doktora tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.
- [30] Sastry, S.K., Palaniappan, S. (1992). Mathematical modeling and experimental studies on ohmic heating of liquid-particle mixtures in a static heater. *Journal of Food Process Engineering*, 15(4), 241-261.
- [31] Skudder, P., Biss, C. (1987). Aseptic processing of food products using ohmic heating. *Chemical Engineer (London)*, (433), 26-28.
- [32] Kutlu, N., Yeşilören, G., İçci, A., Şakıyan, Ö. (2017). Konvansiyonel ekstraksiyona alternatif: yeşil teknolojiler. *Gıda*, 42(5), 514-526.
- [33] Anonim (2000). Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies: ohmic and inductive heating. (<http://www.cfsan.fda.gov/wcomm/ift-ohm.html>). (Erişim Tarihi: 20.02.2020)
- [34] Sastry, S.K. (2009). Ohmic heating. *Food Engineering-Volume III*, 37.
- [35] Gavahian, M., Farahnaky, A., Javidnia, K., Majzoobi, M. (2012). Comparison of ohmic-assisted hydrodistillation with traditional hydrodistillation for the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 14, 85-91.
- [36] Cevik, M., İçier, F. (2018). Effects of voltage gradient and fat content on changes of electrical conductivity of frozen minced beef meat during ohmic thawing. *Journal of Food Process Engineering*, 41(4), e12675.
- [37] Roberts, J.S., Balaban, M.O., Zimmerman, R., Luzuriaga, D. (1998). Design and testing of a prototype ohmic thawing unit. *Computers and Electronics in Agriculture*, 19(2), 211-222.
- [38] Loghavi, L., Sastry, S.K., Yousef, A.E. (2007). Effect of moderate electric field on the metabolic activity and growth kinetics of *Lactobacillus acidophilus*. *Biotechnology and Bioengineering*, 98(4), 872-881.
- [39] Kulshrestha, S.A., Sastry, S.K. (2010). Changes in permeability of moderate electric field (MEF) treated vegetable tissue over time. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11(1), 78-83.
- [40] Napotnik, T.B., Miklavčič, D. (2018). In vitro electroporation detection methods—An overview. *Bioelectrochemistry*, 120, 166-182.
- [41] Cho, H.Y., Yousef, A.E., Sastry, S.K. (1999). Kinetics of inactivation of *Bacillus subtilis* spores by continuous or intermittent ohmic and conventional heating. *Biotechnology and Bioengineering*, 62(3), 368-372.
- [42] Sastry, S.K. (2005). Advances in ohmic heating and moderate electric field (MEF) processing. In *Novel Food Processing Technologies* (pp. 491-500). CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- [43] Zhong, T., Lima, M. (2003). The effect of ohmic heating on vacuum drying rate of sweet potato tissue. *Bioresource Technology*, 87(3), 215-220.
- [44] Loghavi, L., Sastry, S.K., Yousef, A.E. (2008). Effect of moderate electric field frequency on growth kinetics and metabolic activity of *Lactobacillus acidophilus*. *Biotechnology Progress*, 24(1), 148-153.
- [45] Samaranayake, C.P., Sastry, S.K. (2016). Effect of moderate electric fields on inactivation kinetics of pectin methylesterase in tomatoes: The roles of electric field strength and temperature. *Journal of Food Engineering*, 186, 17-26.
- [46] Samaranayake, C.P., Sastry, S.K. (2018). In-situ activity of  $\alpha$ -amylase in the presence of controlled-frequency moderate electric fields. *Food Science and Technology*, 90, 448-454.
- [47] Machado, L.F., Pereira, R.N., Martins, R.C., Teixeira, J.A., Vicente, A.A. (2010). Moderate electric fields can inactivate *Escherichia coli* at room temperature. *Journal of Food Engineering*, 96(4), 520-527.
- [48] Syed, Q.A., Ishaq, A., Rahman, U.U., Aslam, S., Shukat, R. (2017). Pulsed electric field technology in food preservation: A review. *Journal of Nutritional Health and Food Engineering*, 6(6), 168-172.
- [49] Rocha, C.M., Genisheva, Z., Ferreira-Santos, P., Rodrigues, R., Vicente, A.A., Teixeira, J.A., Pereira, R.N. (2018). Electric field-based technologies for valorization of bioresources. *Bioresource Technology*, 254, 325-339.
- [50] Gavahian, M., Farahnaky, A., Sastry, S. (2016). Multiple effect concentration of ethanol by ohmic-assisted hydrodistillation. *Food and Bioproducts Processing*, 100, 85-91.
- [51] Pare, A., Nema, A., Singh, V.K., Mandhyan, B.L. (2014). Combined effect of ohmic heating and enzyme assisted aqueous extraction process on soy oil recovery. *Journal of Food Science and Technology*, 51(8), 1606-1611.
- [52] Lakkakula, N.R., Lima, M., Walker, T. (2004). Rice bran stabilization and rice bran oil extraction using ohmic heating. *Bioresource Technology*, 92(2), 157-161.
- [53] Wang, W.C., Sastry, S.K. (2002). Effects of moderate electrothermal treatments on juice yield

- from cellular tissue. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 3, 371-377.
- [54] Yodsuwan, N., Kamonpatana, P., Chisti, Y., Sirisansaneeyakul, S. (2018). Ohmic heating pretreatment of algal slurry for production of biodiesel. *Journal of Biotechnology*, 267, 71-78.
- [55] Cabas, B. M., Azazi, I., Doner, D., Bayana, D., Cokgezme, O. F., İçier, F. (2019). Comparative performance analysis of ohmic thawing and conventional thawing of spinach puree. 4<sup>th</sup> International Conference on Food and Biosystems Engineering, May 30- June 2, 2019, Create Island, Greece, Book of Proceedings, 77-85.
- [56] Donsi, F., Ferrari, G., Pataro, G. (2010). Applications of pulsed electric field treatments for the enhancement of mass transfer from vegetable tissue. *Food Engineering Reviews*, 2(2), 109-130.
- [57] Porrás-Parral, G., Miri, T., Bakalis, S., Fryer, P.J. (2012). The effect of electrical processing on mass transfer in beetroot and model gels. *Journal of Food Engineering*, 112(3), 208-217.
- [58] Zimmermann, U., (1986). Electrical breakdown, electroporation and electrofusion. *Review of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 105, 175-255.
- [59] Maran, J.P., Priya, B. (2015). Ultrasound-assisted extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polymers*, 115, 732-738.
- [60] Yang, Z., Zhai, W. (2010). Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays L.*) cob and identification with HPLC-MS. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11(3), 470-476.
- [61] Salengke, S., Waris, S.A., Mochtar, A.H. (2016). Design and optimization of pilot scale ohmic-based carrageenan extraction technology. *Journal of Nutrition and Food Sciences*, 6(6), 67.
- [62] Gavahian, M., Farhoosh, R., Javidnia, K., Shahidi, F., Golmakani, M.T., Farahnaky, A. (2017). Effects of electrolyte concentration and ultrasound pretreatment on ohmic-assisted hydrodistillation of essential oils from *Mentha piperita L.* *International Journal of Food Engineering*, 13(10).
- [63] Lebovka, N.I., Shynkaryk, M., Vorobiev, E. (2007). Moderate electric field treatment of sugarbeet tissues. *Biosystems Engineering*, 96(1), 47-56.
- [64] Imai, T., Uemura, K., Ishida, N., Yoshizaki, S., Noguchi, A. (1995). Ohmic heating of Japanese white radish *Rhaphanus sativus L.* *International Journal of Food Science and Technology*, 30(4), 461-472.
- [65] Sastry, S.K., Barach, J.T. (2000). Ohmic and inductive heating. *Journal of Food Science*, 65, 42-46.
- [66] Kim, J., Pyun, Y. (1995). Extraction of soy milk using ohmic heating. 9<sup>th</sup> Congress of Food Science Technology, July 31-August 4, 1995, Budapest, Hungary, Book of Proceedings, 102-120.
- [67] Knirsch, M.C., Dos Santos, C.A., de Oliveira Soares, A.A.M., Penna, T.C.V. (2010). Ohmic heating—a review. *Trends in Food Science and Technology*, 21(9), 436-441.
- [68] Praporscic, I., Lebovka, N.I., Ghnimi, S., Vorobiev, E. (2006). Ohmically heated, enhanced expression of juice from apple and potato tissues. *Biosystems Engineering*, 93(2), 199-204.
- [69] Coelho, M.I., Pereira, R.N.C., Teixeira, J.A., Pintado, M.E. (2017). Valorization of tomato by-products: Influence of ohmic heating process on polyphenols extraction. 1<sup>th</sup> World Congress on Polyphenols Applications, June 20-21, 2017, Vienna, 87p., Retrieved from <https://hdl.handle.net/1822/47502>
- [70] Al-Hilphy, A. R., AlRikabi, A. K., & Al-Salim, A. M. (2015). Extraction of phenolic compounds from wheat bran using ohmic heating. *Food Science and Quality Management*, 43, 21-28.
- [71] Halden, K., de Alwis, A.A.P., Fryer, P.J. (1990). Changes in the electrical conductivity of foods during ohmic heating. *International Journal of Food Science and Technology*, 25, 9-25.
- [72] İçier, F., Yildiz, H., Sabancı, S., Cevik, M., Cokgezme, O.F. (2017). Ohmic heating assisted vacuum evaporation of pomegranate juice: Electrical conductivity changes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 241-246.
- [73] Goullieux, A., Pain, J.P. (2005). Emerging technologies for food processing: Ohmic heating, Elsevier Academic Press, Inc, San Diego, CA, 476-479.
- [74] Lima, M., Sastry, S.K. (1999). The effects of ohmic heating frequency on hot-air drying rate and juice yield. *Journal of Food Engineering*, 41(2), 115-119.
- [75] Onwuka, U.N., Ejikeme, C. (2005). Influence of voltage and electrode type on the yield and quality of fruit juice extracted by ohmic heating. *Fruits*, 60(5), 341-349.
- [76] Lima, M., Heskitt, B.F., Sastry, S.K. (2001). Diffusion of beet dye during electrical and conventional heating at steady-state temperature. *Journal of Food Process Engineering*, 24(5), 331-340.
- [77] Hashemi, S.M.B., Nikmaram, N., Esteghlal, S., Khaneghah, A.M., Niakousari, M., Barba, F.J., Roohinejad, S., Koubaa, M. (2017). Efficiency of ohmic assisted hydrodistillation for the extraction of essential oil from oregano (*Origanum vulgare* subsp. *viride*) spices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 41, 172-178.
- [78] Damyeh, M.S., Niakousari, M. (2017). Ohmic hydrodistillation, an accelerated energy-saver green process in the extraction of *Pulicaria undulata* essential oil. *Industrial Crops and Products*, 98, 100-107.
- [79] Gavahian, M., Lee, Y.T., Chu, Y. H. (2018). Ohmic-assisted hydrodistillation of citronella oil from Taiwanese citronella grass: Impacts on the essential oil and extraction medium. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 48, 33-41.
- [80] Kanduđer, M., Miklavčič, D., (2009). Electroporation in biological cell and tissue: an overview. In *electrotechnologies for extraction from food plants and biomaterials*. Springer, New York, 1-37.

- [81] Luengo, E., Condón-Abanto, S., Álvarez, I., Raso, J. (2014). Effect of pulsed electric field treatments on permeabilization and extraction of pigments from *Chlorella vulgaris*. *The Journal of Membrane Biology*, 247(12), 1269-1277.
- [82] Grimi, N., Dubois, A., Marchal, L., Jubeau, S., Lebovka, N.I., Vorobiev, E. (2014). Selective extraction from microalgae *Nannochloropsis* sp. using different methods of cell disruption. *Bioresource Technology*, 153, 254-259.
- [83] El Darra, N., Grimi, N., Vorobiev, E., Louka, N., Maroun, R. (2013). Extraction of polyphenols from red grape pomace assisted by pulsed ohmic heating. *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), 1281-1289.
- [84] Boussetta, N., Lanoisellé, J.L., Bedel-Cloutour, C., Vorobiev, E. (2009). Extraction of soluble matter from grape pomace by high voltage electrical discharges for polyphenol recovery: Effect of sulphur dioxide and thermal treatments. *Journal of Food Engineering*, 95(1), 192-198.
- [85] Zderic, A., Zondervan, E. (2016). Polyphenol extraction from fresh tea leaves by pulsed electric field: A study of mechanisms. *Chemical Engineering Research and Design*, 109, 586-592.
- [86] Darvishi, H., Hosainpour, A., Nargesi, F., Fadavi, A. (2015). Exergy and energy analyses of liquid food in an Ohmic heating process: A case study of tomato production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 31, 73-82.
- [87] Tunç, M.T., Koca, İ. (2021). Optimization of ohmic heating assisted hydrodistillation of cinnamon and bay leaf essential oil. *Journal of Food Process Engineering*, 44(3), e13635.
- [88] Gahruie, H.H., Parastouei, K., Mokhtarian, M., Rostami, H., Niakousari, M., Mohsenpour, Z. (2020). Application of innovative processing methods for the extraction of bioactive compounds from saffron (*Crocus sativus*) petals. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 19, 100264.
-

## Çimlendirilmiş Bazı Tahıl ve Baklagillerin Kimyasal Özellikleri ve Çimlendirmeye Açığa Çıkan Biyoaktif Bileşenlerin Sağlık Üzerine Etkileri

Ayşe Seda Şenlik<sup>1</sup> , Derya Alkan<sup>2</sup>  

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fethiye Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Çalıcı Mevkii, 48300 Fethiye, Muğla

Geliş Tarihi (Received): 18.09.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 03.05.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [deryaalkan@mu.edu.tr](mailto:deryaalkan@mu.edu.tr) (D. Alkan)

☎ 0 252 211 13 28 📠 0 252 211 13 52

### ÖZ

Çeşitli metabolik ve kronik hastalıkların dünya genelindeki görülme sıklığının artması, beslenmenin sağlık üzerinde çok önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Son zamanlarda bilinçli tüketiciler beslenme alışkanlıklarını değiştirme eğilimi göstermekte, vitamin, mineral, biyoaktif bileşenler ve antioksidan maddelerden zengin doğal gıdalara yönelmektedir. Günlük diyetle fonksiyonel besin adı altındaki filizlenmiş tanelerin tüketimindeki artışa bağlı olarak, çimlendirilmiş tanelerde biyoaktif bileşenler ve antioksidan kapasite içerikleriyle ilgili araştırmalar da artış göstermiştir. Hayvansal proteinlere iyi bir alternatif olan tahıl ve baklagil tanelerinden yüksek besin değeri elde etmek için çimlendirme işlemi uygulanabilmektedir. Çimlendirme sırasında, bitki ve tohumlarda diyet lifi, vitamin, mineral ve fenolik madde gibi bileşiklerin sentezlenmesi, protein, karbonhidrat ve yağ asidi kompozisyonlarının değişmesi gibi önemli biyokimyasal olaylar gerçekleşmektedir. Çimlendirme ile tanenin besin içeriğinde meydana gelen bu değişiklikler insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olma yanında birçok hastalığın önlenmesinde etkili olabilmektedir. Bu derleme çalışmasında, çimlenme sürecinde bazı tahıl ve baklagillerde meydana gelen biyokimyasal değişiklikler; makro ve mikro besin öğeleri, biyoaktif bileşenler, antibesinsel faktörler ve antioksidan kapasite göz önüne alınarak incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Filiz, Çimlenme, Biyoaktif bileşenler, Tahıl, Baklagil

### Chemical Properties of Some Germinated Grains and Legumes and Effects of Bioactive Constituents Released during Germination on Human Health

#### ABSTRACT

Increasing prevalence of various metabolic and chronic diseases worldwide indicates the importance of nutrition role on health. Recently, conscious consumers tend to change their eating habits, turning to natural foods rich in vitamins, minerals, bioactive components and antioxidants. Due to the increase in the consumption of sprouted grains called functional nutrients in the daily diet, researches on bioactive components and antioxidant capacity content in germinated grains have also increased. Germination process can be used to obtain high nutritional value from grains and legumes that are good alternatives to animal proteins. Important biochemical cases such as the synthesis of dietary fiber, vitamins, minerals and phenolic substances, changes in protein, carbohydrate and fatty acid compositions occur in plants and seeds during germination. These changes in the nutrient content of grains with germination have an important place in human nutrition and can be effective in preventing many diseases. In this study, biochemical changes in some cereals and legumes during germination were reviewed in terms of macro and micronutrients, bioactive components, anti-nutritional factors and antioxidant capacity.

**Keywords:** Sprout, Germinating, Bioactive compounds, Cereal, Legume

## GİRİŞ

Gıdaların raf ömrünü uzatmak, lezzet, koku ve görünüm gibi duyu kalite özelliklerini geliştirmek amacıyla gıdalara çeşitli katkı maddelerinin ilave edilmesi birçok sağlık probleminin ortaya çıkmasına neden olmakta, bu da bilinçli tüketicileri içerikçe vitamin, mineral, biyoaktif bileşenler ve antioksidan maddelerden zengin doğal gıdalara yönlendirmektedir [1]. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yayınladığı verilere göre; küresel ölümlerin başında kronik hastalıklar gelmekte ve bu sağlık problemlerinin prevalansında artış gözlenmektedir. Yapılan araştırmalar dünya genelinde ölümlerin başlıca sebebinin kardiyovasküler hastalıklar olduğunu ve bunu 2018 yılında 1.6 milyon insanın ölümüne yol açan kanserin takip ettiğini göstermiştir [2, 3]. WHO'nun küresel alandaki verilerine göre diyabetli kişi sayısı 1980 yılından 2014 yılına kadar 108 milyondan 422 milyona yükselmiştir. 2016 yılında doğrudan diyabetten ölenlerin sayısı ise tahmini 1.6 milyondur [4]. Diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, bazı kanserler (endometriyal, meme, yumurtalık, prostat, karaciğer, safra kesesi, böbrek ve kolon) gibi bulaşıcı olmayan hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan obezite, 1975 yılından bu yana dünya çapında neredeyse 3 katına çıkmıştır [5]. Çeşitli metabolik ve kronik hastalıkların dünya genelindeki görülme sıklığının artması da yine beslenmenin sağlık üzerinde çok önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Bu sebeple son zamanlarda tüketiciler beslenme alışkanlıklarını değiştirme eğilimi göstermekte ve bunun sonucunda glutensiz, organik ve fermente terimlerinin yanı sıra bir de 'yenilebilir bitki ve tohum filizleri' kavramı ortaya atılmaktadır.

Filiz; çeşitli bitki ve tohumların uygun nem ve sıcaklık gibi belli ortam şartlarında çimlenmesinden ve su veya başka bir ortamda gelişmesinden elde edilen, yaprakların gelişiminden önce hasat edilen ve tohum da dâhil bütün olarak tüketilmesi amaçlanan ürün olarak tanımlanmaktadır. Çimlendirme ise bitkilerin neslini devam ettirmesi için enerji ve esansiyel bileşenlerin sağlanması amacıyla tohumda büyümeyle beraber bazı biyokimyasal ve fizyolojik değişikliklerin (proteinlerin parçalanması, lipid oksidasyonu, kompleks karbonhidratların basit şekere dönüşmesi, suyun absorpsiyonu, hücre farklılaşması gibi) meydana gelmesi olarak tanımlanan ekonomik, basit, hızlı bir üretim döngüsüne sahip ve oldukça yüksek verim sağlayan bir yöntemdir. Süreç olarak çimlenme; durgun kuru tohumun su almasıyla başlayıp, embriyo ekseninin genellikle onu çevreleyen yapılarla nüfuz edecek şekilde yayılan radikülün uzamasıyla sona ermektedir. Fidenin büyümesiyle ana depolama rezervleri mobilize olmaya başlamaktadır. Bu sebeple fiziksel ve biyokimyasal olayların (tohum örtülerinin zayıflaması, metabolik aktivitenin açılması, gen transkripsiyonunun aktivasyonu, embriyonik hücre duvarlarının genişlemesi, organellerin yeniden birleştirilmesi ve biyogenez) bu sürecin temelini oluşturduğu ifade edilmektedir. Her bitki ve tohumun çimlendirme şartı familya ve türe göre değiştiğinden; sıcaklık, besin, ışık ve nem gibi şartların çok önemli bir yere sahip olduğu çimlendirme işlemini standardize etmek oldukça zordur [1, 6].

Bugün dünyanın birçok yerinde ilk çağlardan günümüze kadar bir gelenek olarak çimlendirilmiş bazı bitki ve tohumların filizleri tüketilmektedir [1]. İlk zamanlarda özellikle buğday ve arpa gibi bazı tahılların ve baklagillerin filizleri yaygın olarak tüketilse de günümüzde çimlenmiş tane olarak buğday ve arpanın yanında en fazla yonca, brokoli, soya fasulyesi, bezelye, nohut, fasulye, yulaf, karabuğday, çeltik ve lupin tüketilmektedir [1, 6].

Çimlendirme ile normal taneler vitamin, mineral, antioksidatif özellikler ve çeşitli biyoaktif bileşenler (fenolik asitler, izoflavonlar vb.) yönünden kıyaslandığında, çimlendirilmiş bitki ve tohumların daha yüksek bir değere sahip olduğu yapılan pek çok çalışmada gösterilmektedir [1, 6, 7, 8]. Çimlendirme ile besinin yalnızca kimyasal özelliklerinde değil fiziksel özelliklerinde de (lezzet, koku, yapı, renk) değişimler gözlenmektedir [6]. Bitkilerde genellikle esterleşmiş olarak veya glikozidlere bağlı olarak bulunan, yapılarında bir aromatik halka ve en az bir hidroksil (-OH) grubu bulunduran, bitkinin büyümesi ve gelişmesinde çeşitli fonksiyonlara sahip sekonder metabolit olarak tanımlanan bu biyoaktif bileşenlerin açığa çıkması veya miktarındaki artış besine 'fonksiyonel besin' özelliği kazandırmaktadır. 5.000-10.000 kadarki günlük diyetimizde yer almakla birlikte toplamda 30.000'den fazla biyoaktif bileşen olduğu tahmin edilmektedir. Bu bileşenler bitkilerde has renk, koku ve tat özelliklerini kazandırmanın yanında bakteri, virüs, mantar ve haşerelere karşı da koruyuculuk sağlamaktadır [9]. Besinlere fonksiyonellik özelliği kazandıran biyoaktif bileşenler bazı kanser türleri, kardiyovasküler hastalıklar, osteoporoz gibi sağlık sorunlarını ve yaşa bağlı dejenerasyonu önleme veya azaltma, glisemik kontrolü sağlama, oksidatif stresi iyileştirme, bağışıklık sistemi ile ilişkili hastalıkların gelişiminde rol alan lökotrienlerin sentezini seçici olarak inhibe edici özellik gösterme gibi sağlık üzerine birçok olumlu etkiye sahiptir [1, 6, 9, 10]. Bu etkiler tek bir biyoaktif bileşene değil, günlük diyetle çeşitliliğin sağlanmasıyla biyoaktif bileşenler arasında oluşan sinerjik etkileşime dayandırılmalıdır [10].

Bu derleme çalışmasının amacı, dünyanın çeşitli bölgelerinde çimlendirilerek tüketilen bazı tahıl ve baklagil filizlerinin farklı ortam koşullarında (nem, sıcaklık, aydınlık/karanlık ortam, çimlendirme süresi, çimlendirme öncesi işlemler) çimlendirilmesi sonucu, yapısında meydana gelen fiziksel ve biyokimyasal değişiklikler hakkında bilgi vermektir. Çimlendirme ile meydana gelen bu fiziksel ve biyokimyasal değişiklikler sonucu açığa çıkan biyoaktif bileşenler ve bunların insan sağlığı üzerine etkileri değerlendirilerek, çimlendirilmiş ürünlerin ülkemizde de hem endüstriyel hem de evsel üretim ve tüketimlerinin yaygınlaştırılmasını teşvik etmek amaçlanmaktadır.

## ÇİMLENME SIRASINDA KARBONHİDRATLARDA MEYDANA GELEN KİMYASAL DEĞİŞİMLER

Karbon, oksijen ve hidrojen elementlerinden oluşmuş organik bileşikler olan karbonhidratlar, bu üç elementin sayısına, birleşme düzenine ve insanın yararlanma

durumuna göre basit şekerler, oligosakkaritler ve polisakkaritler olmak üzere 3 ana alt gruba ayrılır [11]. Fide gelişimi üzerinde en çok çalışılan süreçlerden biri, nişasta gibi kompleks karbonhidratların mobilizasyonu olduğu için, filizlenmiş tanelerin karbonhidrat içeriğindeki değişimler kapsamlı bir şekilde incelenmiştir [10].

Çimlenmiş tahıllarda amilaz enzimi, amiloz ve amilopektin olarak depolanan nişastanın basit şekerlere (glikoz, maltoz ve daha az ölçüde sakkaroz) hidrolizlenmesini katalize eder. Bu da tahılların sindirilebilirliğini artırırken aynı zamanda tohum büyümesi için enerji kaynağı oluşturmaktadır. [10, 12, 13]. Nişastadaki değişimin derecesi sıcaklık, nem, kültür ortamı, çimlendirme öncesi işlemler ve çimlendirme süresine bağlıdır [14].

Çimlendirilmiş tahıllardaki şeker profili temel olarak tahılların türüne bağlıdır. Araştırmacılar tarafından çimlendirilmiş pirinç, sorgum ve darı filizlerinde glikozdan çok maltoz birikimi gözlenirken, karabuğdayda ise tam tersi bir durum gerçekleşmiştir. 20°C'de 5 gün çimlendirilen karabuğday filizlerindeki glikoz/maltoz oranı 3.5/1 olarak kaydedilmiştir. Bu oranın çimlenme esnasında salgılanan  $\alpha$ -amilaz ve  $\beta$ -amilazın seviyeleriyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir [15, 16]. Yapılan başka bir çalışmada, pirinçteki sakkarozun imbibisyonun kısa bir süre sonra baskın hale geldiği, bununla birlikte 7 günlük imbibisyon sürecinden sonra sakkarozun yine yüksek seviyelerde seyrettiği, glikoz içeriğinin hızla arttığı ve maltoz seviyesinde önemli bir değişiklik gözlenmediği belirtilmiştir [17].

5 çeşit mercimek türü üzerinde yapılan bir çalışmada ise 50±5°C'de, 16-18 saatlik çimlendirme koşullarında, mercimeklerin nişasta içeriğinde %9.93-35.56 oranında azalma saptanırken, toplam çözünebilir şeker miktarında önemli bir değişiklik gözlenmemiştir [18]. Xu ve arkadaşları [13] 25°C'de, 60 saat çimlendirdikleri adlay tohumundaki nişasta içeriğinin 613 g/kg'dan 485.8 g/kg'a düştüğünü gözlemlemiştir. Başka bir çalışmada ise 30°C'de, 48 saat çimlendirilen mumsu buğdayın nişasta konsantrasyonunun 624±5 g/kg'dan 609±4 g/kg'a düştüğü tespit edilmiştir. (P<0.05) [19].

Tahıl filizleri ile ilişkili incelenen bir diğer önemli konu, diyet liflerinde meydana gelen değişikliklerdir. Yapısal karbonhidrat sınıfında yer alan diyet lifleri suda çözünebilir ( $\beta$ -glukan ve arabinoksilanlar (AXs)) ve suda çözünemeyen (selüloz, hemiselüloz ve lignanlar) lifler olarak ikiye ayrılmaktadır [10]. Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP), kolesterol tespit, değerlendirme ve tedavi konulu uzman panelinde, beslenmede çözünebilir diyet lifinin artırılmasının LDL seviyesini düşürdüğünü söylemekte ve koroner kalp hastalığı açısından yüksek riskli gruplara çözünebilir diyet lifinin kullanımını tavsiye etmektedir [20]. Gıda lifleri gastrointestinal sistem hastalıkları ve diyabet üzerinde olumlu etkiler yaratırken bazı kanser türlerinin oluşum/veya ilerleme riskini azaltmaktadır. Düşük enerji içeriği dolayısıyla da doyumluk hissi oluşturmada ve kilo kontrolünde etkili olmaktadır [21]. Bununla birlikte, tahıllardaki diyet lifi üzerinde çimlendirmenin etkisi tutarsızlık göstermektedir. Ancak bu etkinin, diyet lifinin

fraksiyonuna, çimlenme süresine ve genotipe bağlı olduğu kesinlikle düşünülmektedir. 30°C'de farklı sürelerde (6, 12, 24, 36 ve 48 saat) çimlendirilen yüksek amilozlu buğday üzerinde yapılan bir çalışmada çimlendirme süresi arttıkça çözünebilir diyet lifi miktarında artış gözlenirken, çözünmeyen diyet lifi miktarı çimlenmenin ilk 6 saatinde azalıp sonraki saatlerde aynı seviyelerde kalmıştır. [22]. Dünyada tarımı yapılan iki ana nohut çeşidinden biri desi nohuttur. Desi kelimesi Hint dilinde yerel/lokal anlamına gelmektedir. Pigmentli desi nohut üzerinde yapılan bir çalışmada, 33.7°C'de, 171 saat çimlendirmeden sonra toplam diyet lifinde %15, çözünebilir lifte %26 ve çözünemeyen lifte %15 oranında anlamlı (p<0.05) bir artış gözlenmiştir [23]. Bir diğer çalışmada ise, 20°C'de, 2-6 gün boyunca aydınlık ve karanlık koşullarda çimlendirilen nohut filizlerinin toplam diyet lifi (çözünebilir ve çözünemez) miktarının, kontrol grubuna göre anlamlı (p<0.05) oranda artış gösterdiği saptanmıştır [24]. Çimlendirilmiş mumsu buğday (30°C, 48 saat) üzerinde yapılan bir çalışmada ise buğdaydaki total diyet lifi miktarı başlangıçta 177±2 g/kg iken 48 saat sonunda 190±2 g/kg olarak tespit edilmiştir [19]. Literatürde yapılan pek çok çalışma, çimlenme sürecinin, tohumların hücre duvarı polisakkaritlerinin yapısını değiştirdiğini ve hücre duvarı biyosentezinin yanı sıra yeni diyet lifi üretiminin gerçekleştiğini göstermektedir [23].

## ÇİMLENME SIRASINDA PROTEİNLERDE MEYDANA GELEN KİMYASAL DEĞİŞİMLER

Latince karşılığı yaşayan varlıklar için elzem azotlu öge olarak tanımlanan ve hem tahıl hem de kuru baklagillerin yapısında bulunan proteinler (albumin, globulin, glutelin, prolamin), çimlendirme esnasında proteolitik enzimler (proteaz) tarafından oligopeptidlere, peptidlere ve aminoasitlere hidrolize olurlar. Bu şekilde besinlerin biyoyararlılığında artış meydana gelmektedir [6, 10, 11].

Birçok araştırmacı, tahıllarda depolanan ham proteinin ve aminoasitlerin su emilimi ile ayrıştığını, taşınabilen amidlere bağlandığını ve fidelerin büyüyen kısımlarının beslenmesi ile arpa, mumsu buğday, kahverengi pirinç ve yulaf gibi tahıl proteinlerinde bir artış olduğunu bildirmişlerdir [25]. Literatürdeki bir çalışmada optimize koşullarda (21°C, 157 saat) çimlendirilen chia tohumunun protein miktarında %20.89 oranında artış gözlenmiştir. Proteindeki bu artış su ve karbondioksit üretimi nedeniyle lipidlerin ve çoğunlukla karbonhidratların kaybı ile meydana gelen kuru ağırlıktaki azalmaya atfedilmiştir [26]. Pal ve ark.'nın [18] yaptığı bir çalışmada 5 çeşit mercimek örneği çimlendirme sonrası incelenmiş ve mercimeklerin protein içeriğinde ortalama %21.63 oranında düşüş olduğu gözlenmiştir. Bu azalış çimlendirme sırasında proteaz enzim seviyesindeki artışla ilişkilendirilmiştir. 30°C'de 48 saat çimlendirilen mumsu buğdaydaki protein miktarının ise kontrol grubundan (157±2 g/kg ve 154±1g/kg, sırasıyla) anlamlı olarak farklı olmadığı belirtilmiştir [19]. Tahıl (buğday, arpa, yulaf, kinoa, amarant) ve baklagiller (yeşil mercimek, nohut ve maş fasulyesi) üzerinde yapılan bir çalışmada taneler 1, 3 ve 5 gün çimlendirilmiş ve kontrol grubuyla

karşılaştırılmıştır. Çimlendirme işlemi ve süresine bağlı olarak ham protein miktarının kontrol grubuna göre anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak arttığı saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre baklagillerin (yeşil mercimek %24.45, maş fasulyesi %23.95, nohut %21.11) ham protein oranları tahıllara (buğday %15.87, kinoa %13.96, yulaf %13.9, amarant %11.04, arpa %8.97) kıyasla daha yüksek bulunmuştur [6]. Kavas ve El [27], yapmış oldukları araştırmalarında, mercimeklerdeki ham protein oranının çimlendirme ile  $30\pm 0.27$ 'den  $33.28\pm 0.89$ 'a çıktığını saptamışlardır. Bibi ve ark. [28] nohut örneklerindeki ham protein oranının %19.84'ten çimlendirme ile %21.97'ye yükseldiğini tespit etmişlerdir. Pigmentli desi nohut üzerinde yapılan bir çalışmada ise  $33.7^{\circ}\text{C}$ 'de, 171 saat çimlendirme ile nohut proteinlerinde %16.4 oranında anlamlı ( $p<0.05$ ) bir artış gözlenmiştir [23]. Araştırmacılar, çimlenme sırasında yulafta albumin (lizinin ve triptofan açısından zengin) miktarında artış, globulin ve prolamin miktarında düşüş gözlemiştir [29]. Çimlendirilmiş tam taneli tahıllar yüksek oranda esansiyel aminoasit içermektedir. Aminoasit miktarı üzerindeki en önemli etki tanenin genotipine ve çimlendirme süresine bağlıdır. Örneğin, yapılan bir çalışmada mumsu buğdaydaki bazı esansiyel aminoasitlerin (izolösin, lösin, fenilalanin, valin) 36 saatlik çimlendirmeden sonra maksimum seviyeye ulaşırken diğer esansiyel aminoasitlerin (treonin ve metiyonin) sırasıyla 24 ve 48 saatte maksimum düzeye ulaştıkları rapor edilmiştir [19]. Buna ilaveten, pirinç ve karabuğday filizlerinin sırasıyla 5 ve 4 günlük çimlenmeden sonra daha fazla oranda aminoasit ürettikleri ancak her iki türde de az miktarda asparajin, metiyonin ve histidin saptandığı belirtilmiştir [15].

Glutamat dekarboksilaz (GAD) tarafından katalize edilen L-glutamik asitin  $\alpha$ -dekarboksilasyonu ile üretilen dört karbonlu aminoasit olan  $\gamma$ -aminobütirik asit (GABA), merkezi sinir sistemindeki ana baskılayıcı nörotransmitterdir ve biyoaktif özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Kaygı yatıştırıcı özelliğinden dolayı nörolojik rahatsızlıkları olan insanlar için GABA içeriği yüksek olan besinlerin tüketilmesi önerilmektedir [10, 30]. GABA kan basıncını ve kalp atış hızını regüle ederek ağrı şiddetini azaltmaktadır. Pankreastan güçlü bir insülin salgılatma özelliğiyle diyabeti önlemede etkilidir [14]. Diyabet, hiperkolesterolemi, hipertansiyon, inflamasyon ve depresyona karşı biyolojik aktivitelerinin yanı sıra kanser hücrelerine karşı anti-proliferatif etkiye sahiptir [26]. Çimlendirme sırasında ise GABA'nın önemli ölçüde artış gösterdiği rapor edilmektedir. Maş fasulyesi (*Vigna radiata*), soya fasulyesi (*Glycine max*), siyah mercimek (*Vigna mungo*) ve susam (*Sesamum indicum*) üzerinde yapılan bir çalışmada çimlendirme öncesi tanelerin GABA içerikleri sırasıyla 0.1325, 0.1222, 0.0438 ve 0.0907 g/kg iken maş fasulyesi 24. saatte (0.8068 g/kg), soya fasulyesi ve siyah mercimek 6. saatte (sırasıyla 0.4977 ve 0.7430 g/kg) en yüksek GABA seviyesine ulaşmıştır. Susamın GABA içeriği ise yalnızca 6 saatlik (0.1649 g/kg) suda bekletme ile bir miktar artmıştır. Araştırmacılar tanelerdeki depo proteinlerinin en azından bir kısmının ayrıştığını ve fidelerin büyüyen kısımları için kullanıldığını ve bu esnada glutamik asidi GABA'ya dönüştüren glutamat dekarboksilaz enziminin aktive edildiğini belirtmiştir [31].

$21^{\circ}\text{C}$ 'de 157 saat çimlendirilen chia tohumunun GABA konsantrasyonunun ise 11.4 kat arttığı ( $p<0.05$ ) belirtilmiştir. [26]. GABA konsantrasyonundaki değişimde çimlenme esnasındaki çevresel koşullar (sıcaklık, abiyotik stres vb) ve çimlenme öncesinde taneye uygulanan işlemlerin (ıslatma vb) etkili olduğu bildirilmiştir [10, 30].

## ÇİMLENME SIRASINDA LİPİTLERDE MEYDANA GELEN KİMYASAL DEĞİŞİMLER

İçerisinde fosfolipidler, glikolipidler, steroidler ve mumlar gibi değişik kimyasal yapıda organik ögeler bulunduran lipidler, tahıl ve baklagillerin canlı dokularında triaçilgliseroller (TAG) şeklinde bulunmaktadır [10, 11]. TAG'ın yağ kütlelerinden mobilizasyonu çimlenme ile başlamakta ve birtakım koordineli metabolik aktiviteler sonucunda yağın şekerlere dönüşümü gerçekleşmektedir. Bu koordineli metabolik aktiviteler, lipaz enziminin TAG'ın ester bağlarını hidrolize ederek serbest yağ asitlerini (SYA) açığa çıkarmasıyla başlamaktadır. Serbest yağ asitleri daha sonra  $\beta$ -oksidasyon ve glikosilat döngüleri yoluyla indirgenmekte ve şekerlere dönüşmektedir [10].

Yapılan bir çalışmada 48 saat boyunca çimlendirilen mumsu buğdayın esansiyel yağ asitleri de (linoleik ve linolenik asit) dahil olmak üzere serbest ve bağlı lipidlerin yağ asidi kompozisyonunun etkilenmediği gözlenmiştir. Öztürk ve ark. [32] yapmış olduğu bu çalışmaya göre 9 günlük buğday filizlerinin yağ asidi kompozisyonunun önemli oranda etkilendiği ve linoleik asit (18:3 n3) miktarının artarken, cis-18:1 ve cis,cis-18:2 yağ asitlerinin azaldığı belirtilmiştir. 3 günlük buğday filizleri üzerinde yapılan bir çalışmada ise daha fazla oranda palmitik asit, linoleik asit ve oleik asit bulunduğu görülmüştür [33]. Yağ asitlerinin miktarının çimlendirme öncesi uygulamalara (ıslatma vb) ve lipaz enziminin aktivitesine bağlı olarak değiştiği düşünülmektedir [10].  $33.7^{\circ}\text{C}$ 'de 171 saat çimlendirilen pigmentli desi nohutlarının lipid içeriği anlamlı olarak ( $p<0.05$ ) %37 oranında azalmıştır [23]. Benzer bir çalışmada çimlendirilmiş mercimeğin ( $25^{\circ}\text{C}/3-6$  gün, karanlık koşullarda) lipid miktarında düşüş gözlemlendiği rapor edilmiştir [34]. 48 saat çimlendirilen 5 çeşit mercimek incelendiğinde ise lipid içeriğinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Bu düşüşün sebebinin ise çimlenme öncesinde ıslatma ile toplam katı kaybının yaşanması ve/veya filizlenme sürecinde yağın enerji kaynağı olarak kullanılması olarak düşünülmektedir [18]. Çimlendirilmiş bazı tahıl ve baklagillerin (buğday, arpa, yulaf, kinoa, amarant, yeşil mercimek, nohut ve maş fasulyesi) kimyasal özelliklerinin incelendiği bir çalışmada ham yağ oranının anlamlı olarak ( $p<0.05$ ) arttığı ve baklagillerin ham yağ oranının tahıllara kıyasla daha düşük olduğu ve çimlendirme süresinin artmasıyla ham yağ miktarının arttığı rapor edilmiştir. [6]. Bibi ve ark. [28] araştırmalarında çimlendirilmiş nohut örneklerinde ham yağ oranının %4.24'ten %6.03'e yükseldiğini tespit etmişlerdir. Çimlenme esnasında tohumun yapısındaki lipaz enziminin aktifleşerek yağları yağ asitlerine ve gliserola parçaladığı ve toplam ham yağ içeriğinin artmasının bununla ilişkilendirildiği rapor edilmiştir [6].  $\gamma$ -orizanol; tokoferoller ve tokotrienollerle

birlikte pirinç fideleriyle ilişkili, besleyici özelliklere sahip ve sağlığı geliştirici etkisi olan, sabunlaşmayan lipid fraksiyonunun temel bileşenidir. Çimlendirmeden sonra pirinç ve kahverengi pirinçteki  $\gamma$ -orizanol konsantrasyonu sırasıyla 1.13 ve 1.20 kat artmıştır [35].

## ANTİBESİNSEL FAKTÖRLER VE BİYOAKTİF BİLEŞENLER

### Fitatlar/Fitik Asit ve Mineraller

Baklagiller, tahıllar, çeşitli tohumlar, bazı sebze ve meyveler gibi çeşitli gıdalarda bulunan fitatlar, baklagil ve tahıllarda fosforun en önemli depo formunu oluşturan organik bileşiklerdir. Fitatlar genellikle metal-fitat veya protein-fitat kompleksi halinde bulunmaktadır. İnsanlarda endojen fitaz enziminin yetersizliğine bağlı olarak inositol gruplarından fosfat grupları uzaklaştırılmadığı için fitat fosforunun bir kısmı vücutta kullanılamamaktadır. Antibesinsel faktör olarak da bilinen fitatlar güçlü bir şelat yapma kapasitesine sahip olmakla beraber Zn, Fe, Mn, Mg, Ca, Cu, Co gibi minerallerle çözünmez tuzlar oluşturarak bu minerallerin emilimini engellerler [10, 18, 36, 37]. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar fitik asitin insan sağlığı üzerinde faydalarının olabileceğini belirtmektedir. Diyabetik fareler üzerinde yapılan çalışmalarda fitik asidin kolesterol seviyesini düşürdüğü ve antioksidan ve antikarsinojen etkilerinin olduğu saptanmıştır [37]. Antioksidan özelliği sayesinde Diabetes Mellitus (DM), ateroskleroz ve koroner kalp hastalarına karşı terapötik etki gösterdiği, böbrek taşı oluşumunu ve ağır metal toksisitesini azalttığı birçok çalışmada belirtilmektedir [38].

Yapılan çalışmalarda çimlenme esnasında fitaz enzim aktivitesinin artış eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. Sung ve arkadaşları [39] arpada bulunan fitaz enzim aktivitesinin çimlendirmeden birkaç gün sonra 8 katına çıktığını tespit etmişlerdir. Fakat bu değişim türler arasında farklılık göstermektedir. Örneğin, çavdar filizleri en yüksek fitaz aktivitesine sahipken yulaf en düşük kapasiteye sahiptir. Sonuçta fitat içeriği çimlendirme ile beraber düşmekte, 12-72 saat çimlendirilen kahverengi pirinçte bu düşüş %60 oranında olurken, sorgumda %87 olarak kaydedilmiştir. Fitat konsantrasyonu azaldıkça fosfor ve minerallerin biyoyararlılığı artmaktadır. Kılınçer ve ark. [6] toplam 8 çeşit tahıl ve baklagillerin mineral içeriğini çimlendirme (5 gün) öncesi ve sonrasında karşılaştırmış ve tüm tanelerin ortalama mineral seviyelerinin %2.19'dan %2.26'ya yükseldiğini gözlemlemişlerdir. 5 farklı mercimek filizi incelendiğinde, 48 saatlik süre içerisinde, toplam fitik asit miktarının %40-59.38 oranında azaldığı tespit edilmiştir [18]. Çimlendirilmiş kahverengi pirinç unu ile yapılan ekmekteki fitik asit miktarının, 12 ve 48. saatlerde %25 oranında, 24. saatte ise %13 oranında düştüğü gözlemlenmiştir [37]. Başka bir çalışmada mercimekteki (*Lens culinaris medik.*) fitik asit miktarı çimlendirmeden önce 233.04±9.23 mg/100 g iken 3, 4, 5 ve 6 gün çimlendirmeden sonra %45.85-73.76 oranında artmıştır [34].

Sonuçta çimlenme esnasında, fitaz enzim aktivitesindeki değişikliklere bağlı olarak mineral içeriğinde artma ve azalma görülmektedir [6, 18]. Çünkü fitaz, mineral ve proteinlerin kompleks oluşturduğu yapıları hidrolize ederek, minerallerin serbest kalmasını sağlamaktadır [14]. Bununla birlikte bazı araştırmacılar tahıl ve baklagil tanelerinin mineral alımına izin veren kök uzantısının gelişmesiyle mineral konsantrasyonunun çimlenmenin 4. gününden itibaren arttığını söylemektedir. Çimlenmeyle beraber alfa amilaz enzimi artarak karbonhidratları yıkıma uğratmakta ve solunumda kullanılması için basit şekerlere dönüştürmektedir. Bu da kimyasal kompozisyondaki oransal değişimi etkileyen bir diğer faktör olarak düşünülmektedir [6].

### Fenolik/Polifenolik Bileşikler

Özellikle baklagiller, tahıllar, fındık, zeytinyağı, sebze-meyve, çay, kakao ve kırmızı şarapta bol miktarda bulunan polifenoller biyolojik aktif bileşenlerdir. Fenolik maddeler, bitkiye renk, koku ve tat verme gibi özelliklerinin yanı sıra, safra salgısını artırma, kan kolesterol ve lipid seviyelerini azaltma, antimikrobiyal ve anti tümör etki gösterme gibi fonksiyonları, kardiyovasküler ve inflamatuvar hastalıklara ve kansere karşı koruyucu özellikleri olan doğal antioksidanlardır [9, 40, 41]. İnsan vücudundaki oksidatif hasara karşı koruyucu bir role sahiptirler [40]. Polifenoller; flavonoidler, fenolik asitler ve fitoöstrojenler gibi alt gruplara ayrılmaktadır [9, 14, 21, 23].

Bazı tahıl ve baklagiller üzerinde yapılan incelemelere göre 3 farklı çimlendirme süresi (1, 3 ve 5 gün) sonunda tane filizlerinin toplam fenolik madde konsantrasyonları artış göstermiştir. Sonuçlar genel anlamda değerlendirildiğinde en düşük toplam fenolik madde içeriğine sahip baklagillerin arpa ve buğday olduğu bunu maş fasulyesi<nohut<yeşil mercimeğin takip ettiği ve pseudo-tahılların (kinoa ve amarant) ise en yüksek toplam fenolik madde miktarına sahip olduğu tespit edilmiştir. Çimlenme süresi arttıkça toplam fenolik madde miktarının arttığı belirtilmiştir [6]. Çin'de yetişen buğday türlerinin çimlendirilmesiyle serbest ve bağlı fenollerin konsantrasyonunun ve buna bağlı antioksidan kapasitesinin arttığı tespit edilmiştir [30]. Pigmentli desi nohut üzerinde yapılan bir çalışmada ise 33.7°C'de, 171 saat çimlendirilen nohut filizlerinde toplam fenolik madde içeriğinin %97 oranında arttığı bildirilmektedir [23]. 30°C'de 6, 12, 24, 36 ve 48 saat çimlendirilen mumsu buğdayın serbest fenolik içeriği ilk 24 saat önemli oranda değişmezken, 36 ve 48. Saatte anlamlı düzeyde artmıştır. Bağlı fenolik kompozisyonu ise 12 ve 24. saatlerde düşerken, 36 ve 48. saatlerde anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Bağlı fenolik içeriğin en başta azalması hücre duvarlarına bağlı polifenolik bileşiklerin hidrolizine bağlanırken, fenolik biyosentez nedeniyle ferulik asit birikiminin 24. saatten sonra bağlı fenolik içerikteki artışa katkıda bulunduğu belirtilmiştir [19]. Kore'de yapılan bir çalışmada soya çeşitlerinden Pungsannamulcong ve Pungwon taneleri, 20 ve 25°C'de 5 gün boyunca karanlık bir ortamda çimlendirilmiştir. 25°C'de çimlendirilen Pungwonun toplam fenol içeriği 20°C'de çimlendirilene göre daha yüksek oranda saptanırken (sırasıyla 1.655 mg GAE ve 1.420 mg



GAE/100 g örnek) Pungsannamulkong için tam tersi bir durum gerçekleşmiştir (sırasıyla 1.211 mg GAE ve 1.468 mg GAE/100 g örnek) [42].

Çimlenme sırasında fenilalanin amonyak liyaz (PAL) enziminin oldukça aktif olduğu ve fenolik bileşiklerin biyosentezini artırdığı bilinmektedir. Buna ek olarak, tohumun solunum sistemi çimlenme süresince aktifliğini sürdürmekte ve bağlı fenolik bileşiklerin salınmasına katkıda bulunan farklı proteolitik, amilolitik ve hücre duvarı indirgeyici enzimler üretilmektedir [23]. Çimlendirme sırasında fenolik bileşiklerin kompozisyonunda meydana gelen değişimler aynı zamanda tohumun türüne, işleme koşullarına, ışık, sıcaklık ve çimlendirme süresine bağlıdır [8].

### Fenolik Asitler

Serbest ve bağlı formları bulunan fenolik asitler, hidroksibenzoik asit (gallik, *p*-hidroksibenzoik, sirinjik, vanilik, protokateşuik asit) ve hidroksisinamik asit (*p*-kumarik, ferulik, kafeik, sinapik asit) olmak üzere 2 sınıfta gruplandırılmaktadır [9, 21, 30, 41]. Serbest formdaki fenolik asitler glikoz alımını artırarak ve glikojen sentezini düzenleyerek obezite ve DM gibi hastalıklarda glikoz ve lipid plazma seviyelerini regüle etmektedirler. Bağlı formdaki fenolik asitler ise mikroorganizmalar, enzimler ve glikoz taşıyıcılarının dâhil olduğu gastrointestinal sistemde salınabilmekte ve emilebilmektedirler. Bu yüzden bağlı formdaki fenolik asitlerin, kolon sağlığında çok etkili olduğu ileri sürülmektedir [23]. Tahıllardaki önemli fenolik asitler ferulik ve *p*-kumarik asittir [41].

Farklı sürelerde (24, 48, 72, 96) çimlendirilen buğday filizleri üzerinde yapılan bir çalışmada 5 çeşit fenolik asitin (gallik, 4-hidroksibenzoik, vanilik, kafeik ve sirinjik asit) konsantrasyonu (serbest/bağlı form ve toplam) incelenmiştir. Sonuçlara bakıldığında çimlenme süresi arttıkça tüm bileşenlerin toplam miktarı artmakta olup, serbest ve bağlı formların artışlarında farklılıklar göze çarpmaktadır. Bu artış çimlenme esnasında lignin sentezinin gerçekleşmesi ile ilişkilendirilmiştir [30]. Pigmentli desi nohut filizlerinde ise çimlenme esnasında anlamlı oranda fenolik asit içeriğinde artış gözlenmiştir [23]. 5 çeşit mercimek filizi üzerinde yapılan bir çalışmada ise gallik asitin %13.67-40.41, kateşin dihidratın %38.99-58.32 ve kuersetinin ise %3.17-51.76 oranında azaldığı rapor edilmiştir [18].

Çimlenme süresince tohumların fenolik asit içeriğindeki değişim gen ekspresyon mekanizmasıyla açıklanmaktadır. Buna göre PAL enzimi fenilalanini sinamik aside katalize ederek, fenolik biyosentez yolunun ilk reaksiyonunu başlatmaktadır. Daha sonra sinamat-4-hidroksilaz (C4H) enzimi, fenoliklerin ve flavonoidlerin öncüsü olan *p*-kumarik asidin üretimini sağlamaktadır. Benzer şekilde ikincil metabolitlerin gen ekspresyon sürecinde ise ışığa maruz kalma, iklim koşulları ve biyotik stres gibi faktörler rol oynamaktadır [23].

### Flavonoidler

5000'den fazla türü olan flavonoidler; flavonlar, flavonoller, flavanoller (kateşinler, epikateşinler vb), flavonoller, izoflavonlar, antosiyanidinler, tanenler gibi alt gruplara ayrılmaktadır. Flavonoidler biyolojik ve farmakolojik aktivitelere sahiptir. Antioksidan özellikleri sayesinde LDL kolesterolün oksidasyonunu inhibe etmekte, platelet agregasyonunu ve iskemik hasarı azaltmaktadır [9, 21]. Flavonoidler tüm tahılların tohum zarında bulunmaktadır [41]. Alt sınıflarında bulunan kateşin ve luteolin gibi türleri E ve C vitamini ve  $\beta$  karoten gibi antioksidanlardan daha güçlü etkiye sahiptir [9, 21]. Ren ve ark. [43] flavonoidlerin yalnızca antioksidan özelliklerinden dolayı değil aynı zamanda hücre döngüsü regülasyonu gibi farklı etki mekanizmalarıyla da umut verici anti-kanser ajanlar olabileceğini belirtmişlerdir. Bitkilerin sekonder metabolitlerinin büyük bir kısmını oluşturan izoflavonoidler, antimikrobiyal fitoaleksinler olarak bitki savunmasında önemli bir role sahiptir. İzoflavonoidler antikanserojenik, antiöstrojenik, antioksidatif olmalarının yanı sıra kardiyovasküler hastalıklara ve osteoporozla karşı koruyucudurlar [14, 44]. Antosiyanidinlerin şekerle glikozit bağ yapması sonucu oluşan antosiyaninler (delfinidin, siyanidin, pelargonidin, malvidin, petunidin, peonidin) bitkilerde mavi, mor ve kırmızı rengini veren ve tahıllarda sıklıkla incelenen suda çözünebilir pigmentlerdir [41]. Optimal çimlendirme koşullarında (33.7°C, 171 saat) incelenen pigmentli desi nohut filizlerindeki toplam flavonoid içeriği %111 oranında artmıştır. ( $p < 0.05$ ) Wu ve ark. [44] çimlendirme sonrası nohut filizlerindeki toplam flavonoid miktarının 90 kat arttığını tespit etmişlerdir. Tohumun özellikle kabuk kısmında yoğunlaşan, koyu renkli tohumlardaki oranı daha yüksek bulunan ve antibesinsel olarak tanımlanan tanenler, tohumlardaki protein, karbonhidrat ve minerallere bağlanıp bu yapıların sindirilebilirliğini azaltmaktadır [34, 41]. Çimlendirilmiş 5 çeşit mercimek üzerinde yapılan bir çalışmada tanenlerin ortalama %58.57-66.52 oranında azaldığı gözlenmiştir [18]. Karanlık ortamda 3, 4, 5 ve 6 gün çimlendirilen mercimek (*Lens culinaris medik.*) filizlerindeki tanen içeriği %47.86-59.40 oranında azalmıştır [34]. Farklı sürelerde çimlendirilmiş 2 tür soya fasulyesinin (*Hutcheson* ve *Caviness*) izoflavon içeriğinin izlendiği bir çalışmada maksimum total izoflavon içeriğine farklı hipokotil uzunluklarında (0,05 mm-*hutcheson*, 2,5 mm-*caviness*) ulaşıldığı rapor edilmiştir. Artışların sebebinin baklagillerdeki izoflavonların prekürsörü olan naringenin chalcone ve isoliquiritigenin'lerin metabolik yollarının indüklemesi olarak düşünülmektedir. Bu aşamadan sonra toplam izoflavon miktarında düşüşler gözlenmiştir. Soya fasulyesinde genistein, deidzein ve bunların  $\beta$ -glukozit konjugatlarındaki değişimler incelendiğinde yine benzer artış ve düşüşler gözlenmiştir. Bu artış ve düşüşlerin nedeni ise diğer flavonoidlerin ve izoflavonların birbirine dönüşmesi olarak düşünülmektedir [14, 45]. 25°C'de 48 saat çimlendirilen cin darısı (*Setaria italica*) üzerinde yapılan bir çalışmada total flavonoid miktarının 28.10 mgRUE/g'dan 57.72 mgRUE/g'a yükseldiği tespit edilmiştir. Bu artışın, çimlenme sırasında tohumların biyokimyasal değişikliklerinden kaynaklanabildiği ve enzimatik

aktivasyon nedeniyle konjuge glikozitlerden flavonoidler veya salınan glikonlar gibi bazı ikincil bitki metabolitlerinin oluştuğu belirtilmiştir [46].

### Tripsin İnhibitörü

Tohumun kotiledon kısmındaki proteinde doğal olarak bulunan tripsin, antibesinsel faktörlerin içerisine giren bir proteaz inhibitörüdür [47]. Wang ve ark. [48], çimlenme esnasında tripsin inhibitörlerinin azaldığını fakat çimlenme süresi arttıkça inhibitör içeriğinin de yavaşça yükseldiğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada ise 5 günlük güvercin bezelye (*pigeon pea*), beyaz fasulye ve siyah fasulye filizlerinin tripsin inhibitör aktivitelerinin önemli oranda azaldığı rapor edilmiştir [49]. 5 çeşit çimlendirilmiş (48 saat) mercimek üzerinde yapılan çalışmada ise tripsin inhibitörünün %31.38-85.41 oranında azaldığı tespit edilmiştir [18].

### Antioksidan Kapasite

Baklagil ve tahılların sahip olduğu antioksidan özellikler tohumda bulunan çeşitli biyoaktif bileşenlerle ilişkilendirilmektedir [40]. Örneğin, baklagillerde bulunan fenolik bileşenlerin yapısındaki delfinidin, siyanidin, pelargonidin, malvidin gibi antosiyanidin pigmentlerin antioksidatif etkilere sahip olduğu bilinmektedir [20]. Antioksidanlar vazodilatasyonu kolaylaştırarak kardiyovasküler hastalıkları önlemekte etkilidirler [50].

Yapılan bir çalışmada farklı koşullarda (2, 4 ve 6 gün-20°C- %99 bağıl nem-aydınlık ve karanlık ortam) çimlendirilen bezelye (*Pisum sativum L., variety Elsa*), fasulye (*Phaseolus vulgaris L. variety La Granja*) ve mercimeğin (*Lens culinaris L., var. Castellana*) antioksidan kapasiteleri değerlendirilmiştir [40]. Sonuçlara bakıldığında fasulyenin karanlık ortamda 6. günde, bezelyenin ise ışık varlığında 4. günde maksimum antioksidan kapasiteye ulaştığı gözlenirken, çimlenmenin mercimeğin antioksidan kapasitesi üzerinde negatif bir etki yarattığı tespit edilmiştir. Baklagiller fenoliklerin yanı sıra tohumların antioksidan kapasitesini etkileyen vitamin ve karotenoid gibi diğer biyoaktif bileşenleri de farklı konsantrasyonlarda içermektedirler. Bu bileşenlerin kendi aralarında ve fenoliklerle olan sinerjik etkileşiminin antioksidan kapasitedeki farklılıklara sebep olabileceği düşünülmektedir [30]. Farklı koşullarda çimlendirilen (30 ve 40°C-5 gün) nohut (*Cicer arietinum*), kırmızı mercimek (*Lens culinaris*), maş fasulyesi (*Vigna radiata*), barbunya (*Phaseolus vulgaris var. humilis*) ve soya fasulyesi (*Glycine max.*) üzerinde yapılan bir çalışmada tanelerin antioksidan kapasitelerinin sırasıyla %13.4-17.6, %13-14.3, %20.4-31.8, %25.4-32.2 ve %26.6-36 aralıklarında olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, çimlenme sırasında hidrolazların ve polifenol oksidazların diferansiyel aktivitesi ve salınımı kontrol eden tohum matrislerindeki farklılıklarla ilişkilendirilmiştir [51]. Filizlendirilmiş arpa üzerinde yapılan bir çalışmada araştırmacılar çimlenme süresinin arttıkça buğdayın antioksidan kapasitesinin arttığını belirtmiştir. Bu antioksidan potansiyeldeki artış, çimlenme işlemi sırasında fenolik bileşiklerin hücre duvarı bileşenlerinden salınmasına, hidrojen veya elektron

donörü olarak işlev görebilen bileşiklere atfedilmiştir. Fakat bulgular arpadaki C vitamini gibi diğer antioksidan bileşiklerin de bu yüksek antioksidan kapasite üzerinde etkili olduğunu göstermiştir [52]. Kim ve arkadaşları [30], 25°C'de 96 saat çimlendirdikleri buğdayın antioksidan kapasitesinin çimlendirme süresi ile doğru orantılı olduğunu belirtmiştir. 96 saat sonunda serbest ve bağlı ORAC değerleri kontrol grubuna (serbest ORAC: 4.34 µM TE/g dwb, bağlı ORAC: 58.84 µM TE/g dwb) kıyasla sırasıyla 4.11 ve 1.81 kat artmıştır. Çalışmada çimlenme prosesi devam ettikçe 4-hidroksibenzoik, kafeik ve sirinjik asidin fark edilir düzeyde artması bu bileşiklerin serbest fenolik bileşenlere bağlı antioksidan kapasiteye katkı sağladığı düşünülmektedir. Aynı zamanda serbest radikallerin temizlenmesine yardımcı olan serbest modifiye aminoasit olan GABA'nın bu antioksidan potansiyelde artış sağladığı belirtilmektedir.

### ÇİMLENMENİN DUYUSAL ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ

Çimlenmenin tahılların ve baklagillerin biyokimyasal ve besleyici özelliklerinde neden olduğu değişimlerin yanında, duyuşsal özelliklerde yarattığı farklılıklar da çimlenmiş tahıl ve baklagillerin değişik ürün formülasyonlarında bileşen olarak kullanılmalarını sağlamaktadır. Çimlenmiş tohumların eklendikleri gıda ürünlerinin duyuşsal karakteristiklerini geliştirmeleri, onları yaygın olarak kabul gören bir gıda bileşeni haline getirmiştir. Literatürde bu amaçla yapılan bir çalışmada, çimlendirilmiş baklagil çeşitlerinin eklenmesiyle birlikte sağlıklı tahıl gevrekleri hazırlanmıştır [53]. Kahvaltılık tahıl gevreklerinin renk parametresi, ürünün duyuşsal değerlendirmesi ve tüketici memnuniyeti açısından oldukça önemlidir. Araştırmacıların sonuçları, filizlenmiş mercimek ile yapılan tahıl gevreklerinin renginin, panelistler tarafından en yüksek puanla değerlendirildiğini göstermiştir. Ayrıca çimlenmiş yeşil ve siyah fasulyelerden yapılan tahıl gevreklerinin koku açısından panelistler tarafından yüksek puan aldığı da rapor edilmiştir. Sattar ve ark. [54] yapmış oldukları bir diğer çalışmada ise, filizlenmiş mercimek, yeşil ve siyah fasulyelerin farklı konsantrasyonlarda (%5, 15 ve 25) piriçli pudinglere eklenmesi sonucunda elde edilen ürünlerin işlevsel, depolama ve duyuşsal özellikleri değerlendirilmiştir. Sonuçta, pudinglere % 25 oranında baklagil eklenmesinin (filizlenmiş ve filizlenmemiş), bu örneklerin renk, tat ve genel kabul edilebilirlik açısından önemli ölçüde yüksek puan almasına (daha az hoş giden) neden olduğu, bunun da baklagillerin yüksek seviyelerinin (%25) kabul edilebilir olmadığı anlamına geldiği vurgulanmıştır. Nijerya'ya özgü geleneksel bir tahıl gıdası olan furanın duyuşsal özellikleri üzerine çimlendirme ve doğal fermentasyonun etkilerinin incelendiği bir araştırmada, çimlenmiş, fermente edilmiş ve çimlendirilmiş ve fermente edilmiş örnekler tat, renk, tekstür ve genel kabul edilebilirlik açısından duyuşsal analize tabi tutulmuşlardır [55]. Yapılan duyuşsal testler sonucunda, panelistlerin çimlenmiş tahıllardan elde edilen fura örneklerini, incelenen tüm duyuşsal parametreler için yüksek puanlarla (en çok hoş giden) değerlendirdikleri rapor edilmiştir. Torres ve ark. [56], bezelye tohumlarını, tohumların besin kalitesini artırmak amacıyla 20°C'de, 4 gün süresince çimlendirmişlerdir.

Bu tohumlardan elde edilen unlar, makarna ürünleri üretmek için %5, 8 ve 10 oranlarında bileşen olarak kullanılmıştır. Çimlenmiş tohumlardan elde edilen unlar eklenmiş makarna ürünleri, pişme süresi, su tutma kapasitesi ve suda protein kaybı gibi özelliklerinin değerlendirilmesinin yanı sıra duyuşsal özellikler açısından da incelenmişlerdir. Pişirilmiş makarna ürünlerinin genel kabul edilebilirlik skorlarının elde edilmesi sonucunda, ilave edilen unların, makarna ürünlerinin genel kabul edilebilirliği üzerinde önemli bir etki yaratmadıkları ifade edilmiştir. Araştırmacılar, pişmiş makarna ürünlerinin rengi, kıvamı ve dokusu gibi parametrelerin değerlendirildiği hedonik test sonucunda, kontrol ve takviye unların eklendiği makarna örnekleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını belirtmişlerdir.

## SONUÇ

Tüm dünyada yaygın olarak tüketilen tahıl ve baklagillerin uygun koşullarda çimlendirilmesi sonucu sıcaklık, pH, ışık, süre ve çimlendirme öncesi uygulanan işlemlerin yanı sıra tanenin yapısı ve türüne bağlı olarak birtakım biyokimyasal ve fiziksel değişiklikler (renk, koku, tat ve yapısal değişimler) meydana gelmektedir. Nişasta rezervleri  $\alpha$ -amilazın etkisiyle basit şekerlere, oligosakkaritlere ve polisakkaritlere, azot içeren fraksiyonlar proteolitik enzimler vasıtasıyla oligopeptidlere ve aminoasitlere, triaçilgliseroller ise lipaz enziminin etkisiyle yağ asitlerine hidrolize olmaktadır. Antibesinsel faktörlerin (fitat, tripsin inhibitörü, tanin vb) miktarı azalırken insan sağlığı üzerinde çok sayıda faydası bulunan biyoaktif bileşenlerin (fenolik asitler, flavonoidler, GABA vb) miktarı ise önemli ölçüde artmaktadır. Biyoaktif bileşenlerdeki artışa bağlı olarak tanelerin antioksidan kapasitesi artmaktadır. Bu da tahıl ve baklagil filizlerine fonksiyonellik özelliği katmaktadır. Çimlendirme sonrası tanelerdeki fitokimyasalların konsantrasyonlarını korumak ve daha fazla artırmak amacıyla biyotik (canlı ögeler) ve abiyotik (ışık, iklim, sıcaklık, su, pH, toprak ve mineraller) etmenlerin, hasat öncesi ve sonrası uygulanan işlemlerin modülasyonu sağlanmalıdır. Türkiye’de henüz filiz tüketiminin yaygınlaşmaması ve toplumun tahıl ve baklagil filizlerinin sağlık üzerine etkilerine dair yeterli bilgiye sahip olmaması, bu tür fonksiyonel ürünlerin günlük diyetinde nasıl tüketilmesi gerektiğine dair daha fazla araştırma yapılmasını gerektirmektedir. Filizlenmiş ürünlerin elde edilmesi ve özelliklerinin karakterize edilmesi, hem tüketiciler hem de üreticiler için katma değerli gıdaların tüketimini ve üretimini teşvik eden yararlı bilgiler sağlayacaktır. Taze tüketimlerinin insan sağlığı açısından olumlu etkilerinin (düşük kalori değeri, yüksek biyolojik aktivite, gelişmiş sindirilebilirlik) yanında, bazı işlenmiş gıdalarda doğal bir katkı maddesi olarak kullanılabilme imkânlarının geliştirilebilmesi, ülkemizde filizlenmiş ürünlerin tüketimi için iyi bir fırsat oluşturacaktır.

## KAYNAKLAR

[1] Yetim, H., Öztürk, İ., Törnük, F., Sağdıç, O., Hayta, M. (2009). Yenilebilir bitki ve tohum filizlerinin fonksiyonel özellikleri. *Gıda*, 35(3), 205-210.

- [2] WHO. Cardiovascular diseases (CVDs). Erişim adresi: WHO: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) (Erişim tarihi: 10.03.2020)
- [3] WHO. Cancer. Erişim adresi: WHO: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (Erişim tarihi: 10.03.2020)
- [4] WHO. Diabetes. Erişim adresi: WHO: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> (Erişim tarihi: 10.03.2020)
- [5] WHO. Obesity and Overweight. Erişim adresi: WHO: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (Erişim tarihi: 10.03.2020)
- [6] Kılınçer, F.N., Demir, M.K. (2019). Çimlendirilmiş bazı tahıl ve baklagillerin fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Gıda*, 3, 419-429.
- [7] Tarzi, B.G., Gharachorloo, M., Baharinia, M., Mortazavi, S.A. (2012). The effect of germination on phenolic content and antioxidant activity of chickpea. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11(4), 1137-1143.
- [8] Lopez-Martinez, L.X., Leyva-Lopez, N., Gutierrez-Grijalva, E.P., Heredia, J.B. (2017). Effect of cooking and germination on bioactive compounds in pulses and their health benefits. *Journal of Functional Foods*, 38, 624-634.
- [9] Uyar, B., Sürücüoğlu, M.S. (2010). Besinlerdeki biyolojik aktif bileşenler. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 1-2(38), 69-76.
- [10] Benincasa, P., Falcinelli, B., Lutts, S., Galieni, A. (2019). Sprouted grains: A comprehensive review. *Nutrient*, 2(11), 421.
- [11] Baysal, A. (2012). Beslenme. Hatiboğlu yayınları, Ankara.
- [12] Charoenthaikij, P., Jangchud, K., Jangchud, A., Prinyawiwatkul, W., No, H.K. (2012). Composite wheat-germinated brown rice flours: selected physicochemical properties and bread application. *International Journal of Food Science Technology*, 47, 75-82.
- [13] Xu, L., Wang, P., Ali, B., Yang, N., Chen, Y., Wu, F., Xu, X. (2017). Changes of the phenolic compounds and antioxidant activities in germinated adlay seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(12), 4227-4234.
- [14] Donkor, O.N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., Vasiljevik, T. (2012). Germinated grains – sources of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 135(3), 950-959.
- [15] Agu, R.C., Chiba, Y., Goodfellow, V., Mackinlay, J., Brosnan, J.M., Bringham, T. A., Jack, F.R., Bryce, J.H. (2012). Effect of germination temperatures on proteolysis of the gluten-free grains rice and buckwheat during malting and mashing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(40), 10147-10154.
- [16] Chiba, Y., Bryce, J. H., Goodfellow, V., Mackinlay, J., Agu, R. C., Brosnan, J. M., Bringham, T.A., Harrison, B. (2012). Effect of germination temperatures on proteolysis of the gluten-free grains sorghum and millet during malting and mashing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(14), 3745-3753.

- [17] Scofield, G.N., Aoki, N., Hirose, T., Takano, M., Jenkins, C.L., Furbank, R. T. (2007). The role of the sucrose transporter, OsSUT1, in germination and early seedling growth and development of rice plants. *Journal of Experimental Botany*, 58(3), 483-495.
- [18] Pal, R.S., Bhartiya, A., Yadav, P., Kant, L., Mishra, K.K., Aditya, J.P. (2016). Effect of dehulling, germination and cooking on nutrients, anti-nutrients, fatty acid composition and antioxidant properties in lentil (*Lens culinaris*). *Journal of Food Science and Technology*, 4(54), 909-920.
- [19] Hung, P.V., Maeda, T., Yamamoto, S., Morita, N. (2012). Effects of germination on nutritional composition of waxy wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(3), 667-672.
- [20] Lin, P.L., Lai, H.M. (2006). Bioactive compounds in legumes and their germinated products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 3807-3814.
- [21] Güzel Seydim, Z.B. (2016). Fonksiyonel Beslenme. Sidas Medya, İzmir.
- [22] Van Hung, P., Maeda, T., & Morita, N. (2015). Improvement of nutritional composition and antioxidant capacity of high-amylose wheat during germination. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6756-6762.
- [23] Domínguez-Arispuro, D.M., Cuevas-Rodríguez, E.O., Milán-Carrillo, J., León-López, L., Gutiérrez-Dorado, R., Reyes-Moreno, C. (2017). Optimal germination condition impacts on the antioxidant activity and phenolic acids profile in pigmented desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Journal of Food Science and Technology*, 2(55), 638-647.
- [24] Martin-Cabrejas, M.A., Ariza, N., Esteban, R., Molla, E., Waldron, K., Lopez-Andreu, F.J. (2003). Effect of germination on the carbohydrate composition of the dietary fiber of peas (*Pisum sativum* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 1254-1259.
- [25] Singkhornart, S., Ryu, G.H. (2011). Effect of soaking time and steeping temperature on biochemical properties and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) content of germinated wheat and barley. *Journal Food Science Nutrition*, 16, 67-73.
- [26] Gómez-Favela, M.A., Gutiérrez-Dorado, R., Cuevas-Rodríguez, E.O., Canizalez-Román, V.A., del Rosario León-Sicairos, C., Milán-Carrillo, J., Reyes-Moreno, C. (2017). Improvement of chia seeds with antioxidant activity, GABA, essential amino acids, and dietary fiber by controlled germination bioprocess. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72(4), 345-352.
- [27] Kavas, A., El, S. (1991). Nutritive value of germinated mung beans and lentils. *Journal of Consumer Studies and Home Economics*, 4 (15), 357-366.
- [28] Bibi, N., Aurang, Z., Amal, B., Mohammad, S. (2008). Effect of germination time and type of illumination on proximate composition of chickpea seed (*Cicer arietinum* L.). *American Journal of Food Technology*, 1(3), 24-32.
- [29] Kaukovirta-Norja, A., Wilhelmson, A., & Poutanen, K. (2004). Germination: a means to improve the functionality of oat. *Agricultural and Food Science*, 13(1-2), 100-112.
- [30] Kim, M.J., Kwak, H.S., Kim, S.S. (2018). Effects of germination on protein,  $\gamma$ -aminobutyric acid, phenolic acids, and antioxidant capacity in wheat. *Molecules*, 9(23), 2244-2257.
- [31] Tiansawang, K., Luangpituksa, P., Varanyanond, W., Hansawasdi, C. (2016). GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid) production, antioxidant activity in some germinated dietary seeds and the effect of cooking on their GABA content. *Food Science and Technology*, 36(2), 313-321.
- [32] Öztürk, İ., Sağdıç, O., Hayta, M., Yetim, H. (2012). Alteration in  $\alpha$ -tocopherol, some Minerals, and fatty acid contents of wheat through sprouting. *Chemistry of Natural Compounds*, 47, 770-772.
- [33] Márton, M., Mándoki, Z. S., Csapo, J. (2010). Evaluation of biological value of sprouts-I. Fat content, fatty acid composition. *Acta Univ Sapientiae Aliment*, 3, 53-65.
- [34] Fouad, A.A., Rehab, F.A. (2015). Effect of germination time on proximate analysis, bioactive compounds and antioxidant activity of lentil (*Lens Culinaris* Medik.) sprouts. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 14(3), 233-246.
- [35] Kim, H. Y., Hwang, I. G., Kim, T. M., Woo, K. S., Park, D. S., Kim, J. H., Jeong, H. S. (2012). Chemical and functional components in different parts of rough rice (*Oryza sativa* L.) before and after germination. *Food Chemistry*, 134(1), 288-293.
- [36] Şat, İ.G., Keleş, F. (2004). Fitik asit ve beslenmeye etkisi. *Gıda*, 6(29), 405-409.
- [37] Cornejo, F., Caceres, J.P., Martinez-Villaluenga, C., Rosell, M.R., Frias, J. (2014). Effect of germination on nutritive value and bioactive compounds of brown rice breads. *Food Chemistry*, 173, 298-304.
- [38] Kumar, V., Sinha, A.K., Makkar, H.P., Becker, K. (2009). Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry*, 120, 945-959.
- [39] Sung, H., Shin, H., Ha, J., Lai, H., Cheng, K., Lee, J. (2005). Effect of germination temperature on characteristics of phytase production from barley. *Bioresource Technology*, 96, 1297-1303.
- [40] Lopez-Amoroz, M.L., Hernandez, T., Estrella, I. (2004). Effect of germination on legume phenolic compounds and their antioxidant capacity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(4), 277-283.
- [41] Dykes, L., Rooney, L.W. (2007). Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Foods World*, 52(3), 105-111.
- [42] Koo, S.C., Kim, S.G., Bae, D.W., Kim, H.Y., Kim, H.T., Lee, Y.H., Kang, B.K., Baek, S.B., Baek, I.Y., Yun, H.T., Choi, M.S. (2015). Biochemical and proteomic analysis of soybean sprouts at different germination temperatures. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 58(3), 397-407.
- [43] Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L. (2003). Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal Research Reviews*, 23, 519-534.

- [44] Wu, Z., Song, L., Feng, S., Liu, Y., He, G., Yioe, Y. (2012). Germination dramatically increases isoflavonoid content and diversity in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 60, 8606-8615.
- [45] Zhu, D., Hettiarachchy, N., Horax, R., Chen, P. (2005). Isoflavone contents in germinated soybean seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60, 147-151.
- [46] Sharma, S., Saxena, D.C., Riar, C.S. (2018). Changes in the GABA and polyphenols contents of foxtail millet on germination and their relationship with in vitro antioxidant activity. *Food Chemistry*, 245, 863-870.
- [47] Pekşen, E., Artık, C. (2005). Antibesinsel maddeler ve yemeklik tane baklagillerin besleyici değerleri. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(20), 110-120.
- [48] Wang, N., Lewis, M., Brennan, J., Westby, A. (1997). Effect of processing methods on nutrients and antinutritional factors in cowpea. *Food Chemistry*, 58, 59-68.
- [49] Sangronis, E., Machado, C. (2007). Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. *Journal of Food Science and Agriculture Technology*, 1(40), 116-120.
- [50] Huang, X., Cai, W., Xu, B. (2013). Kinetic changes on nutrients and antioxidant capacities of germinated soybean (*Glycine max* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.) with germination time. *Food Chemistry*, 143, 268-276.
- [51] Mamilla, R.K., Mishra, V.K. (2015). Effect of germination on antioxidant and ACE inhibitory activities of legumes. *Food Science and Technology*, 75, 51-58.
- [52] Rico, D., Peñas, E., García, M.D.C., Martínez-Villaluenga, C., Rai, D.K., Birsan, R.I., Frias, J., Martín-Diana, A.B. (2020). Sprouted barley flour as a nutritious and functional ingredient. *Foods*, 9(3), 296.
- [53] Sattar, D.E.S., Fauqiha, A.T., Mohamed, M., Ali, T.M., Hasnain, A. (2021). Comparative study on effects of adding germinated and non-germinated legumes on bioactive components, antioxidant, textural and sensory characteristics of cereal flakes. *Legume Science*, 3(1), e68.
- [54] Sattar, D.E.S., Ali, T.M., Hasnain, A. (2017). Effect of nongerminated and germinated legumes on antioxidant, functional, and sensory characteristics of rice puddings. *Cereal Chemistry*, 94(3), 417-423.
- [55] Inyang, C.U., Zakari, U.M. (2008). Effect of germination and fermentation of pearl millet on proximate, chemical and sensory properties of instant "Fura"-a Nigerian cereal food. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(1), 9-12.
- [56] Torres, A., Frias, J., Granito, M., Vidal-Valverde, C. (2007). Germinated *Cajanus cajan* seeds as ingredients in pasta products: Chemical, biological and sensory evaluation. *Food Chemistry*, 101(1), 202-211.
-

## Probiyotiklerin Meyve ve Sebze Bazlı İçeceklerde Kullanımı

İlkin Yücel Şengün  ✉, Yunus Yahşi 

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

Geliş Tarihi (Received): 21.07.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 26.05.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [ilkin.sengun@ege.edu.tr](mailto:ilkin.sengun@ege.edu.tr) (İ. Yücel Şengün)

☎ 0 232 311 30 28 📠 0 232 311 48 31

### ÖZ

Günümüzde bilimsel ve teknolojik alanlarda meydana gelen gelişmeler sayesinde tüketicilerin gıda tercihleri besleyici, sağlıklı ve hastalıkları önlemede etkili olan fonksiyonel gıdalara yönelmiştir. Fonksiyonel gıdaların büyük kısmını süt bazlı probiyotik ürünler oluşturmaktadır. Bununla birlikte, vejetaryen, süt proteinlerine alerjisi olan ve laktoz intoleransına sahip kişilerin laktoz içermeyen, besin değeri yüksek ve kolesterol oranı düşük ürünlere yönelik talepleri artmış ve bu nedenle probiyotik gelişimini destekleyen yeni gıda matrisleri güncel araştırma konusu haline gelmiştir. Bu kapsamda meyve ve sebzeler, inülin, galaktooligosakkarit ve fruktooligosakkarit gibi probiyotik gelişimini destekleyen prebiyotiklerin yanı sıra vitamin, mineral ve fenolik bileşikler gibi sağlığa faydalı bileşenler açısından zengin olmaları sebebiyle alternatif gıda matrisleri arasında yer almaktadırlar. Probiyotik taşıyıcıları olarak meyve ve sebzelerin kullanılması ile fonksiyonel özellikleri artırılmış daha sağlıklı ürünler elde edilebilmektedir. Farklı tekniklerle üretilen meyve ve sebze bazlı probiyotik içeceklerin geliştirilmesi amacıyla hammadde olarak sıklıkla elma, portakal, ananas, havuç ve pancar, probiyotik kültür olarak ise genellikle *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *Leuconostoc mesenteroides* ve *Bifidobacterium lactis* kullanılmaktadır. Bununla birlikte, probiyotiklerin çeşitli hammaddelerde canlılığını sürdürdürebilmesi; kullanılan probiyotik suş ve doz, ortamın pH değeri, antimikrobiyel bileşiklerin varlığı, kullanılan katkı maddeleri, oksijen düzeyi ve uygulanan teknolojik işlemler gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Probiyotik canlılığının korunması amacıyla en sık kullanılan teknikler arasında mikroenkapsülasyon, immobilizasyon ve prebiyotik kullanımı yer almaktadır. Bu çalışmada, probiyotik meyve ve sebze bazlı içeceklerin geliştirildiği güncel çalışmalar derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Probiyotik, Meyve, Sebze, İçecek

### Use of Probiotics in Fruit and Vegetable-Based Drinks

#### ABSTRACT

Nowadays, consumers' food preferences are tending towards functional foods that are nutritious, healthy and effective in preventing diseases, thanks to advances in scientific and technological fields. Dairy-based probiotic foods constitute the majority of functional foods; however consumers who are vegetarian, allergic to milk protein and lactose intolerance have increased the demand for lactose-free, high-nutritional and low-cholesterol products. Therefore, new food matrices that support the probiotic growth have become a current research subject. In this context, fruits and vegetables are among alternative food matrices due to their rich in health beneficial components such as vitamins, minerals and phenolic compounds, as well as prebiotics, which promote the growth of probiotics, such as inulin, galactooligosaccharides and fructooligosaccharides. By using fruits and vegetables as probiotic carriers, healthier products with improved functional properties can be obtained. In order to develop fruit and vegetable-based probiotic beverages by different techniques, apple, orange, pineapple, carrot and beetroot are often used as raw materials while *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *Leuconostoc mesenteroides* and *Bifidobacterium lactis* are generally used as probiotic cultures. On the other hand, the growth and survival of probiotics in various raw materials may vary depending on factors such as probiotic strains and doses, pH of the

medium, antimicrobial compounds, additives, oxygen level and technological processes used. Among the most frequently used techniques, microencapsulation, immobilization and prebiotics addition in order to protect the viability of probiotic. In this study, recent studies on the development of probiotic fruit and vegetable-based beverages were reviewed.

**Keywords:** Probiotic, Fruit, Vegetable, Beverage

## GİRİŞ

Son yıllarda bilgi ve teknoloji alanındaki ilerlemeler sayesinde insanların yaşam standartlarında, özellikle beslenme ve sağlık alanında, devrim niteliğinde değişimler meydana gelmiştir. Gıda endüstrisi, araştırmacılar ve düzenleyici otoriteler tarafından, insanların sağlıklıyla ilgili endişelerinin artması ve sentetik ilaçlara bağımlılıktan kaçınma istekleri doğrultusunda beslenme kavramı hızla geliştirilmektedir [1].

Bilimsel alanda yapılan güncel çalışmalar, gıdalarda bulunan biyoaktif bileşenlerin sağlık üzerine yararlı etkilere sahip olduğunu, ayrıca obezite, kanser, osteoporoz, kronik ve kardiyovasküler hastalıkların riskini azaltmada etkili olabileceğini ortaya koymuştur [2, 3]. Gıdalarda bulunan sağlık üzerine yararlı bileşenler arasında probiyotikler, prebiyotikler, amino asitler, peptitler, proteinler, omega-3, vitaminler, mineraller, lifler, karbonhidratlar, karotenoidler ve antioksidanlar yer almakta ve bu bileşenler çoğunlukla gıda takviyeleri veya fonksiyonel gıdalar şeklinde tüketicilere sunulmaktadır [4]. 1980'li yıllardan itibaren kullanılmaya başlanan fonksiyonel gıda terimi, insan vücudunda fizyolojik faydaları bulunan ve kronik hastalık riskini azaltma gibi temel beslenme işlevlerinin ötesinde etkilere sahip olan, normal diyetin parçası olarak tüketilen ürünlerdir [5]. Fonksiyonel özellik gıda bileşiminde doğal olarak bulunabileceği gibi fonksiyonel bileşenlerin ilavesi, gıda bileşiminde bulunan çeşitli bileşenlerin çıkartılması veya değişikliğe uğratılması sonucunda da elde edilebilmektedir [6]. Bu tip fonksiyonel gıdalara örnek olarak glüten içermeyen, yüksek protein ile zenginleştirilmiş, probiyotik ve prebiyotik ile desteklenmiş, tuz veya yağ oranı azaltılmış gıdalar verilebilmektedir [7-9]. Günümüzde tüketicilerin gıda tercihleri geniş sağlık yararlarına sahip, besleyici, sağlıklı ve hastalıkları önlemede etkili olan fonksiyonel gıdalara yönelmiştir [10].

Fonksiyonel gıda piyasasının yaklaşık %60-70 gibi önemli bir parçasını probiyotikler oluşturmaktadır [11]. Probiyotik gıdaların 2017 yılındaki küresel piyasa değeri 42.55 milyar ABD doları seviyesindeyken, tüketiciler tarafından artan talep doğrultusunda 2024 yılına kadar bu piyasa değerinin 94.48 milyar ABD dolarına ulaşabileceği tahmin edilmektedir [12]. Tahıl, baklagiller, meyve ve sebze içeceklerinin de yer aldığı fonksiyonel içecek piyasası ise 2002 ve 2007 yılları arasında özellikle ABD'de %14 gibi bir yıllık büyüme oranı sergileyerek en hızlı büyüyen sektörler arasında yer almaktadır [13]. Bu tip içeceklerin 2019'daki küresel piyasa değeri 13.65 milyar ABD doları seviyesindeyken, 2020 yılından 2027'ye kadar %6.1'lik bileşik yıllık büyüme oranında (CAGR) genişlemesi beklenmektedir [14].

Probiyotikler, yeterli miktarda tüketilmeleri durumunda konakçı üzerinde olumlu sağlık yararları sağlayan canlı mikroorganizmalar olup, insan ve hayvan gastrointestinal sisteminde, anne sütünde ve fermente ürünlerde doğal olarak bulunabilmektedir [15-17]. Süt ürünleri probiyotiklerin gelişimi için uygun gıda matrisleri olarak bilinmektedir. Yoğurt, kefir, kıymız, yakult gibi süt bazlı probiyotik ürünler dünya genelinde üretilmekte ve probiyotik gıdaların büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Bununla birlikte, günümüzde vejetaryen diyetle beslenen, laktoz intoleransına sahip (Asya'da yaklaşık %70) veya süt proteinlerine alerjisi olan çok sayıda birey bulunması nedeniyle meyve ve sebze matrisleri, hayvansal kaynaklı olmayan probiyotik ürünlerin geliştirilmesi amacıyla kullanılmaya başlanmış ve bu ürün grubuna yönelik artan tüketici talepleri doğrultusunda yeni bir pazar oluşmuştur [18-21].

Yapılan birçok çalışmada meyve ve sebzelerin yeni potansiyel probiyotik taşıyıcıları ve probiyotik mikroorganizma kaynakları olabilecekleri bildirilmektedir. Bu derlemede, probiyotiklerin meyve ve sebze bazlı içeceklerde kullanımına yönelik yapılan çeşitli çalışmalar değerlendirilmiştir.

## PROBİYOTİKLER ve PROBİYOTİK GIDALAR

Günümüzde kullanılan probiyotik tanımı yıllar içerisinde gelişerek "yeterli miktarda tüketilmeleri durumunda konakçı üzerinde olumlu sağlık yararları sağlayan canlı mikroorganizmalar" şeklinde son halini almıştır. Bu tanım, probiyotiklerin canlı, mikrobiyel ve sağlığa yararlı üç temel anlamını ifade etmektedir [22, 23]. Probiyotik olarak *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus* cinslerine ait laktik asit bakterileri (LAB) ve *Saccharomyces* spp. gibi mayalar sıklıkla kullanılmakta ve genellikle güvenli olarak (GRAS) kabul edilmektedirler [22, 24]. Probiyotik kaynakları arasında insan ve hayvanların gastrointestinal sistemi, anne sütü, geleneksel fermente süt veya bitkisel gıdalar bulunmaktadır [16, 17, 22]. Bu mikroorganizmaların sağlık yararları arasında antikarsinogenik, antidiyabetik, antihipertansif, antimikrobiyel, antimutajenik, antiobesite, antiinflamatuvar, antioksidatif, konağın metabolizma ve beyin fonksiyonlarını düzenleme gibi etkileri yer almaktadır [25-27]. Ayrıca probiyotiklerin, solunum sistemi ve bağışıklık sisteminin desteklenmesi ve ülseratif kolit, akut diyare, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu tedavilerinde olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir [28]. Bununla birlikte, sağlık üzerine olumlu etkiler gösterebilmesi için probiyotiklerin tüketilen üründe minimum 10<sup>6</sup> KOB/mL veya KOB/g seviyesinde bulunması gerekmektedir [29].

Tüketicilerin probiyotik gıdalara yönelik artan talepleri doğrultusunda son birkaç yılda 500'den fazla probiyotik gıda piyasaya sunulmuştur [30]. Tüketici tercihinin göre farklı hammadde, formülasyon ve formda bulunabilen probiyotik gıdalar; probiyotik süt ürünleri (yoğurt, peynir, yakult, kımız, dondurma, kefir vb.) ve süt kaynaklı olmayan (et ve et ürünleri, tahıl, meyve ve sebze bazlı ürünler vb.) probiyotik gıdalar şeklinde sınıflandırılmaktadır [31, 32]. Süt ve süt ürünleri probiyotik gelişimi açısından uygun gıda matrisleri olarak bilinse de, yüksek kolesterol, alerjiye sebebiyet veren süt proteinleri ile birlikte laktoz intolerans veya vejetaryen beslenme gibi çeşitli sınırlayıcı faktörleri içermektedir. Bu nedenle son yıllarda süt ürünü olmayan farklı gıda matrislerinin araştırılması ve bu yönde yeni ürünlerin geliştirilmesi hız kazanmıştır [10,18-21,33]. Bu kapsamda, meyve ve sebzelerin sağlığa faydalı ve probiyotik gelişimini destekleyici çeşitli bileşenler içermeleri sebebiyle süt kaynaklı probiyotik gıdalara alternatif olabilecekleri bildirilmiştir.

## MEYVE ve SEBZE BAZLI PROBİYOTİK İÇECEKLER

“İçecek” terimi, yapılan bir işten sonra dinlenme olarak tanımlanan Latince “bever” kelimesinden gelmektedir. İçecekler; ferahlatıcı, güçlendirici, besleyici ve susuzluğu giderme gibi özelliklere sahip olan gıda ürünleridir [34]. Bu açıdan meyve ve sebze bazlı probiyotik içecekler, vegan ve düşük kolesterol içeriğine sahip olmalarının yanında süt alerjisi içermemelerinden dolayı tüketiciler tarafından büyük talep görmektedir [21]. Bu durum, probiyotik içeceklerin üretiminde kullanılan meyve ve sebze matrislerinin avantaj ve dezavantajlarının daha fazla araştırılmasına yol açmıştır [35].

Meyve ve sebzelerin yapısında genel olarak proteinler, vitaminler, mineraller, flavonoidler, fitoöstrojenler, kükürt bileşikler, monoterpenler ve biyoaktif peptitler gibi çeşitli bileşikler bulunmaktadır. Meyve ve sebzeler önemli lif kaynakları olmalarının yanı sıra potasyum ve vitamin (özellikle C ve K vitamini) açısından da zengin kaynaklardır. Ayrıca bu gıda grubu, yüksek miktarda inülin, galaktooligosakkarit (GOS) ve fruktooligosakkarit (FOS) gibi probiyotik gelişimini destekleyen çeşitli prebiyotikler de içermelerinden dolayı üretim, depolama ve tüketim gibi birçok aşamada avantajlıdır [20, 21, 36, 37]. Ancak, birçok meyve ve sebzelerin içerdiği yüksek asitlik ile birlikte tanenler gibi acılığa veya burukluğa neden olabilecek bileşenler, ürünlerin duyu kalitesini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Fermantasyon sayesinde bazı organik asitler ve fenolik bileşenler biyolojik olarak dönüştürülerek ürünün duyu kalitesi geliştirilebilmektedir. Ayrıca fermantasyon sırasında probiyotikler tarafından üretilen çeşitli metabolitler insan sağlığına olumlu etkiler oluşturabilmekte, dolayısıyla ürünün besin değerinin yanı sıra sağlık üzerine etkisini de artırılabilmektedir [38].

Sıvı formda bulunan gıdaların sindirim sistemini nispeten daha hızlı tamamlamaları, probiyotiklerin mide asitliği gibi zorlu ortam koşullarından daha az etkilenmesini sağlamakta ve bu durum meyve ve sebze bazlı probiyotik içeceklere olan ilgiyi arttırmaktadır [35, 39]. Bu tip içeceklerin geliştirilmesi amacıyla sıklıkla elma, portakal, ananas, yaban mersini, mango, üzüm, havuç, domates, lahana ve pancar gibi çeşitli hammaddeler kullanılmaktadır. Tablo 1’de ticari olarak üretilen çeşitli probiyotik içeceklere yer verilmiştir [21, 40, 41].

Tablo 1. Ticari olarak üretilen çeşitli meyve ve sebze bazlı probiyotik içecekler

**Table 1. Various commercially produced fruit and vegetable-based probiotic beverages**

Ürün İçeriği	Probiyotik Suş	Marka	Üretici / Ülke
Portakal	<i>L. reuteri</i>	“R”	Ingman/İsveç
Portakal ve Mango	<i>L. rhamnosus</i> GG	Biola	Tine BA/Norveç
Şeftali ve Muz	<i>B. lactis</i>	It’s Alive	Birleşik Krallık
Ananas, Havuç, β-karoten ve Balsiyum	<i>L. rhamnosus</i> GG	Gefilus/Gfilac	Valio, İsveç/Finlandiya
Ahududu, Siyah Frenk Üzümü ve Üzüm	<i>L. plantarum</i> 299v	SHOT	Skanemejerier/İsveç
Portakal, Şeftali, Prebiyotik ve C vitamini	<i>L. rhamnosus</i> GG	Gefilus/Gfilac	Valio, İsveç/Finlandiya
Havuç, Zencefil ve Şeker Kamışı	<i>L. plantarum</i> 299v	GoodBelly	ABD
Zencefil, Frenk Üzümü, Yaban Mersini ve 19 Farklı Aromatik Bitki Ekstraktı	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. longum</i> ,	Vita Biosa	Danimarka
Çilek, Siyah Frenk Üzümü, Mango, Muz ve Oligosakkarit	<i>B. lactis</i>	Tropicana	ABD
Erik, Üzüm ve Portakal	<i>L. paracasei</i>	Malee Enterprise Company	Tayland

Meyve ve sebze bazlı probiyotik içeceklerin üretimi genellikle: i) doğal mikrobiyota tarafından gerçekleştirilen fermantasyon sonucu elde edilen ürünler, ii) probiyotik kültürün ürün formülasyonuna eklenmesi ile birlikte kontrollü fermantasyon sağlanarak üretilen ürünler ve iii) fermantasyon uygulanmadan sadece probiyotik kültürün son ürüne ilavesi ile geliştirilen ürünler olarak sınıflandırılmaktadır [28, 39, 42].

## Doğal Fermantasyon ile Üretilen İçecekler

Fermantasyon, gıdaların raf ömrünün uzatılması ve organoleptik özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla birçok toplum tarafından uzun yıllardır kullanılan biyoteknolojik bir tekniktir [43, 44]. Doğal fermantasyon ile üretilen fermente içecekler arasında genellikle lahana, pancar, biber, salatalık, havuç, patlıcan, fasulye gibi farklı sebzelerden üretilen turşu suları, şalgam, kanji ve



kombu çayı gibi geleneksel ürünler bulunmakta ve bu ürünlerin eldesinde daha çok ev tipi üretim kullanılmaktadır [45, 46]. Geleneksel olarak üretilen fermente ürünlerde fermantasyon, ortamda doğal olarak bulunan mikroorganizmalar tarafından yürütülmekte ve çoğunlukla karışık kültür fermantasyonu gerçekleşmektedir [47]. Doğal fermantasyondan sorumlu başlıca mikroorganizmalar LAB olsa da kullanılan hasat yöntemleri, hammadde kalitesi, fermantasyon koşulları ve ürün standardizasyonu gibi çeşitli faktörler fermantasyonda rol alan mikroorganizmaların sayı ve çeşitliliğini doğrudan etkilemektedir. Farklı substratların kullanımı ile üretilen çok sayıda geleneksel fermente gıda bulunmasına rağmen, bu gıdalarda doğal olarak bulunan potansiyel probiyotik türler hakkındaki bilgi sınırlı seviyededir [48]. Bununla birlikte, bu ürün grubunun yeni probiyotik suşların izolasyonu, karakterizasyonu ve pazarlanması için önemli kaynaklar oldukları da unutulmamalıdır [42].

Kombucha, genellikle sakaroz ile tatlandırılmış siyah, yeşil veya Oolong çayının, birkaç kez yeniden kullanılabilen maya ve bakterilerin bir biyofilm içerisindeki simbiyotik ilişkisi ile statik ve aerobik fermantasyonu yoluyla üretilen geleneksel fermente bir içecek olarak bilinmektedir. Kombucha biyofilminde genel olarak asetik asit bakterileri ve mayalar baskın olmakla birlikte LAB'nin de bulunduğu bildirilmiştir [49, 50, 51]. Çeşitli araştırmacılar tarafından kombucha biyofilmi ile üzüm, enginar ve hint inciri gibi farklı substratların kullanıldığı kombucha benzeri içecek üretiminin yapıldığı çalışmalar bulunmaktadır [52, 53, 54]. Bununla birlikte, son yıllarda kombuchadan izole edilen çeşitli mikroorganizmaların probiyotik özelliklerinin incelendiği görülmektedir. Bogdan ve arkadaşları [55], kombuchadan izole edilen beş adet LAB izolatının %99 oranında *Pediococcus pentosaceus* suşları ile benzerlik gösterdiğini, yapılan detaylı analizlerde ise beş izolatın birinin potansiyel probiyotik olarak fonksiyonel gıdalarda ve kozmetik sektöründe kullanılabileceğini bildirmiştir.

Gilaburu suyu, kırmızı renkli ve buruk tada sahip bir meyve olan gilaburunun fermantasyonu ile üretilen geleneksel alkolsüz bir içecektir [13, 56]. Fermente gilaburu suyunda genellikle *L. plantarum*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. hordei*, *L. paraplantarum*, *L. coryniformis*, *L. buchneri*, *L. parabuchneri*, *L. pantheris*, *L. harbinensis*, *Leuconostoc mesenteroides* ve *Leu. pseudomesenteroides* türlerine ait çeşitli mikroorganizmalar yer almaktadır [57]. Fermente gilaburu suyu üzerine yapılan bir çalışmada, yüksek fenolik asit, flavonoid, askorbik asit ve antosiyanin içeren üründen izole edilen LAB izolatlarının yüksek hidrofobisite, antimikrobiyel aktivite ve safra tuzuna direnç gösterdiği, dolayısıyla potansiyel probiyotik olabilecekleri bildirilmiştir [58].

Şalgam suyu, mor havuç, şalgam turpu, ekşi hamur, tuz ve bulgur ununun yeterli miktarda su ile birlikte LAB ve mayaların fermantasyonu sonucu elde edilen kırmızı renkli ve ekşi tada sahip geleneksel fermente bir içecektir [59, 60]. Geleneksel yöntemlerle üretilen şalgam sularında genellikle baskın flora olarak *L.*

*plantarum*, *L. arabinosus*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. paracasei* spp. *paracasei* ve *L. buncheri* yer almaktadır [45, 61]. Şalgam suyundan izole edilen *L. brevis*'in probiyotik potansiyelinin değerlendirildiği bir çalışmada, *L. brevis*'in antibiyotik duyarlılığı, asit ve safra tuzuna direnç, kolesterol düşürücü etki ve çeşitli patojenlere karşı antimikrobiyel aktivite sergilediği bildirilmiştir [62]. Bununla birlikte, çeşitli fermente ürünlerden izole edilen mikroorganizmalar üzerine daha detaylı çalışmalar yapılarak bu mikroorganizmaların probiyotik potansiyellerinin belirlenmesine ve bu yönde yeni probiyotik gıdaların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

### Kontrollü Fermantasyon ile Üretilen Probiyotik İçecekler

Çeşitli fermente gıdalardan izole edilen ve probiyotik özellikleri kanıtlanmış suşlar, starter kültür olarak yeni ürünlerin geliştirilmesi amacıyla kullanılabilir. Probiyotikler, belirli koşullar altında ortamda bulunan fermente edilebilir bileşenleri kullanarak organik asit, etanol, hidrojen peroksit, karbondioksit, lantibiyotik, bakteriyolizin ve peptid bakteriyosin gibi çeşitli metabolitleri üretebilmekte ve böylece ortamda bulunabilecek olası patojenlerin gelişimini olumsuz yönde etkileyebilmektedirler [48, 63]. Kontrollü fermantasyon sayesinde gıdaların güvenliği, raf ömrü, organoleptik özellikleri ve sağlık faydaları gibi çeşitli özellikleri geliştirilebilmektedir [64]. Meyve ve sebze bazlı probiyotik ürünlerin eldesinde çoğunlukla probiyotik starter kültür olarak *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. brevis*, *L. pentose*, *L. pontius*, *L. acetotolerans*, *L. sanfrancisco*, *Bifidobacterium lactis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. longum* ve *B. infantis* kullanılmaktadır [5, 44].

Meyve ve sebze bazlı içeceklerin probiyotik taşıyıcıları olarak kullanımına yönelik oldukça fazla talep olmasına karşın, bu tip gıdalarda probiyotik canlılığının korunması teknolojik bir zorluk oluşturmaktadır. Genel olarak probiyotik canlılığını etkileyen faktörlerin probiyotik suşa, inokülasyon miktarına, ortamın pH değerine, ortamda bulunan antimikrobiyel bileşiklere ve çeşitli katkı maddelerine, oksijen miktarına ve ürünlere uygulanan işlemlere (pastörizasyon, soğutma hızı, fermantasyon koşulları, depolama sıcaklığı ve süresi vb.) göre değişebildiği bildirilmektedir. Dolayısıyla, uygun koşulların oluşturulması bu tür gıdaların üretimi açısından büyük önem taşımaktadır [25, 42, 65-70].

**Kullanılan suşların dozu ve seçimi:** Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından probiyotik ürünlerin içerdikleri canlı hücre miktarının tüketim sırasında minimum  $10^6$  kob/mL veya kob/g olması tavsiye edilmektedir. Bununla birlikte, ürünlerin üretim, depolama ve tüketim miktarları dikkate alındığında, probiyotiklerin sağlığa yararlı etkilerinin oluşabilmesi için  $10^8$ - $10^9$  kob/mL veya kob/g canlı ve aktif probiyotik içeren 100 mL veya 100 g ürünün günlük olarak tüketilmesi gerekmektedir [68]. Üründeki probiyotik miktarının yanı sıra uygun suşların seçimi de diğer bir önemli faktördür. Kullanılacak suşların kökeni, faj dirençleri, işleme ve depolama süresi boyunca canlılıklarını koruyabilmeleri, büyük ölçekli üretimlerde

kullanılabilirliği, ürünün yapısal ve duyu özelliklerine nötr veya pozitif katkı sağlayabilirliği, asit toleransları, safra ve pankreatik enzimlere dirençleri, mukozal yüzeylere adezyonları gibi çeşitli özellikleri ile birlikte kanıtlanmış sağlık yararları seçim kriterlerini oluşturan başlıca faktörlerdir [71, 72].

**Ortamın pH değeri:** Meyve ve sebzelerde bulunan antimikrobiyel özelliğe sahip organik asitler ve düşük pH değeri nedeniyle probiyotiklerin gelişimi olumsuz yönde etkilenebilmektedir [70]. Probiyotiklerin meyve ve sebze gibi düşük pH değerine sahip matrislerde canlılıklarını sürdürebilmeleri için, ürettikleri Adenozin Trifosfat (ATP) ile hücre içi pH'yı korumaları gerekmektedir. Bu durum, hücre metabolizması için gerekli olan enerjinin yetersiz kalması ve dolayısıyla probiyotiklerin ortamdaki canlılıklarını bir süre sonra kaybetmeleri ile sonuçlanmaktadır [72, 73]. Probiyotiklerin asidik koşullara olan hassasiyetleri birbirinden farklılık göstermektedir. Örneğin probiyotik içeceklerin üretiminde kullanılan *Lactobacillus* spp. pH 3.7-4.3 seviyelerinde canlılığını koruyabilirken, *Bifidobacterium* spp. için pH 4.6 kritik bir seviye olarak belirlenmiştir. Bu nedenle, probiyotik meyve ve sebze bazlı içeceklerinin üretiminde asit toleransı daha yüksek olan *L. plantarum*, *L. acidophilus* ve *L. casei* suşlarının kullanılması ile daha iyi sonuçlar elde edilebilmektedir [25, 35, 68].

**Antimikrobiyel bileşiklerin varlığı:** Probiyotik gelişimini etkileyen diğer faktörlerden biri de meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunabilen antimikrobiyel bileşiklerdir. Bitkilerin bünyesinde, bitkisel hücrelerin gelişimi veya hasarlı olanların onarımında görev alan karbonhidratlar, proteinler, lipitler ve aminoasitler gibi birincil metabolitler ile dış ortamlarla etkileşim sayesinde bitkiye koruma sağlayan çeşitli fenolik asitler, alkaloidler ve terpenler gibi ikincil metabolitler yer almaktadır. Meyve ve sebzelerde bulunan ikincil metabolitlerin seviyesi, ürün, iklim ve toprak gibi ortam koşullarına bağlı olarak değişim göstermektedir. Bu bileşenler, probiyotiklerin membranlarından geçerek membranın stabilitesini ve geçirgenliğini değiştirmekte, hücre içi proteinleri bağlayarak veya modifiye ederek antimikrobiyel etki oluşturabilmektedirler [70, 74].

**Oksijen düzeyi:** Gıda ürünlerinde kullanılan probiyotikler çoğunlukla mikroaerofilik veya anaerobik ortamda gelişebildiğinden, ortamda bulunan oksijen seviyesi probiyotik canlılığı üzerine toksik etki gösterebilmektedir. Oksijene maruz kalan hücrelerde oksidatif hasara neden olan toksik metabolitlerin oluşumu sonucu canlılık önemli ölçüde kaybolmaktadır [35, 73]. Probiyotik canlılığının korunması amacıyla, üretim ve depolama aşamasında vakum altında fermentasyon veya oksijen geçirgenliği düşük olan ambalaj materyallerinin tercih edilmesi gibi uygulamalar, oksijenden kaynaklı hasarın azaltılmasında etkili olabilmektedir [75, 76].

Meyve ve sebze bazlı probiyotik içeceklerin üretiminde kontrollü fermentasyonun kullanıldığı bir çalışmada, sonikasyon uygulanan ve sakaroz ilave edilen ananas suyu üretiminde *L. casei* NRRL B-442 kullanımı değerlendirilmiştir. Elde edilen ürünün optimum koşullarda (pH 5.8 ve 31°C) 24 saat fermentasyon

sonrası 8.65 log kob/mL seviyesinde probiyotik içerdiği bildirilmiştir. 4°C'de 42 gün depolama sonunda sakaroz içeren örnekte 4.77 log kob/mL, sakaroz içermeyen kontrol örneğinde ise 6.03 log kob/mL düzeyinde probiyotik belirlenmiştir. Örneklerde probiyotik miktarının farklı olmasının, sakarozun metabolize edilmesi sonucu oluşan laktik asit miktarından kaynaklanabileceği belirtilmiştir [77].

Reddy ve ark. [78] *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. plantarum* ve *L. casei* suşları ile probiyotik mango suyu geliştirmek amacıyla yaptıkları çalışmada, farklı tür probiyotikleri içeren ürünlerin 30°C'de 72 saatlik fermentasyon sonunda probiyotik sayılarının 9 log kob/mL düzeyinde olduğu bildirilmiştir. Fermentasyonun ilk 12 saatinde probiyotik sayılarının başlangıç seviyesinin bir miktar altına düştüğü tespit edilmiş ve bu durumun, probiyotik suşların farklı pH değerlerine sahip ortamlarda (besiyeri pH'sı 5.6, fermentasyon öncesi ürün pH'sı 4.5) geliştirilmesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Ayrıca, ortamın pH değerinin düşük olmasının, probiyotik gelişme hızının azalmasına ve lag fazının daha geç tamamlanmasına yol açabildiği belirtilmiştir. Araştırmacılar, 4°C'de 4 haftalık depolama süresi sonunda 6-7 log kob/mL düzeyinde probiyotik içerdiği belirlenen mango suyunun, kullanılan probiyotik suşların gelişimi açısından uygun bir matris olduğunu bildirmişlerdir.

Pakbin ve ark. [79] yaptığı çalışmada, probiyotik şeftali suyu geliştirmek amacıyla *L. plantarum*, *L. casei* ve *L. delbrueckii*'nin probiyotik suşları kullanılmıştır. Ürüne uygulanan 30°C'de 72 saatlik fermentasyon sonunda ortamda bulunan *L. plantarum*, *L. casei* ve *L. delbrueckii* sayılarının sırasıyla  $6.1 \times 10^8$ ,  $5.7 \times 10^8$  ve  $1.3 \times 10^9$  kob/mL olduğu bildirilmiştir. Probiyotik gelişimi açısından 48 ve 72 saatlik fermentasyon arasında önemli bir farkın olmadığı, bu durumun şeftali suyunun sahip olduğu düşük pH değeri ile birlikte fermentasyon sırasında artan asitlik miktarı, çözülmüş oksijen moleküllerinin aktivitesi veya su aktivitesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. 4°C'de 4 haftalık depolama süresi sonunda, üründe bulunan *L. plantarum* ( $7.2 \times 10^5$  kob/mL) ve *L. delbrueckii*'nin ( $1.7 \times 10^7$  kob/mL) canlılığını koruduğu, ancak üründe *L. casei*'nin depolanmanın ikinci haftasından itibaren tespit edilemediği ve dolayısıyla probiyotik şeftali suyu üretiminde *L. delbrueckii*'nin kullanımının daha uygun olduğu bildirilmiştir.

### Fermentasyon Uygulanmadan Üretilen Probiyotik İçecekler

Son yıllarda fermentasyon işlemi uygulanmadan son ürüne probiyotik kültür ilavesi ile üretilen ürünler de marketlerde yer almaktadır. Bu tip ürünlerde depolama süresince probiyotik canlılığının uygun seviyede (minimum  $10^6$  kob/mL) korunması gerekmektedir. Dolayısıyla ortam koşulları ile birlikte uygun suş seçimi, inokülasyon miktarı ve probiyotik ilavesi, probiyotik canlılığının korunmasında büyük önem taşımaktadır [39].

Fermentasyon uygulanmadan üretilen meyve ve sebze bazlı probiyotik içecek üretimi üzerine yapılan bir

çalışmada, portakal suyuna inoküle edilen *L. paracasei* spp. *paracasei* gelişimi üzerine prebiyotik etkisi bulunan oligofruktoz ve ortamda bulunan çözünmüş oksijenin azaltılması amacıyla askorbik asit ilavesinin etkisi, 4°C'de 28 gün süresince değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, probiyotik seviyesinin depolama süresince korunduğu (yaklaşık 7 log kob/mL), ortama ilave edilen oligofruktoz ve askorbik asidin ise probiyotik gelişimi üzerine etkisinin olmadığını göstermiştir [80].

Probiyotik kızılçık suyu üretiminin amaçlandığı bir çalışmada, farklı pH değerleri (pH 2.6 ve 3.5) ve soğuk depolamanın (4°C) probiyotik canlılığı üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Kızılçık suyuna inoküle edilen (8 log kob/mL) *L. rhamnosus* ATCC 7469, *L. plantarum* ATCC 20174, *L. casei* ATCC 393, *L. casei* TD4 ve *L. casei* T4'ün pH değeri 2.6 olan ortamda canlılığını 7 gün süresince koruyamadığı, ancak *L. rhamnosus* hariç diğer tüm suşların pH 3.5'da 28 boyunca canlılığını sürdürdüğünü, *L. casei* T4 sayısının ise 28 gün sonunda

başlangıç seviyesinin üzerine çıktığı ve bu nedenle de *L. casei* T4'ün bu tip ürünlerde kullanımının uygun olabileceği bildirilmiştir [81].

Yapılan diğer bir çalışmada, yeşil elma, ananas, portakal ve kırmızı meyveler (kan portakalı, yaban mersini ve nar) içeren farklı meyve sularına *L. reuteri* inoküle edilmiş ve depolama süresince üründe probiyotik canlılığı incelenmiştir. *L. reuteri*'nin yeşil elma, ananas ve portakal suyunda yüksek seviyede canlılık gösterdiği, kırmızı meyveler içeren meyve suyunda ise probiyotik canlılığının düşük olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak, çalışmada kullanılan farklı meyve sularının probiyotik gelişimi açısından uygun gıda matrisleri olabilecekleri, ancak kullanılan hammaddeye bağlı olarak probiyotik canlılığının önemli düzeyde farklılık gösterebileceği bildirilmiştir [82]. Probiyotik meyve ve sebze bazlı ürün geliştirmeye yönelik olarak yapılan çalışmalar Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. Probiyotik meyve ve sebze bazlı içeceklerin geliştirildiği çalışmalar

**Table 2. Studies in which probiotic fruit and vegetable-based beverages were developed**

Ürün	Ürün Formülasyonu, Kullanılan Probiyotik ve Fermantasyon/Depolama Koşulları	Sonuç	Kaynak
Domates Suyu	%100 domates suyu <i>L. acidophilus</i> LA39 <i>L. plantarum</i> C3 <i>L. casei</i> A4 <i>L. delbrueckii</i> D7 30°C'de 72 saat fermantasyon 4°C'de 4 hafta depolama	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> ve <i>L. delbrueckii</i> sayıları fermantasyon sonunda yaklaşık 8 log kob/mL, depolama sonunda ise sırasıyla 1.4×10 <sup>9</sup> kob/mL, 1.7×10 <sup>8</sup> kob/mL, 3.4×10 <sup>6</sup> KOB/mL ve 8.1×10 <sup>8</sup> kob/mL olarak belirlenmiştir.	[83]
Lahana Suyu	%90 lahana suyu %10 steril su <i>L. casei</i> 431 37°C'de 50 saat fermantasyon 4-7°C'de 2 hafta depolama	<i>L. casei</i> sayısı fermantasyon sonunda 10 log kob/mL, depolama sonunda ise 7.7 log kob/mL olarak belirlenmiştir. pH değeri fermantasyon sonunda 6.7'den 3.6 seviyesine düşmüştür.	[84]
Kaju Meyvesi Suyu	%100 kaju meyvesi suyu <i>L. casei</i> NRRL B-442 30°C'de 24 saat fermantasyon 4°C'de 42 gün depolama	<i>L. casei</i> sayısı fermantasyon sonunda ve depolama süresince 8 log kob/mL üzerinde seyretmiştir.	[85]
Sebze Suyu (Pancar, Havuç, Kereviz ve Bal)	%87-94 sebze suyu %1-3 kurutulmuş sebze pulpu %5-10 bal <i>L. acidophilus</i> LA-5 <i>L. casei</i> 431 <i>Saccharomyces boulardii</i> 37°C'de 8-9 saat fermantasyon 4°C'de 3 hafta depolama	Probiyotik sayısı fermantasyon sonunda yaklaşık 10 log kob/mL, depolama sonunda en yüksek probiyotik sayısı, maya için 7.46 log KOB/mL, bakteriler için 8.50 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Duyusal özellikler ve probiyotik canlılığı açısından en iyi formülasyon 2.16-3 g/100 mL kurutulmuş sebze pulpu ve 7.5 g/100 mL bal ile zenginleştirilmiş ürün olarak belirtilmiştir.	[86]
Kayısı Suyu	%100 kayısı suyu <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-1 <i>B. longum</i> BB-46 <i>L. casei</i> 01 <i>L. acidophilus</i> LA-5 37°C'de 24 saat fermantasyon	Başlangıç pH değeri (6.6) fermantasyon sonunda 4.6-4.9 düzeyine düşmüştür, üründe bulunan probiyotik sayısı tekli kültür kullanımına (7-7.30 log kob/mL) kıyasla, ikili kombinasyonlarda (9-10 log kob/mL) daha yüksek canlılık göstermiştir.	[87]
Balkabağı Suyu	%20-40 balkabağı püresi (BP) %60-80 distile su kefirde izole edilen <i>L. mali</i> K8 20, 30 ve 40°C'de 18-82 saat fermantasyon (ürün pH değeri 4.5'e ulaşana kadar) 4°C'de 4 hafta depolama	Fermantasyon ve depolama sonunda probiyotik sayısının yaklaşık 6.5 log KOB/mL olduğu koşul (%40 BP, 8 log kob/mL, 35°C'de 28.34 saat) optimum olarak belirtilmiştir.	[88]

Tablo 2. Probiyotik meyve ve sebze bazlı içeceklerin geliştirildiği çalışmalar (Devam)

Table 2. Studies in which probiotic fruit and vegetable-based beverages were developed (Continued)

Ürün	Ürün Formülasyonu, Kullanılan Probiyotik ve Fermantasyon/Depolama Koşulları	Sonuç	Kaynak
Karpuz Suyu	%96-100 karpuz suyu %0-4 inülin veya FOS <i>L. plantarum</i> ATCC 8014 37°C'de 6 saat fermantasyon 4°C'de 2 hafta depolama	Prebiyotik ilaveli ve ilavesiz ürünlere probiyotik sayısı fermantasyon sonunda 9.35 log KOB/mL, depolama sonunda ise >11 log KOB/mL olarak belirlenmiş, kullanılan prebiyotiklerin probiyotik gelişimi üzerinde etkisinin olmadığı belirtilmiştir.	[89]
Kakao Meyvesi Suyu	%34 kakao pulpu %66 su %9.7 sakaroz veya %0.48 sukraloz (fermantasyon sonrası ilave edilmiştir) <i>L. casei</i> NRRL B-442 33°C'de 12 saat fermantasyon 4°C'de 42 gün depolama	Fermente edilen üründe probiyotik sayısı 8.76 log KOB/mL, depolama sonunda sakaroz ve sukraloz içeren üründe probiyotik sayısı sırasıyla 7.52 log KOB/mL, 7.05 log KOB/mL olarak belirlenmiştir.	[90]
Portakal Bazlı İçecek	%80 portakal suyu %20 ısırgan otu stoğu (%5,9 ısırgan otu, %5,9 limon ve portakal suyu) <i>L. rhamnosus</i> ATCC 53103 4°C'de 28 gün depolama	Başlangıç probiyotik sayısı (9 log KOB/mL) depolama sonunda 7.28 log KOB/mL'ye düşmüş, ısırgan otunun probiyotik gelişimi üzerine etkisi saptanmamıştır.	[91]
Portakal Suyu	%100 portakal suyu <i>L. casei</i> 01 7°C'de 28 gün depolama	Aktif, liyofilize ve mikroenkapsüle formda 8 log KOB/mL düzeyinde <i>L. casei</i> 01 ile inoküle edilen portakal sularında depolama süresince probiyotik sayısı >6 log KOB/mL düzeyinde bulunmuş, inokülasyon formunun probiyotik canlılığı üzerinde önemli bir etkisi saptanmamıştır.	[92]
Juçara, Çilek ve Muz İçeceği	%40 çilek pulpu %40 muz pulpu %20 juçara pulpu <i>B. lactis</i> BB-12 <i>L. acidophilus</i> LA-5 <i>L. casei</i> BGP93 <i>L. plantarum</i> CNPC003 4°C'de 90 gün depolama	Ürüne 8 log KOB/200mL düzeyinde inoküle edilen probiyotik sayılarının depolama süresi sonunda, <i>L. plantarum</i> ve <i>L. casei</i> için sırasıyla 5.7 ve 7.1 log KOB/mL olduğu, <i>B. lactis</i> ve <i>L. acidophilus</i> sayılarının ise <4 log KOB/mL düzeyine gerilediği bildirilmiştir.	[93]
Pancar Suyu	%100 pancar suyu %4 sakaroz <i>L. casei</i> 431 37°C'de 2, 4, 6 saat fermantasyon 4°C'de 4 hafta depolama	Üründe probiyotik sayısı 0, 2, 4 ve 6 saatlik fermantasyon süreleri sonunda sırasıyla 2.45x10 <sup>7</sup> , 2.50x10 <sup>8</sup> , 3.05x10 <sup>8</sup> ve 3.45x10 <sup>8</sup> KOB/mL, depolama süresi sonunda ise 10 <sup>8</sup> KOB/mL olarak belirlenmiştir.	[94]
Havuç Suyu	%100 havuç suyu <i>L. acidophilus</i> NRRL-B-4495 <i>L. plantarum</i> C3, <i>L. casei</i> B-442 <i>B. longum</i> 35624 pH 4-7 10-45°C'de 24 saat fermantasyon	Ürünün optimum fermantasyon koşullarının pH 6, 30°C ve 24 saat olduğu, bu koşullarda starter olarak karışık kültür kullanımının uygun olduğu bildirilmiştir.	[95]

## PROBİYOTİK CANLILIĞIN ARTTIRILMASI

Probiyotiklerin sağlık üzerine faydalı etkilerinin oluşabilmesi için üretim ve depolanmanın yanında mide ve ince bağırsaktan geçişleri sırasında uygun miktarda canlı kalabilmeleri gerekmektedir. Bu nedenle, ürünlerin raf ömrü boyunca içerdikleri probiyotik sayısının korunması büyük önem taşımaktadır [96]. Bu amaçla, probiyotikleri elverişsiz ortam koşullarından koruyan

ajanların ve teknolojilerin kullanılabileceği bildirilmiştir. Mikroenkapsülasyon, immobilizasyon ve prebiyotik kullanımı, probiyotik canlılığının korunması amacıyla en sık kullanılan teknikler arasında yer almaktadır [70].

Mikroenkapsülasyon tekniği, bir bileşenin yarı geçirgen membran veya matris sayesinde kaplanması ile birlikte belirli koşullar altında içeriğin kontrollü olarak ortama salınımı esasına dayanmaktadır [97].

Mikroenkapsülasyon, fiziksel bir engel tekniği olarak probiyotiklerin yüksek asitlik gibi elverişsiz ortam koşullarından zarar görmesini engelleyebilmekte ve anaerobik ortamın oluşturulmasını sağlayabilmektedir [35]. Probiyotik mikroenkapsülasyonunda nişasta, jelatin, ksantan gam ve gliserit türevleri gibi çeşitli polimerik malzemeler kullanılmaktadır. Aljinat, toksik olmaması, düşük maliyeti, biyoyumluluğu ve gıda katkı maddesi olarak kullanılabilirliği sebebiyle yaygın olarak kullanılmaktadır [98, 99]. Yapılan bir çalışmada, Kakao pulpundan üretilen içeceğe eşit miktarda inoküle edilen serbest ve enkapsüle formdaki *L. rhamnosus* GG'nin ürün ile birlikte simüle edilmiş mide ve bağırsak ortamlarında canlılığı incelenmiştir. 37°C'de 24 saat fermentasyon uygulanan kakao içeceğinde serbest formda 8.66 log KOB/mL, enkapsüle formda ise 10.66 log KOB/mL düzeyinde probiyotik bulunmasına rağmen, mide ve bağırsak gibi zorlu ortam koşullarında serbest formdaki hücrelerin hızlı bir şekilde canlılığını kaybettiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, *L. rhamnosus* GG'nin simüle edilmiş mide ve bağırsak ortamında serbest formunun sırasıyla <7 log KOB/mL ve 4.41 log KOB/mL, enkapsüle formunun ise sırasıyla >9 log KOB/mL ve 8.83 log KOB/mL düzeyinde canlılık gösterdiği belirtilmiştir [100]. Mokhtari ve ark. [101] mikroenkapsülasyon tekniğinin probiyotik canlılığına etkilerini değerlendirmek üzere yaptıkları çalışmada, üzüm suyuna serbest ve aljinat ile enkapsüle formda 9-10 log KOB/mL düzeyinde *L. acidophilus* PTCC 1643 ve *B. bifidum* PTCC 1644 inokülasyonu gerçekleştirilmiştir. 4°C'de 60 gün depolama sonunda serbest ve enkapsüle formda bulunan *L. acidophilus* PTCC1643 sayısının sırasıyla 7.57 ve 8.67 log KOB/mL ve *B. bifidum* PTCC1643 sayısının ise sırasıyla 7.53 ve 8.27 log KOB/mL olduğu tespit edilmiştir. Üzüm suyundaki probiyotiklerin mikroenkapsülasyonu sonucu, hücreleri olumsuz ortam koşullarından koruyan bir bariyer oluşturulmuş ve enkapsüle formda bulunan hücre popülasyonu, serbest formda olanlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur.

Hücre immobilizasyonu ve mikroenkapsülasyon terimleri birbirinin yerine sıklıkla kullanılmasına rağmen, immobilizasyon bir matrisin içinde veya matris boyunca çeşitli materyallerin tutuklanması anlamına gelmekte, mikroenkapsülasyon ise çeşitli immobilizasyon tekniklerinden sadece birini ifade etmektedir [102, 103]. Hücre immobilizasyonu, mikroorganizmaların farklı yüzeylere adezyonu sayesinde olumsuz ortam koşullardan korunması ilkesine dayanmaktadır [104]. Polisakkarit türevleri, jelleştirici ajanlar, meyve parçaları gibi çeşitli bileşenler, probiyotik canlılığının artırılması amacıyla immobilizasyon tekniğinde kullanılabilir [105]. Tsen ve arkadaşları [106] immobilizasyon tekniğinin probiyotik domates suyundaki hücre canlılığına etkisini değerlendirmek amacıyla K-karragenan kullanarak *L. acidophilus* BCRC 10695'in immobilizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. 37°C'de 80 saatlik fermentasyon aşamasından sonra ortamda serbest formda 9 log KOB/mL ve immobilize formda 10 log KOB/mL-jel düzeyinde probiyotik suş bulunduğu bildirilmiştir. 4°C'de 10 haftalık depolama sonucunda serbest ve immobilize formdaki *L. acidophilus* BCRC 10695 düzeyi sırasıyla 4 ve 6 log KOB/mL olarak tespit

edilmiştir. Farklı bir çalışmada ise, sinbiyotik kızılcık içeceği geliştirmek amacıyla buğday kepeği kullanarak *L. paracasei* K5 immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ürünün başlangıçta pH değerinin 2.7-2.9 olduğu ve 11 log KOB/mL seviyesinde probiyotik içerdiği, 4 haftalık depolama sonunda ise üründe bulunan *L. paracasei*'nin serbest ve immobilize formunun sırasıyla 8.6 ve 9.7 log KOB/mL seviyesine gerilediği bildirilmiştir. Bununla birlikte, düşük pH değerine sahip bu tip gıdaların üretiminde immobilizasyon tekniği ile birlikte buğday kepeği kullanımının, probiyotikleri korumak ve ürünlere probiyotik özellik kazandırmak için uygun bir matris olabileceği belirtilmiştir [107].

Prebiyotikler, kolonda bulunan sınırlı sayıdaki bakterilerin gelişimlerini seçici olarak uyararak konakçı sağlığı üzerine fayda sağlayan sindirilemeyen gıda bileşenleridir. İnülin, FOS, GOS ve soya gibi bileşikler bilinen bazı prebiyotiklerdir [108]. Probiyotik ürünlerde prebiyotiklerin kullanımı ile ürün işlenmesi ve depolanması sırasında hücrelerin elverişsiz ortam koşullarından korunabileceği ve canlılıklarının artırılacağı bildirilmiştir [71]. Goderska ve arkadaşları [109] yaptıkları çalışmada, havuç suyuna 8 log KOB/mL düzeyinde inoküle edilen *L. acidophilus* DSM 20079 ve *B. bifidum* DSM 20215 suşlarının yanı sıra ortama %2 oranında (a/h) raftiloz ilave etmişler ve ürünü 4°C'de 28 gün depolamışlardır. Raftiloz ile zenginleştirilmiş içeceklerde 19. günde 6 log KOB/mL düzeyinde *L. acidophilus* DSM 20079 ve 28. günde  $5.24 \times 10^6$  KOB/mL *B. bifidum* DSM 20215 tespit edilmiştir. Probiyotik ilave edilmeyen örnekler göre raftiloz içeren havuç sularında probiyotik canlılığının daha uzun olduğu bildirilmiştir. Pimentel ve arkadaşları [75] oligofruktozun prebiyotik ve koruyucu olarak elma suyuna inoküle edilen *L. paracasei* ssp. *paracasei* üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. 4°C'de 21 gün depolama süresi sonunda prebiyotik ilave edilmemiş meyve suyunda *L. paracasei* ssp. *paracasei* sayısının 6.5 log KOB/mL seviyesinin altında, prebiyotik ilave edilmiş olanda ise 7 log KOB/mL seviyesinin üzerinde olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, elma suyuna ilave edilen oligofruktozun, ürünün pH, titre edilebilir asitlik ve renk gibi özellikleri etkilemediği ve bu tip ürünlerde kullanımının uygun olduğu bildirilmiştir.

## SONUÇ

Bilimsel ilerlemeler ile beslenme ve sağlık arasındaki ilişki tüketicilerin beslenmeye yönelik yaklaşımında sağlığın rolünü ön plana çıkartarak fonksiyonel gıdalara yönelik önemi arttırmıştır. Bu kapsamda fonksiyonel gıdaların büyük bölümünü oluşturan probiyotik ürünlere yönelik talep oldukça fazladır. Süt bazlı probiyotik gıdalar dünya genelinde en yaygın üretilen probiyotik ürünler olmasına rağmen laktoz intolerans, vejetaryen beslenme ve süt proteini alerjisi gibi çeşitli sınırlayıcı faktörler nedeniyle yeni gıda matrislerinin araştırılması hız kazanmıştır. Meyve ve sebzelerin içerdiği sağlığa faydalı bileşenlerin yanı sıra üretim, depolama ve tüketim gibi birçok aşama açısından probiyotik taşıyıcıları olarak kullanımları dikkat çekmektedir. Buna ek olarak, geleneksel fermente içeceklerden elde edilen potansiyel probiyotik suşlar ve farklı tekniklerle üretilen

meyve ve sebze bazlı probiyotik içeceklere yönelik çalışmalar her geçen gün artmaya devam etmektedir. Bu tip ürünlerin geliştirilmesinde ortamın pH değeri, çeşitli antimikrobiyel bileşenlerin varlığı, oksijen düzeyi, raf ömrü ve tüketim sırasındaki canlı ve aktif probiyotik sayısı gibi çeşitli faktörler kritik rol oynamaktadır. Probiyotik ürünlerde hücre canlılığını maksimum seviyede tutmak adına farklı tekniklerden yararlanılmakta, ayrıca ürün formülasyonları çeşitli bileşenlerle zenginleştirilerek hücre gelişimi desteklenebilmektedir. İleride yapılacak çalışmalar sayesinde probiyotiklerin farklı ürün gruplarında kullanımı ile ürün çeşitliliğinin artırılması mümkün olabilecektir.

#### KAYNAKLAR

- [1] Ghosh, N., Das, A., Sen, C.K. (2019). Nutritional Supplements and Functional Foods. In *Nutraceutical and Functional Food Regulations in the United States and Around the World*, Edited by D. Bagchi, Academic Press, San Diego, United States, 13-35p.
- [2] Atanasova, V.K., Gatseva, P.D. (2019). Natural Beverages and Their Role as Functional Foods. In *Natural Beverages*, Edited by A.M. Grumezescu & A.M. Holban, Academic Press, Duxford, United Kingdom, 37-71p.
- [3] Harasym, J., Kaim, U., Bogacz-Radomska, L., Olędzki, R. (2020). Development of Functional Foods by Traditional Food Processes. In *Sustainability of the Food System*, Edited by N. Betoret & E. Betoret, Academic Press, London, United Kingdom, 131-146p.
- [4] Fernandes, S.S., Coelho, M.S., Salas-Mellado, M. de las Mercedes Salas-Mellado, M. (2019). Bioactive Compounds as Ingredients of Functional Foods: Polyphenols, Carotenoids, Peptides from Animal and Plant Sources New. In *Bioactive Compounds Health Benefits and Potential Applications*, Edited by M.R.S. Campos, Woodhead Publishing, Duxford, United Kingdom, 129-142p.
- [5] Martins, E.M.F., Ramos, A.M., Vanzela, E.S.L., Stringheta, P.C., de Oliveira Pinto, C.L., Martins, J.M. (2013). Products of vegetable origin: a new alternative for the consumption of probiotic bacteria. *Food Research International*, 51, 764-770.
- [6] Dayısoylu, K.S., Gezginç, Y., Cingöz, A. (2014). Fonksiyonel gıda mı, fonksiyonel bileşen mi? gıdalarda fonksiyonellik. *Gıda*, 39(1), 57-62.
- [7] Villaño, D., Gironés-Vilapana, A., García-Viguera, C., Moreno, D.A. (2016). Development of Functional Foods. In *Innovation Strategies in the Food Industry*, Edited by C.M. Galanakis, Academic Press, London, United Kingdom, 191-210p.
- [8] Aguiar, L. M., Geraldi, M. V., Cazarin, C. B. B., Junior, M. R. M. (2019). Functional Food Consumption and Its Physiological Effects. In *Bioactive Compounds Health Benefits and Potential Applications*, Edited by M.R.S. Campos, Woodhead Publishing, Cambridge, United States, 205-225p.
- [9] Sharma, R. (2019). Whey Proteins in Functional Foods. In *Whey Proteins*, Edited by H.C. Deeth & N. Bansal, Academic Press, London, United Kingdom, 637-663p.
- [10] Panghal, A., Janghu, S., Virkar, K., Gat, Y., Kumar, V., Chhikara, N. (2018). Potential non-dairy probiotic products – A healthy approach. *Food Bioscience*, 21, 80-89.
- [11] Holzapfel, W.H. (2006). Introduction to prebiotics and probiotics. In *Probiotics in food safety and human health*, Edited by I. Goktepe, V.K. Juneja & M. Ahmedna, CRC Press, Boca Raton, USA, 1-33p.
- [12] Koirala, S., Anal, A.K. (2021). Probiotics-based foods and beverages as future foods and their overall safety and regulatory claims. *Future Foods*, 3, 100013.
- [13] Garcia, C., Guerin, M., Souidi, K., Remize, F. (2020). Lactic fermented fruit or vegetable juices: Past, present and future. *Beverages*, 6(1), 1-31.
- [14] www.marketresearch.com/Grand-View-Research-v4060/Probiotic-Drink-Size-Share-Trends-13738743 [Erişim Tarihi: 05.05.2021]
- [15] WHO/FAO (World Health Organization/ Food and Agriculture Organization). (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. [https://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/en/probiotic\\_guidelines.pdf](https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf). [Erişim Tarihi: 01.07.2020]
- [16] Kandyli, P., Pissaridi, K., Bekatorou, A., Kanellaki, M., Koutinas, A.A. (2016). Dairy and non-dairy probiotic beverages. *Current Opinion in Food Science*, 7, 58-63.
- [17] Gibson, G.R., Hutkins, R.W., Sanders, M.E., Prescott, S.L., Reimer, R.A., Salminen, S.J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K.S., Cani, P.D., Verbeke, K. (2017). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Faculty Publications in Food Science and Technology*, 234, 1-12.
- [18] Antunes, A.E.C., Liserre, A.M., Coelho, A.L.A., Menezes, C.R., Moreno, I., Yotsuyanagi, K., Azambuja, N.C. (2013). Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. *LWT-Food Science and Technology*, 54(1), 125-131.
- [19] Mohammadi, R., Sohrabvandi, S., Mohammad Mortazavian, A. (2012). The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. *Engineering in Life Sciences*, 12(4), 399-409.
- [20] Soyuçok, A., Başığit Kılıç, G. (2017). Süt kaynaklı olmayan probiyotik gıdalar. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(12), 1615-1625.
- [21] Lebaka, V.R., Wee, Y.J., Narala, V.R., Joshi, V.K. (2018). Development of New Probiotic Foods—A Case Study on Probiotic Juices. In *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods*, Edited by A.M. Grumezescu and A.M. Holban, Academic Press, Massachusetts, United States, 55-78p.
- [22] Shokryazdan, P., Faseleh Jahromi, M., Liang, J.B., Ho, Y.W. (2017). Probiotics: from isolation to application. *Journal of the American College of Nutrition*, 36(8), 666-676.

- [23] de Melo Pereira, G.V., de Oliveira Coelho, B., Júnior, A.I.M., Thomaz-Soccol, V., Soccol, C.R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology advances*, 36(8), 2060-2076.
- [24] Ashaolu, T.J. (2020). Immune boosting functional foods and their mechanisms: A critical evaluation of probiotics and prebiotics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110625.
- [25] Shori, A.B. (2016). Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience*, 13, 1-8.
- [26] Kerry, R.G., Patra, J.K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.S., Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(3), 927-939.
- [27] Amirani, E., Milajerdi, A., Mirzaei, H., Jamilian, H., Mansournia, M.A., Hallajzadeh, J., Ghaderi, A. (2020). The effects of probiotic supplementation on mental health, biomarkers of inflammation and oxidative stress in patients with psychiatric disorders: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Complementary Therapies in Medicine*, 102361.
- [28] Sengun, I.Y., Kilic, G. (2019). Probiotic fruit and vegetable based beverages. *1st International Congress On Sustainable Agriculture and Technology*, April 1-3, Gaziantep University, Gaziantep, Turkey, 283-291p.
- [29] Chugh, B., Kamal-Eldin, A. (2020). Bioactive compounds produced by probiotics in food products. *Current Opinion in Food Science*, 32, 76-82.
- [30] Begum, P.S., Madhavi, G., Rajagopal, S., Viswanath, B., Razak, M.A., Venkataratnamma, V. (2017). Probiotics as functional foods: potential effects on human health and its impact on neurological diseases. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 7(2), 23-33.
- [31] Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I.K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L.A., Kopsahelis, N. (2019). Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients*, 11(7), 1591.
- [32] Behera, S.S., Panda, S.K. (2020). Ethnic and industrial probiotic foods and beverages: efficacy and acceptance. *Current Opinion in Food Science*, 32, 29-36.
- [33] Bansal, S., Mangal, M., Sharma, S.K., Gupta, R.K. (2016). Non-dairy based probiotics: A healthy treat for intestine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(11), 1856-1867.
- [34] Kaur, P., Ghoshal, G., Banerjee, U.C. (2019). Traditional bio-preservation in beverages: Fermented beverages. In *Preservatives and Preservation Approaches in Beverages. The Science of Beverages*, Edited by A.M. Grumezescu and A.M. Holban, Academic Press, Massachusetts, United States, 69-113p.
- [35] Pimentel, T.C., Klososki, S.J., Rosset, M., Barão, C.E., Marcolino, V.A. (2019). Fruit juices as probiotic foods. In *Sports and Energy Drinks*, Edited by A.M. Grumezescu and A.M. Holban, Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge, 483-513p.
- [36] Pennington, J.A., Fisher, R.A. (2010). Food component profiles for fruit and vegetable subgroups. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(5), 411-418.
- [37] Galgano, F., Condelli, N., Caruso, M.C., Colangelo, M.A., Favati, F. (2015). Probiotics and prebiotics in fruits and vegetables: technological and sensory aspects. In *Beneficial microbes in fermented and functional foods*, Edited by V.R. Rai, J.A. Bai, CRC Press, Boca Raton, 189-206p.
- [38] Wu, Y., Li, S., Tao, Y., Li, D., Han, Y., Show, P.L., Wen, G., Zhou, J. (2021). Fermentation of blueberry and blackberry juices using *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium bifidum*: Growth of probiotics, metabolism of phenolics, antioxidant capacity in vitro and sensory evaluation. *Food Chemistry*, 348, 129083.
- [39] Pereira, A.L.F., Rodrigues, S. (2018). Turning fruit juice into probiotic beverages. In *Fruit Juices*, Edited by G. Rajauria & B.K. Tiwari, Academic Press, London, England, 279-287p.
- [40] Chaudhary, A. (2019). Probiotic fruit and vegetable juices: Approach towards a healthy gut. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8, 1265-1279.
- [41] Kazakos, S., Mantzourani, I., Plessas, S. (2020). Assessment of pomegranate juice as an alternative "Substrate" for probiotic delivery. Recent advances and prospects. *Fermentation*, 6(1), 24-34.
- [42] Vinderola, G., Gueimonde, M., Gomez-Gallego, C., Delfederico, L., Salminen, S. (2017). Correlation between in vitro and in vivo assays in selection of probiotics from traditional species of bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 83-90.
- [43] Peres, C.M., Peres, C., Hernández-Mendoza, A., Malcata, F.X. (2012). Review on fermented plant materials as carriers and sources of potentially probiotic lactic acid bacteria—With an emphasis on table olives. *Trends in Food Science & Technology*, 26(1), 31-42.
- [44] Marrero, S.C., Martínez-Rodríguez, A., Pérez, S.E.M., Moya, S.P. (2019). New trends and applications in fermented beverages. In *Fermented Beverages*, Edited by A.M. Grumezescu and A.M. Holban, Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge, 31-66p.
- [45] Irkin, R. (2019). Natural Fermented Beverages. In *Natural Beverages*, Edited by A.M. Grumezescu and A.M. Holban, Academic Press, Massachusetts, United States, 399-425p.
- [46] Lamba, J., Goomer, S., Saxena, S.K. (2019). Study the lactic acid bacteria content in traditional fermented Indian drink: Kanji. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 16, 100143.
- [47] Shah, N.N., Singhal, R.S. (2017). Fermented fruits and vegetables. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, Edited by A. Pandey, M.A. Sanromán, G. Du, C.R. Soccol and C. Dussap, Elsevier. 45-89p.



- [48] Rivera-Espinoza, Y., Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), 1-11.
- [49] Lavefve, L., Marasini, D., Carbonero, F. (2019). Microbial ecology of fermented vegetables and non-alcoholic drinks and current knowledge on their impact on human health. *Advances in Food and Nutrition Research*, 87, 147-185.
- [50] Laureys, D., Britton, S.J., De Clippeleer, J. (2020). Kombucha tea fermentation: A review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 78(3), 165-174.
- [51] Jayabalan, R., Waisundara, V.Y. (2019). Kombucha as a Functional Beverage. In *Functional and Medicinal Beverages*, Edited by A.M. Grumezescu & A.M. Holban, Academic Press, Duxford, United Kingdom, 413-446p.
- [52] Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., Čanadanović-Brunet, J.M. (2011). Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry*, 127(4), 1727-1731.
- [53] Ayed, L., Hamdi, M. (2015). Manufacture of a beverage from cactus pear juice using "tea fungus" fermentation. *Annals of Microbiology*, 65(4), 2293-2299.
- [54] Ayed, L., Abid, S.B., Hamdi, M. (2017). Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of Microbiology*, 67(1), 111-121.
- [55] Bogdan, M., Justine, S., Filofteia, D.C., Petruta, C., Gabriela, L.U.Ț.Ă., Roxana, U., Florentina, M. (2018). Lactic acid bacteria strains isolated from Kombucha with potential probiotic effect. *Romanian Biotechnological Letters*, 23(3), 13592-13598.
- [56] Otlés, S., Nakilcioglu-Tas, E. (2019). Nutritional Components Of Some Fermented Nonalcoholic Beverages. In *Fermented Beverages*, Edited by A.M. Grumezescu & A.M. Holban, Woodhead Publishing, 287-319p.
- [57] Baschali, A., Tsakalidou, E., Kyriacou, A., Karavasiloglou, N., Matalas, A.L. (2017). Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: a neglected food group. *Nutrition Research Reviews*, 30(1), 1-24.
- [58] Sagdic, O., Ozturk, I., Yapar, N., Yetim, H. (2014). Diversity and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from gilaburu, a traditional Turkish fermented European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit drink. *Food Research International*, 64, 537-545.
- [59] Erten, H., Tanguler, H., Canbaş, A. (2008). A traditional Turkish lactic acid fermented beverage: Shalgam (Salgam). *Food Reviews International*, 24(3), 352-359.
- [60] Tanriseven, D., Diblan, S., Selli, S., Kelebek, H. (2018). Şalgam suyunun üretim yöntemleri ve biyoaktif bileşenleri. *Artıbilim: Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1), 38-45.
- [61] Tanguler, H., Erten, H. (2012). Occurrence and growth of lactic acid bacteria species during the fermentation of shalgam (salgam), a traditional Turkish fermented beverage. *LWT-Food Science and Technology*, 46(1), 36-41.
- [62] Kiray, E. (2016). The Investigation of Some Probiotics Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditionally Produced Shalgam Juice in Mersin Region. *2nd International Congress on the World of Technology and Advanced Materials*. Nov 17-18, 2004, Kırşehir, Turkey, Book of Proceedings, p29-32.
- [63] Varzakas, T., Kandylis, P., Dimitrellou, D., Salamoura, C., Zakyntinos, G., Proestos, C. (2018). Innovative and fortified food: Probiotics, prebiotics, gmos, and superfood. In *Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods*, Edited by M.E. Ali and N.N.A. Nizar, Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge, 67-129p.
- [64] Mustafa, S.M., Chua, L.S. (2020). Green technological fermentation for probioticated beverages for health enhancement. In *Biotechnological Progress and Beverage Consumption*, Edited by A.M. Grumezescu and A.M. Holban, Academic Press, Massachusetts, United States, 407-434p.
- [65] Saarela, M. (2009). Probiotics as ingredients in functional beverages. In *Functional and speciality beverage technology*, Edited by P. Paquin, Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge, 55-70p.
- [66] Cueva, C., Moreno-Arribas, M.V., Martín-Álvarez, P.J., Bills, G., Vicente, M.F., Basilio, A., Rivas, C.L., Requena, T., Rodríguez, J.M., Bartolomé, B. (2010). Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in Microbiology*, 161(5), 372-382.
- [67] do Espírito Santo, A.P., Perego, P., Converti, A., Oliveira, M.N. (2011). Influence of food matrices on probiotic viability—A review focusing on the fruity bases. *Trends in Food Science & Technology*, 22(7), 377-385.
- [68] Tripathi, M.K., Giri, S.K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241.
- [69] Perricone, M., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M., Corbo, M.R. (2015). Challenges for the production of probiotic fruit juices. *Beverages*, 1(2), 95-103.
- [70] Guergoletto, K.B., Farinazzo, F.S., Mauro, C.S.I., Fernandes, M.T.C., Alves, G., Prudencio, S.H., Garcia, S. (2019). Nondairy probiotic and prebiotic beverages: applications, nutrients, benefits, and challenges, In *Nutrients in Beverages*, Edited by A.M. Grumezescu and A.M. Holban, Academic Press, Massachusetts, United States, 277-314p.
- [71] Forssten, S.D., Sindelar, C.W., Ouweland, A.C. (2011). Probiotics from an industrial perspective. *Anaerobe*, 17(6), 410-413.
- [72] Dinkçi, N., Akdeniz, V., Akalin, A.S. (2019). Survival of probiotics in functional foods during shelf life. In *Food Quality and Shelf Life*, Edited by C.M. Galanakis, Academic Press, Massachusetts, United States, 201-233p.
- [73] Vodnar, D.C., Călinoiu, L.F., Mitrea, L., Precup, G., Bindea, M., Păcurar, A.M., Szabo, K., Ștefănescu,



- B.E. (2019). A new generation of probiotic functional beverages using bioactive compounds from agro-industrial waste, In *Functional and Medicinal Beverages*, Edited by A.M. Grumezescu and A.M. Holban, Academic Press, Massachusetts, United States, 483-528p.
- [74] da Silva, B.V., Barreira, J.C., Oliveira, M.B.P. (2016). Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 50, 144-158.
- [75] Pimentel, T.C., Madrona, G.S., Garcia, S., Prudencio, S.H. (2015). Probiotic viability, physicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* and oligofructose in different package type. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 415-422.
- [76] Călinoiu, L.F., Vodnar, D.C., Precup, G. (2016). The probiotic bacteria viability under different conditions. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology*, 73(2), 55-60.
- [77] Costa, M.G.M., Fonteles, T.V., de Jesus, A.L.T., Rodrigues, S. (2013). Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: process optimisation and product stability. *Food Chemistry*, 139(1-4), 261-266.
- [78] Reddy, L.V., Min, J.H., Wee, Y.J. (2015). Production of probiotic mango juice by fermentation of lactic acid bacteria. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 43(2), 120-125.
- [79] Pakbin, B., Razavi, S. H., Mahmoudi, R., Gajarbeygi, P. (2014). Producing probiotic peach juice. *Biotechnology and Health Sciences*. 1(3): e24683.
- [80] da Costa, G.M., de Carvalho Silva, J.V., Mingotti, J.D., Barão, C.E., Klososki, S.J., Pimentel, T.C. (2017). Effect of ascorbic acid or oligofructose supplementation on *L. paracasei* viability, physicochemical characteristics and acceptance of probiotic orange juice. *LWT - Food Science and Technology*, 75, 195-201.
- [81] Nematollahi, A., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A.M., Jazaeri, S. (2016). Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*, 21, 49-53.
- [82] Perricone, M., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., Speranza, B., Bevilacqua, A. (2014). Viability of *Lactobacillus reuteri* in fruit juices. *Journal of Functional Foods*, 10, 421-426.
- [83] Yoon, K.Y., Woodams, E.E., Hang, Y.D. (2004). Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. *The Journal of Microbiology*, 42(4), 315-318.
- [84] Dimitrovski, D., Stojanovska, M.C., Simonovska, J., Doneva Sapceska, D. (2016). Lactic acid fermentation of cabbage juice by probiotic strain. In *III International Congress "Food Technology, Quality and Safety*, October 25-27, 2016, Skopje, Macedonia, 67-73p.
- [85] Pereira, A.L.F., Maciel, T.C., Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food Research International*, 44(5), 1276-1283.
- [86] Profir, A.G., Neagu, C.V., Vizireanu, C. (2015). Impact of nutrients on the probiotic survival and sensory properties of vegetables juice. *Romanian Biotechnological Letters*, 20(6), 11041.
- [87] Bujna, E., Farkas, N.A., Tran, A.M., Sao Dam, M., Nguyen, Q.D. (2018). Lactic acid fermentation of apricot juice by mono-and mixed cultures of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Food Science and Biotechnology*, 27(2), 547-554.
- [88] Koh, W.Y., Uthumporn, U., Rosma, A., Irfan, A.R., Park, Y.H. (2018). Optimization of a fermented pumpkin-based beverage to improve *Lactobacillus mali* survival and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity: A response surface methodology approach. *Food Science and Human Wellness*, 7(1), 57-70.
- [89] Amanda, E., Choo, W.S. (2018). Effect of refrigerated storage on the physicochemical characteristics and viability of *Lactobacillus plantarum* in fermented watermelon juice with or without supplementation with inulin or fructooligosaccharide. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(12), 1-8.
- [90] dos Santos Filho, A.L., Freitas, H.V., Rodrigues, S., Abreu, V.K.G., de Oliveira Lemos, T., Gomes, W.F., Narain, N., Pereira, A.L.F. (2019). Production and stability of probiotic cocoa juice with sucralose as sugar substitute during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 99, 371-378.
- [91] Sengun, I.Y., Kirmizigul, A., Atlama, K., Yilmaz, B. (2020). The viability of *Lactobacillus rhamnosus* in orange juice fortified with nettle (*Urtica dioica* L.) and bioactive properties of the juice during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 118, 108707.
- [92] Miranda, R.F., de Paula, M.M., da Costa, G.M., Barão, C.E., da Silva, A.C.R., Raices, R.S.L., Gomes, R.G., Pimentel, T.C. (2019). Orange juice added with *L. casei*: is there an impact of the probiotic addition methodology on the quality parameters? *LWT - Food Science and Technology*, 106, 186-193.
- [93] de Oliveira Ribeiro, A.P., dos Santos Gomes, F., dos Santos, K.M.O., da Matta, V.M., de Araujo Santiago, M.C.P., Conte, C., de Oliveira Costa, S.D., de Oliveira Ribeiro, de Oliveira Godoy, R.L., Walter, E.H.M. (2020). Development of a probiotic non-fermented blend beverage with juçara fruit: Effect of the matrix on probiotic viability and survival to the gastrointestinal tract. *LWT - Food Science and Technology*, 118, 108756.
- [94] Gamage, S.M., Mhirani, M.K.S., Perera, O.D.A.N., Weerahewa, H.D. (2016). Development of synbiotic beverage from beetroot juice using beneficial probiotic *Lactobacillus casei* 431. *Ruhuna Journal of Science*, 7, 64-69.
- [95] Rafiq, S., Sharma, V., Nazir, A., Rashid, R., SA, S., Nazir, F., Nayik, G.A. (2016). Development of probiotic carrot juice. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 6(4), 1-5.

- [96] Nualkaekul, S., Charalampopoulos, D. (2011). Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*, 146(2), 111-117.
- [97] Zaeim, D., Sarabi-Jamab, M., Ghorani, B., Kadkhodaei, R., Liu, W., Tromp, R.H. (2020). Microencapsulation of probiotics in multi-polysaccharide microcapsules by electrohydrodynamic atomization and incorporation into ice-cream formulation. *Food Structure*, 25, 100147.
- [98] Haghshenas, B., Abdullah, N., Nami, Y., Radiah, D., Rosli, R., Yari Khosroushahi, A. (2015). Microencapsulation of probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* 15 HN using alginate-pectin-chitosan polymeric blends. *Journal of Applied Microbiology*, 118(4), 1048-1057.
- [99] Olivares, A., Soto, C., Caballero, E., Altamirano, C. (2019). Survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* (prepared by vibration technology) in fruit juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*, 42, 42-48.
- [100] Ezekiel, O.O., Ojuola, O.F., Adedeji, O.E. (2020). Stability of encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in cocoa (*Theobroma cacao* L.) juice. *Acta Periodica Technologica*, 51, 61-75.
- [101] Mokhtari, S., Jafari, S.M., Khomeiri, M. (2019). Survival of encapsulated probiotics in pasteurized grape juice and evaluation of their properties during storage. *Food Science and Technology International*, 25(2), 120-129.
- [102] Ünal, E., Erginkaya, Z. (2010). Probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonu. *Gıda*, 35(4), 297-304.
- [103] Mitropoulou, G., Nedovic, V., Goyal, A., Kourkoutas, Y. (2013). Immobilization technologies in probiotic food production. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2013, 1-16.
- [104] Roberts, D., Reyes, V., Bonilla, F., Dzandu, B., Liu, C., Chouljenko, A., Sathivel, S. (2018). Viability of *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826 in fermented apple juice under simulated gastric and intestinal conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 97, 144-150.
- [105] Phromthep, K., Leenanon, B. (2017). Survivability of immobilized *Lactobacillus plantarum* cells within bacterial cellulose in mango juice. *International Food Research Journal*, 24(3), 939-949.
- [106] Tsen, J.H., Lin, Y.P., Huang, H.Y., King, V.A.E. (2008). Studies on the fermentation of tomato juice by using kappa-carrageenan immobilized *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 32(2), 178-189.
- [107] Mantzourani, I., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A., Plessas, S. (2019). Production of a potentially synbiotic fermented Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) beverage using *Lactobacillus paracasei* K5 immobilized on wheat bran. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 347-351.
- [108] Altieri, C., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M. (2011). Prolonging the viability of *Lactobacillus plantarum* through the addition of prebiotics into the medium. *Journal of Food Science*, 76(6), M336-M345.
- [109] Goderska, K., Czarnecka, M., Czarnecki, Z. (2007). Effect of prebiotic additives to carrot juice on the survivability of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* bacteria. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(4), 427-432.
- 
-

## Etil Laurol Arjinat ile Zenginleştirilmiş Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Bahar Demircan<sup>1</sup>  ✉, Özgül Özdehan Ocak<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 06830, Gölbaşı, Ankara

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35000, Bornova, İzmir

*Geliş Tarihi (Received): 19.01.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 26.05.2021*

✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): bdemircan@ankara.edu.tr (B. Demircan)*

☎ 0 312 203 33 00 📠 0 312 317 87 11

### ÖZ

Yenilebilir film ve kaplamalar gıdaları fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik hasarlardan korumanın yanı sıra çeşitli antimikrobiallerin gıda sistemlerinde kullanımında bir taşıyıcı olarak da işlev görmektedir. Literatürde yenilebilir film ve kaplamaların yapısına birçok farklı bileşik eklenerek gıdaların raf ömürlerinin güvenli bir şekilde uzatılması birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır. Son yıllarda ise güçlü ve geniş antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahip olan ve tatsız, kokusuz ve beyaz toz formda olması nedeniyle kullanım kolaylığı sağlayan etil lauroil arjinat ön plana çıkmaktadır. Etil lauroil arjinatın yenilebilir film ve kaplamalara dahil edilerek etkinliğinin incelenmesi nispeten yeni bir çalışma alanı olsa da elde edilen sonuçlar incelendiğinde etil lauroil arjinatın bu sistemlerin hem fiziko-kimyasal hem de antimikrobiyal etkisini önemli ölçüde arttırdığı bilinmektedir. Maddenin yasal kullanım sınırlarının düşük olması, bu ajanın yenilebilir film ve kaplamalar ile birlikte gıda sistemlerine uygulanması hem düşük miktarların gerekliliği hem de yavaş salınımına bağlı olarak etkisinin uzun süreler korunabilmesi önemli avantajlar sunmaktadır. Bu derlemede, etil lauroil arjinat ile zenginleştirilmiş yenilebilir film ve kaplamalar hakkında bilgi verilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Etil lauroil arjinat, Laurik arjinat, Gıda güvenliği, Antimikrobiyal yenilebilir film ve kaplama

### Edible Films and Coatings Enriched with Ethyl Lauroyl Arginate

#### ABSTRACT

Edible films and coatings may function as a carrier for various antimicrobials in food systems besides their protective activity for foods against physical, chemical and microbiological damages. In the literature, many studies have determined the safe extension of the shelf life of foods by adding many different compounds to the structure of edible films and coatings. In recent years, ethyl lauroyl arginate, which has a strong and wide antimicrobial activity spectrum and provides ease of use with its tasteless, odorless and white powder form, has received increased attention. Although the study of the effectiveness of ethyl lauroyl arginate by including itself in edible films and coatings is a relatively new field of study, it is known that it significantly increases both the physico-chemical and antimicrobial effects of food systems. The legal limits of this substance are low, and its application to food systems together with edible films and coatings offers significant advantages due to the requirement of low amounts and the ability to maintain its effect for a long time because of its slow release. In this review, edible films and coatings enriched with ethyl lauroyl arginate are reviewed.

**Keywords:** Ethyl lauroyl arginate, Lauric arginate, Food safety, Antimicrobial edible film and coating

## GİRİŞ

Günümüzde, gıda ambalajlama sistemlerinin çoğu, üretimi son yirmi yılda katlanarak artan petrolden türetilmiş sentetik plastiklere dayanmaktadır [1]. Petrol türevi sentetik plastikler gıda ambalajı için yaygın olarak kullanılsa da, ciddi çevresel etkileri ve yüksek geri dönüşüm maliyetleri mevcut araştırmaları biyo-bazlı/biyo-bozunur gıda ambalaj malzemelerine doğru yönlendirmiştir [2, 3]. Günümüzde, aktif maddeler içeren çok işlevli ambalajlama sistemleri, endüstriyel ürünlerin güvenlik endişelerinin yanı sıra tüketicilerin gıda ambalajlarında geri dönüştürülebilir ve biyolojik olarak parçalanabilir malzemeler kullanma taleplerine yanıt vermek üzere tasarlanmıştır [4].

Gıdanın bozulması ve patojen bulaşması genellikle gıda yüzeyinde başlamaktadır. Bu nedenle, işlemlerden sonra gıda yüzey işlemleri ve ambalajlama, gıda kalitesini ve güvenliğini korumak için kritik adımlardır [5]. Hem tüketici beklentisini karşılamak hem de gıda güvenliği sağlamak amacıyla geliştirilen teknolojiler arasında selüloz, aljinat, karragenan ve kitosan gibi yenilebilir veya biyolojik olarak parçalanabilir ambalaj malzemeleri üretmek için yenilenebilir kaynakların kullanımı ürün kalitesini artırmanın yanı sıra atık bertaraf sorunlarını da azaltmanın etkili bir yolu olarak ön plana çıkmaktadır [6, 7].

Yenilebilir filmler ve kaplamalar, polisakaritler, proteinler ve lipitler gibi çeşitli kaynaklardan elde edilebilir. Genel olarak, lipitler nem geçişini azaltmak için, proteinler mekanik stabilite sağlamak için ve polisakaritler ise oksijen ve diğer gaz geçişlerini kontrol etmek için kullanılmaktadır [8-10]. Bu yapılar nem ve oksijen transferine ve lipid oksidasyonuna seçici engeller sağlayarak ve antimikrobiyal ajanların taşıyıcıları olarak hareket ederek gıda kalitesini ve güvenliğini artırmaktadır [11]. Antimikrobiyal ajanların yapıya dahil edildiği yenilebilir film ve kaplamaların özellikleri, gıda bozulmasını yavaşlatan aktif bileşiklerin salımını kontrol etmeleri ile ilgilidir [12]. Antimikrobiyal yenilebilir film ve kaplamalar, antimikrobiyal bileşiğin gıda yüzeyine difüzyonunu kontrol etmenin bir yoludur [13]. Literatürde uçucu yağlar, probiyotik bakteriler, bakteriyosinler, organik asitler, polipeptitler ve yağ asidi esterleri gibi potansiyel olarak yenilebilir film ve kaplamalara dahil edilebilecek çeşitli aktif bileşik kategorileri tanımlanmıştır [14-18]. Her ne kadar doğal bileşenlere olan yönelim daha fazla olsa da sentetik fakat çok güçlü bir antimikrobiyal madde olan etil lauroil arjinat (LAE) son yıllarda birçok araştırmacı tarafından odak noktası olmuştur [14, 19-23]. LAE, filmlerin ve kaplamaların işlevselliğini geliştirmek için farklı polimer matrislerine dahil edilmiştir [21, 24, 25]. LAE'nin bu şekilde uygulanması ile yenilebilir film ve kaplamaların aktif bileşiği aşamalı bir şekilde salma kapasitesi, gıda formülasyonuna aktif maddenin doğrudan eklendiği geleneksel ambalajlama sistemlerine göre önemli avantajlar sunmaktadır [14].

Bu derlemede LAE'nin farklı yenilebilir film ve kaplamaların formülasyonuna dahil edilmesi, LAE'nin bu

yapıların işlevselliği üzerindeki etkileri ve bu konuda yapılmış güncel çalışmalar ile sonuçları ele alınmıştır.

## ANTİMİKROBİYAL YENİLEBİLİR FİLM ve KAPLAMALAR

Yenilebilir filmler tüketilebilen, ancak neme, oksijene ve çözünen maddelere engel oluşturan bir malzeme tabakası olarak tanımlanmaktadır [26]. Yenilebilir filmler ile gıda ambalajında kullanılan diğer polimerler arasındaki temel fark, yenilebilir filmlerin gıda ürünleriyle birlikte tüketilebilmesidir. Çeşitli antimikrobiyal maddelerin yenilebilir film ve kaplamalara dahil edilmesi, uzun yıllardır büyük ilgi görmektedir. Çünkü bu kullanım, gıda kaynaklı ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişimini kontrol ederek veya önleyerek gıda ürünlerinin güvenliğini ve kalitesini artırmaktadır [27].

Yenilebilir kaplamalar biyo-uyumluluk, estetik görünüm, bariyer özellik, toksik olmama ve düşük maliyet avantajlarına sahiptir [28, 29], ayrıca yenilebilir ambalaj malzemelerinin ortaya çıkan önemli işlevlerinden biri de ambalajlanmış gıdaya ek besleyici ve sağlık yararları sağlayabilen farklı işlevsel katkı maddelerinin bir matris ve taşıyıcı olarak kullanılmasıdır [30]. Genellikle, farklı antimikrobiyal ve antioksidan maddeler, prebiyotikler veya diğer besinler, ambalajlanmış gıdanın raf ömrünü uzatmak ve/veya besin değerini artırmak için yenilebilir matrislere eklenmektedir [31]. Literatürde filmlerin yapısal, mekanik ve işlevsellik özelliklerini geliştirmek veya kaplamaya ek özellikler sağlamak için bu yapılara çeşitli maddelerin dahil edilmesini konu alan farklı çalışmalar bulunmaktadır [32-36]. Araştırmacılar tarafından en yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal maddeler arasında organik asitler (asetik, benzoik, sitrik, fumarik, laktik, malik, propiyonik, sorbik, süksinik ve tartarik asit), polipeptidler (lizozim, peroksidaz, laktoferrin, nisin) ve uçucu yağlar (kekik, limon otu, tarçın, çay ağacı, karanfil, yenibahar, kekik, nergis, fesleğen, biberiye, bergamot, adaçayı, sarımsak) yer almaktadır [37-44].

Doğrudan aktif bileşenin gıdaya ilavesi, antimikrobiyalın gıda matrisine hızlı yayılmasına ve ürün bileşenleri ile etkileşim yoluyla kısmi inaktivasyonuna neden olabilmektedir. Alternatif olarak, antimikrobiyal yenilebilir film ve kaplamalar, antimikrobiyal ajanların yapıdan gıda yüzeylerine yavaş ve sürekli salınmasını sağlamaktadır, böylece depolama ve dağıtım sırasında antimikrobiyal gıda yüzeyinde yoğunlaşarak yeterli bir konsantrasyonu muhafaza edebilmektedir [45-47]. Yenilebilir film ve kaplamalara dahil edilen çok çeşitli antimikrobiyal katkı maddeleri, raf ömrünü arttırmasından dolayı gıda ürünlerine de değer katan sistemlerdir [12, 27].

## ETİL LAUROL ARJİNAT

Etil lauroil arjinat (LAE,  $C_{20}H_{40}N_4O_3 \cdot HCl$ , molekül ağırlığı 421.0 Da), 1983 yılında İspanya'da patentlenen ve günümüzde ticari olarak Vedeqsa Lamirsa Group tarafından üretilen bir katyonik yüzey aktif maddedir [48]. Aktif bileşeni etil- $N^a$ -laurol-L-arjinat hidroklorür olan bu madde, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (U.S. Food and

Drug Administration, FDA) tarafından gıda uygulamalarında genel olarak güvenli (Generally recognized as safe, GRAS) olarak onaylanmıştır [49-51]. Bu madde literatürde etil lauroil arjinat hidroklorür, laurik arjinat etil ester, lauramid arjinin etil ester, LAE, INS No. 243, EC No. 434-630-6 ve E243 gibi farklı şekillerde ifade edilmektedir [49]. LAE'nin erime noktası 40-43°C'dir ve oda sıcaklığında beyaz toz formdadır. LAE'nin suda çözünürlüğü 20°C'de >247 g/kg'dır ve ticari LAE ürünleri kullanım kolaylığı için propilen glikol ve gliserol gibi gıda sınıfı bir çözücü içinde %20-25 LAE içeren sıvı formülasyonlar halinde bulunmaktadır [52, 53].

LAE, 2005 yılında FDA tarafından antimikrobiyal koruyucu olarak et, kümes hayvanları ve peynir gibi gıda ürünlerinde maksimum 200 mg/kg (ppm) [54], 2007 yılında ise Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority, EFSA) tarafından maksimum 225

mg/kg kullanımda GRAS olarak onaylanmıştır [53]. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde ise aşağıdaki başlıklarda yer almaktadır;

- EK II - Gıdalarda Kullanılmasına İzin Verilen Gıda Katkı Maddelerinin Listeleri ve Kullanım Koşulları
  - BÖLÜM B - Tüm Katkı Maddelerinin Listesi
    - Renklendiriciler ve tatlandırıcılar dışındaki katkı maddeleri kısmında "E 243" kodu ile,
  - BÖLÜM E - Gıda Kategorilerinde İzin Verilen Gıda Katkı Maddeleri ve Kullanım Koşulları
    - Isıl işlem görmüş et ürünleri kısmında "kavurma, emülsifiye edilmiş sosler, tütülenmiş sosler ve ciğer ezmesi hariç maksimum kullanım limiti 160 mg/L veya mg/kg" olarak belirtilmiştir.

LAE'nin Tablo 1'deki kategorilerde belirtilen maksimum seviyelere kadar kullanılması önerilmektedir [53].

Tablo 1. Gıdalarda etil lauroil arjinatın önerilen kullanım seviyeleri [53]

*Table 1. Recommended levels of use of ethyl lauroil arginate in food [53]*

Gıda kategorisi	Etil Lauroil Arjinat (mg/kg)
Meyve suları içeren alkolsüz aromalı içecekler	115
Enerji ve spor içecekleri	115
Meyve suyu bazlı konsantreler	180
Tuzlu kurutulmuş balık	225
Et ürünleri (sadece ısıtılmış işlem görmüş, marine edilmiş ve kurutulmuş et ürünleri)	225
Pizzalar veya benzeri ürünlerin dolgu malzemeleri	225
Rehidre olmuş baklagiller	225
Balık yumurtası ürünleri (Mersin balığı yumurtaları)	225
Hazır salatalar	225

LAE'nin en öne çıkan özelliği çok güçlü bir antimikrobiyal madde olmasıdır ve antimikrobiyal etkinliği birçok çalışmada farklı matrislerin ve gıda sistemlerinin yapısında incelenmiştir [55-64]. LAE'nin geniş bir mikroorganizma spektrumunu inhibe ettiği bilinmektedir. Farklı mikroorganizmalara karşı LAE'nin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) Tablo 2'de verilmiştir. LAE inhibisyon sağlamanın yanı sıra mikroorganizmalar üzerine bakterisidal etki de göstermektedir. *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* ve *Zygosaccharomyces bailii* üzerine LAE'nin minimum bakterisidal konsantrasyonu sırasıyla 23.5, 11.8, 23.5, 25, 50, 100, 35, 112.5 ve 62.5 ppm olarak belirlenmiştir [52, 55, 65]. Ek olarak biyofilm oluşturan bakterilerin inhibisyonunda da LAE'nin etkili olduğu farklı araştırmalarda ortaya konmuştur [66-69].

Gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere, küflere ve mayalara karşı geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahip olan LAE ayrıca, hem antimikrobiyal aktivitesini hem de gıda sistemlerine uygulandığında antimikrobiyal özelliklerini etkileyen anyonik gıda bileşenleri ile bağlanma kabiliyetini belirleyen pozitif bir yük taşımaktadır [70]. Fakat yapıdaki pozitif yükün varlığı ile doğrudan ilişkili olduğu bilinen antimikrobiyal aktivite mekanizması hala tam olarak karakterize edilememiştir. Bu konuda araştırmacılar bakteriyel

zarların LAE'nin ana hedefi olduğu noktasında ortak bir görüş bildirmektedir [49]. Katyonik yapı aynı zamanda LAE'nin 50 ppm'den daha yüksek bir konsantrasyonda kullanımında acı bir tat oluşumuna da neden olabilmektedir [71] ancak LAE'nin gıda ürünlerinin duyu özellikleri üzerindeki etkisini değerlendiren çalışmalar çok sınırlıdır [60, 72, 73].

LAE'nin toksikolojisi de birkaç çalışmada incelenmiştir. Hawkins ve ark. [74], gıdalarda kullanım için yeni bir antimikrobiyal ajan olan LAE'nin insan metabolizmasındaki rolünü ve farmakokinetiğini hem in vitro hem de in vivo teknikler kullanarak araştırmışlardır. Araştırmacılar LAE'nin 4 saat içinde lauroil arjinine kolayca hidrolize edildiğini belirlemişlerdir. Çalışmada LAE'nin simüle edilmiş mide sıvısında stabil kalırken simüle edilmiş bağırsak sıvısında 1 saat sonra %90'ından fazlasının arjinin ile lauroil arjinine hidrolize edildiği bulunmuştur. Öte yandan LAE 1.5 mg/kg ve 2.5 mg/kg doz seviyelerinde insanlara uygulanmış ve insanlarda LAE'nin doğal olarak oluşan diyet bileşenleri laurik asit ve arjinine hızla metabolize edildiği sonucuna varılmıştır [74]. Ruckman ve ark. [75], LAE'nin düşük akut toksisite gösterdiğini belirlemişlerdir. LAE'nin hafif dermal tahriş edici olmasının yanı sıra ciddi bir göz tahriş edici olduğu da bildirilmiştir. Araştırmacılar, LAE ile yapılan metabolizma çalışmaları sonucunda etil ester ve lauroil amid fonksiyonlarının hidrolizi ile LAE'nin amino asit arjininine hızla metabolize edildiğini kanıtlamışlardır. Arjininin ise daha sonra doğal olarak

oluşan üre döngüsüne girdiğini ve burada ornitin ve üreye ve sonrasında CO<sub>2</sub>'ye metabolize edildiği belirtilmiştir. LAE bölünmesinin diğer ürünü ise birçok bitki kaynağında bulunan ve bu nedenle normal yağ asidi metabolizmasına girecek bir insan diyet bileşeni olan laurik asit olduğu belirlenmiştir [75]. Mevcut tüm

toksikoloji verilerini gözden geçirdikten sonra EFSA, bir kişinin ortalama vücut ağırlığının 60 kg olduğunu varsayarak, 0.5 mg LAE/kg vücut ağırlığı değerinde bir kabul edilebilir günlük alım (Acceptable Daily Intake, ADI) değeri belirlemiştir. Bu değerler bazında ADI değeri 30 mg/kişi düzeyindedir [76].

Tablo 2. Etil lauril arjinatın çeşitli mikroorganizmalar üzerindeki MİK değerleri (ppm)

Mikroorganizma	MİK (ppm)	Referans
<i>L. monocytogenes</i> Scott A	11.8	
<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43895	11.8	[57]
<i>S. enteritidis</i>	23.6	
<i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>L. innocua</i> DSMZ 20649, <i>S. enterica</i>	25	
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	12.5	[55]
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	100	
<i>L. monocytogenes</i> 10403S	40	
<i>L. monocytogenes</i> 2045	50	
<i>L. innocua</i>	60	
<i>L. innocua</i> M1	80	[56]
<i>Salmonella typhimurium</i>	200	
<i>Salmonella heidelberg</i>	200	
<i>S. enterica</i> ATCC BAA-708 ve ATCC BAA-709	256	
<i>S. enterica</i> ATCC BAA-710	128	[77]
<i>L. monocytogenes</i>	25	[78]
<i>S. cerevisiae</i>	20	
<i>C. albicans</i>	50	[65]
<i>Z. bailii</i>	30	
<i>Aspergillus flavus</i> CECT 2949	400	[79]

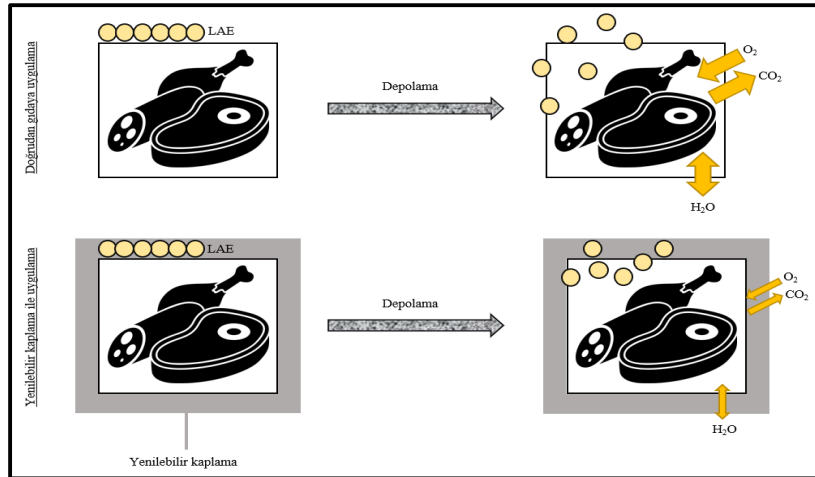
## LAE'NİN YENİLEBİLİR FİLM ve KAPLAMALARDA KULLANIMI

LAE'nin önceki bölümlerde anlatılmış olan üstün özellikleri, gıda ürünlerinin güvenliği ve kalitesini geliştirmek amacıyla LAE'nin kullanımına büyük bir ilgi uyandırmıştır [49]. LAE'nin ambalaj filmlerinde antimikrobiyal bir bileşik olarak dahil edilmesi çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir ancak bu filmlerin gerçek gıda sistemlerinde kaplama olarak uygulanmasıyla ilgili sınırlı bilgi mevcuttur [14, 80-82].

LAE'nin gıdaya doğrudan uygulanması ile karşılaştırıldığında, yenilebilir kaplamalara dahil edilerek uygulanması, gıdanın organoleptik özelliklerini

etkilemeden fonksiyonel etki sağlayabilmektedir. Şekil 1'de görüldüğü üzere yenilebilir kaplamalar, gıdaların yüzeyinde yarı geçirgen bir bariyer olarak yer aldığından katkı maddesinin kontrollü salınımı sağlayarak koruyucu etkiyi uzun bir süre sağlayabilmektedir [83].

Son yıllarda LAE katkılı yenilebilir filmlerin üretimi ve LAE katkılı kaplamaların gıda ürünlerine uygulanmasını içeren çalışmalar yapılmaktadır. Gıda ürünlerine yenilebilir kaplama uygulanmasından önce yenilebilir filmlerin karakterizasyonunun yapılması son derece önemlidir. Bu bağlamda farklı araştırmacılar tarafından geliştirilmiş LAE katkılı farklı biyopolimer bazlı yenilebilir filmler Tablo 3'te ve yenilebilir kaplamalar Tablo 4'de verilmiştir.



Şekil 1. LAE'nin gıdalara doğrudan ve yenilebilir kaplama ile uygulanmasının şematik gösterimi  
Figure 1. Schematic illustration of direct application of ethyl lauril arginate to foods with edible coating

Tablo 3. Etil lauroil arjinat katkılı geliştirilmiş antimikrobiyal yenilebilir filmler

*Table 3. Developed antimicrobial edible films with ethyl lauroil arginate*

Film ana bileşeni	LAE ilavesi (ağırlık/hacim)	Sonuç	Referans
Kitosan	%0.1 LAE	Gelişmiş fiziko-kimyasal özellikler, yüksek antioksidan aktivite ve toplam mezofilik aerobik bakteri popülasyonu üzerinde yüksek inhibisyon	[14]
Zein	%5 ve %10 LAE	Morfolojik, optik, termal, mekanik ve bariyer özellikleri üzerinde önemsiz etki ve LAE'nin artan sıcaklıkla salım hızının artması	[21]
Zein	%5 ve %10 LAE	Mekanik ve su buharı geçirgenliği üzerinde önemsiz etki ve <i>E. coli</i> ve <i>L. monocytogenes</i> üzerinde yüksek inhibisyon	[25]
Nişasta	%2 ve %4 LAE	<i>Salmonella saintpaul</i> üzerinde tam inhibisyon	[84]
Etilen vinil alkol kopolimeri	%5 ve %10 LAE	<i>L. monocytogenes</i> ve <i>E. coli</i> üzerinde yüksek inhibisyon	[85]
Pullulan	%0.5, %1 ve %2.5 LAE	Gelişmiş fiziksel ve mekanik özellikler ve patojenler üzerinde yüksek inhibisyon	[86]
Nişasta-jelatin	%1.3 LAE	<i>L. innocua</i> 'ya karşı bakterisidal etki	[87]
Nişasta-jelatin	%0.1 LAE	<i>L. innocua</i> ve <i>E. coli</i> 'ye karşı bakterisidal etki	[88]
Kitosan	%1, %5 ve %10 LAE	Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere, mayalara, küflere ve mantarlara karşı yüksek antimikrobiyal etki	[24]
Kitosan-jelatin	%0.1 LAE	<i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> ve <i>Campylobacter jejuni</i> 'nin gelişimi üzerinde yüksek inhibisyon	[89]
Kitosan	%0.1 ve %0.2 LAE	Gelişmiş antimikrobiyal aktivite	[90]
Kitosan	%0.5 ve %1 LAE	Gelişmiş su buharı geçirgenliği ve mekanik özellikler	[82]
Poli(laktik asit)	%1 LAE	<i>L. innocua</i> , <i>E. coli</i> ve <i>Salmonella</i> spp. üzerinde yüksek inhibisyon	[91]
Jelatin	%0.8 LAE	<i>S. typhimurium</i> ve <i>Vibrio parahaemolyticus</i> üzerinde yüksek inhibisyon	[92]
Jelatin	%0.5, %1, %5 ve %10 LAE	Gelişmiş pH, yüzey gerilimi, çözünürlük, nem içeriği ve dayanıklılık	[93]

Tablo 4. Etil lauroil arjinat katkılı geliştirilmiş antimikrobiyal yenilebilir kaplamalar

*Table 4. Developed antimicrobial edible coatings with ethyl lauroil arginate*

Kaplama formülasyonu	Kaplanan gıda ürünü	Referans
Kitosan-LAE	Çilek	[96]
Kitosan-nişasta-LAE	Papaya	[97]
Kitosan-LAE-Sitrik asit	Taze kesilmiş elma	[98]
Kitosan-LAE-montmorillonit	Üzüm	[99]
Pektin-aljinat-LAE	Taze yumurta	[100]
Kitosan-LAE	Tavuk göğsü filetoları	[24]
Pullulan-LAE	Çiğ hindi göğsü, jambon, çiğ sığır eti	[101]
Pullulan-LAE	Çiğ sığır eti, çiğ tavuk göğsü, hindi göğsü	[86]
Mısır nişastası-sığır jelatini-LAE	Marine edilmiş somon balığı	[87]
Jelatin-LAE	Levrek ve karides	[92]

Gıda ürünlerine uygulandığında, LAE ile yağ, polisakkarit ve protein gibi gıda bileşenleri arasındaki etkileşimler LAE'nin antimikrobiyal aktivitesini düşürebilmektedir [57, 94]. Katyonik bir yapıda olan LAE ayrıca pektin, aljinat, karragenan ve ksantan gibi anyonik polisakkaritlerle de bağlanma eğilimindedir [19, 95].

Literatürde LAE'nin farklı yenilebilir film ve kaplama formülasyonlarına dahil edilmesini konu alan güncel çalışmalar aşağıda özetlenmiştir:

Higuera ve ark. [24], antimikrobiyal bileşik olarak LAE (%1, 5, 10) içeren kitosan filmleri gıda ambalajlama uygulamaları için geliştirmişlerdir. LAE ilaveli kitosan filmler şeffaf ve tekdüze olarak değerlendirilerek kitosan ve kitosan-LAE filmler arasında hiçbir görsel farklılık belirlenmemiştir. Sulu gıda benzeri bir ortamda incelendiğinde LAE 4 ve 28°C'de bir kaç saat için

tamamen serbest bırakılmıştır. Filmlerin mezofiller, psikrofiller, *Pseudomonas* spp., koliformlar, laktik asit bakterileri, hidrojen sülfid üreten bakteriler, maya ve küflere karşı antimikrobiyal aktivitesi, tavuk göğsü filetolarında incelenmiştir. Kitosan filmler 0.47-2.96 log indirgeme aralığında antimikrobiyal aktivite gösterirken, kitosan-%5 LAE filmleri 1.78-5.81 log indirgeme göstermiştir. Araştırmacılar kitosan bazlı bir ambalaj yapısına LAE dahil edilmesinin, taze kümes hayvanı ürünlerinin tazeliğini ve stabilitesini arttırabileceğini belirtmişlerdir [24].

Pattanayaiyng ve ark. [101], %2 LAE ve nisin Z içeren pullulan filmleri tek başına veya kombinasyon halinde, soğuk depolamada kaslı gıdalarda patojenleri kontrol etmek için kullanmışlardır. Yalnız LAE eklenmiş filmle sarılan çiğ hindi göğsü dilimlerinde *S. typhimurium* ve *S. enteritidis* için sırasıyla 2.5 ve 4.5 log kob/cm<sup>2</sup> indirgeme gözlenirken; LAE'nin nisin Z ile kombinasyonu şeklinde

oluşturulmuş filmle sarılan örneklerde sırasıyla 3.5 ve 5.1 log kob/cm<sup>2</sup> indirgeme gözlenmiştir. LAE'nin nisin Z ile birlikte kullanıldığı film jambon yüzeylerinde *S. aureus* ve *L. monocytogenes* için sırasıyla 5.53 ve 5.62 log kob/cm<sup>2</sup> indirgeme sağlamıştır. *E. coli* O157: H7 popülasyonu, kombinasyon filmi ile işlendikten sonra çiğ siğir dilimleri üzerinde 4 log kob/cm<sup>2</sup> oranında azaltılmıştır. Araştırmacılar, LAE ve LAE-nisin Z içeren pullulan filmlerinin taze ve işlenmiş kaslı gıda ürünlerinde gıda kaynaklı patojenlere karşı mükemmel inhibisyon sergilediğini vurgulamışlardır [101].

Kashiri ve ark. [21], LAE'nin zein matrisine dahil edilmesine dayanan yeni antimikrobiyal biyopolimer filmler üretmiş ve aktif gıda ambalajı kapsamında filmlerden LAE'nin kontrollü salımını incelemiştir. LAE'nin %5 ve 10'luk oranlarda biyopolimer matrisine eklenmesi filmlerin morfolojik, optik, termal, mekanik ve bariyer özelliklerinde değişikliklere neden olmamıştır. Filmlerin etki mekanizması esas olarak antimikrobiyal salımına dayandığından, bu çalışmada aktif biyofilmler 4, 23 ve 37°C'de su, %3 asetik asit ve %10 alkol ortamlarında karakterize edilmiştir. Çalışma sonuçları, LAE'nin %80'inden fazlasını salınan 4°C'de su ortamı dışında, LAE'nin neredeyse tüm koşullarda tamamen ekstrakte edildiğini ortaya koymuştur. LAE salımının daha yüksek sıcaklıklarda daha hızlı olduğu ve difüzyon katsayısı değerlerinin de sıcaklıkla arttığı belirtilmiştir. Filmlerin antibakteriyel aktivitesi *L. monocytogenes* ve *E. coli*'ye karşı test edilmiş ve %5 LAE içeren zein filmlerinin 4°C'de 5 günlük depolamadan sonra *L. monocytogenes* ve *E. coli*'ye karşı sırasıyla 2.02 ve 3.07 log azalma sağladığı gözlenmiştir. Sıcaklığın 37°C'ye yükselmesi ile %10 LAE içeren filmlerde daha fazla antibakteriyel aktivite (5 log azalma) gözlenmiştir. Araştırmacılar yenilebilir polimer malzemelerle yapılan bir ambalaj filmine LAE'nin dahil edilmesinin gıdalardaki bakteriyel kontaminasyonun kontrolü için etkili bir yaklaşım olabileceğini öne sürmüştür [21].

Ma ve ark. [90], LAE, tarçın yağı (CO) ve EDTA ilaveli kitosan filmlerinin fiziksel ve antimikrobiyal özelliklerini değerlendirmişlerdir. LAE ve CO kombinasyonunun Gram pozitif bakteriler üzerinde sinerjik antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ancak gram negatif bakteriler üzerinde antagonistik etkiye neden olduğu belirtilmiştir. Formülasyona dahil edilen EDTA ise LAE'nin aktivitesini arttırmıştır. Antimikrobiyal eklenen kitosan filmlerinin kalınlığının değişmediği, sarılık değerinin ve su buharı geçirgenliğinin arttığı belirtilirken, CO konsantrasyonu arttıkça suda çözünürlüğün azaldığı belirtilmiştir. Mekanik dayanımda antimikrobialların dahil edilmesi kopma mukavemetini düşürmüştür fakat kopma anında uzama yüzdesini etkilememiştir. Antimikrobiyal içeren filmlerde daha büyük inhibisyon bölgeleri tespit edilmiştir. EDTA'nın eklenmesi LAE'li filmlerin antimikrobiyal aktivitesini artırırken CO ilavesi filmde ortama salınan LAE miktarını azaltmıştır. Araştırmacılar LAE, CO ve EDTA içeren antimikrobiyal filmlerin gıda ürünlerinin güvenliğini geliştirmede potansiyel gösterebileceğini vurgulamışlardır [90].

Rubilar ve ark. [82], kitosan filmlerinin su buharı geçirgenliğini ve mekanik özelliklerini geliştirmek için bir

nanokil (Cloisite®30B) (0, 5, 10 g/L) ve bir antimikrobiyal ajan olarak LAE (0, 0.5, 1 g/L) kullanmışlardır. LAE ve/veya nanokil içeren ve içermeyen tüm filmler esnek ve yarı şeffaf olarak elde edilmişken, nanokil veya LAE'nin varlığı gerilme ve delinme mukavemetini arttırmıştır. En yüksek LAE ve/veya nanokil konsantrasyonları ile elde edilen filmlerin mekanik özellikleri (gerilme ve delinme mukavemetleri ve kopma anında uzama) gelişmişken; suda çözünürlük ve su buharı iletim hızı azalmıştır. Araştırmacılar biyoaktif fonksiyona sahip doğal biyopolimer bazlı ambalaj malzemesinin geliştirilmesinde nanoteknolojinin de uygulanabilirliğini vurgulamışlardır [82].

Guo ve ark. [96], gıda kaynaklı patojen popülasyonlarını azaltmak için alil izotiyosiyanat (AIT) ve LAE katkılı kitosan filmler ve kaplamaların kullanımını araştırmışlardır. *L. innocua* üzerinde %1 AIT'li kaplamalar ve filmlerin, kültür ortamında (Tryptic soy broth, TSB), et ve çilekte sırasıyla 5, 2 ve 3 log kob'ın üzerinde inhibisyon sağladığı belirlenmiştir. *E. coli* ve *Salmonella* spp. popülasyonları üzerinde %1 LAE içeren kaplama ve filmlerin ise TSB ve çilekte sırasıyla 5 ve 2 log kob'dan fazla inhibisyon sağladığı belirlenmiştir. Araştırmacılar, çeşitli gıdalarda patojenik mikroorganizmaları azaltmak için antimikrobiyal materyal olarak LAE ve AIT'in etkili olabileceği sonucuna varmışlardır [96].

Moreno ve ark. [87], mısır nişastası ve siğir jelatinine dayalı 1.3 g LAE (a/a) ilaveli antimikrobiyal filmleri karakterize ederek filmlerin marine edilmiş somon balığında mikrobiyal gelişimi kontrol etmedeki etkinliğini incelemişlerdir. Çalışmada, LAE ilaveli filmlerin renklerinde kararmalar gözlenmiştir. Tüm film formülasyonları in vitro testlerde antilisterial aktivite sergilemiştir. Bu filmler ile ambalajlanan marine edilmiş somon numunelerinde 5°C'de 45 gün depolamadan sonra toplam canlı sayımları yasal sınırın altında kalarak büyük ölçüde azalmış ve ürünün raf ömrünü uzatmıştır. Ancak filmler yetersiz su buharı bariyeri özellikleri nedeniyle ağırlık kaybını kontrol etmede etkili olmamıştır. Özellikle LAE ilaveli filmler *L. innocua*'ya karşı in vitro bakterisidal etki göstermişken; somon balığı üzerinde etki daha az gözlenmiştir. Araştırmacılar, uzun bir depolama süresi boyunca marine edilmiş somon balığının kalitesini korumak için yüksek su buharı bariyer tabakası içeren çok katmanlı bir filmin gerekli olabileceğini vurgulamışlardır [87].

Moreno ve ark. [88], LAE (polimer:LAE=1:0.1) ilaveli nişasta-jelatin filmlerinin fonksiyonel özelliklerini değerlendirmişlerdir. Filmlerde çapraz bağlanma etkisinin zaman içindeki değişimini değerlendirmek için ise 5 haftalık depolamadan sonra gerilme ve optik özellikleri ile su buharına karşı bariyer kapasitesini analiz etmişlerdir. Sodyum periyodat ile nişasta oksidasyonu filmlerin mukavemetini ve bariyer kapasitesini arttıran çapraz bağlanmayı geliştiren, Maillard reaksiyonları filmin kararmasına neden olmuştur. LAE ilaveli tüm filmler *L. innocua* ve *E. coli*'ye karşı bakterisidal etki göstermiş fakat LAE içermeyen filmler Maillard bileşiklerinin antimikrobiyal özelliklerinden dolayı her iki bakterinin gelişmesini 1-2



log kob/g inhibe etmiştir. Araştırmacılar LAE içeren nişasta ve jelatin karışımı filmlerinin gıda ambalajlama uygulamaları için umut verici malzemeler olduğu sonucuna varmışlardır [88].

Ochoa ve ark. [84], mısır nişastası bazlı LAE (400, 2000, 4000 mg/L) ve/veya natamisin (80, 400, 800 mg/L) katkı yenilebilir filmler geliştirmişlerdir. *Rhizopus stolonifer*, *Colletotrichum gloeosporioides* ve *Botrytis cinerea*'daki LAE'nin minimum fungusidal konsantrasyonu (MFK) 800 mg/L ve natamisin'in MFK'si 160 mg/L olarak tespit edilmiştir. LAE'nin 100 mg/L'de kullanılması ile diğer suşlardan daha dirençli olan *S. saintpaul*'un tam inhibisyonunu sağladığı gözlenmiştir. Araştırmacılar LAE'nin bakteri ve küflere karşı etkili olduğunu, natamisinin ise sadece küf gelişimini kontrol ettiğini bildirmiştir. Ayrıca, LAE ve natamisinin tek başına kullanılmasının yanı sıra bir arada kullanılmasının (2000 mg/L LAE+400 mg/L natamisin) bozulmaya neden olan küfler ve patojen bakterilerin tamamen inhibisyonunda etkili olduğu rapor edilmiştir [84].

De Leo ve ark. [100], taze yumurtaların raf ömrünü ve 7°C'de 42 gün depolama sırasında fiziko-kimyasal özelliklerini değiştirmeden *S. enteritidis* kontaminasyonunu önlemek için pektin-aljinat (PA) ve pektin-aljinat-LAE (PAL) kaplamalarının kullanım potansiyelini araştırmışlardır. PA ve PAL kaplamaların fiziko-kimyasal özelliklere önemli bir etkisi olmadığı; PA ve PAL kaplamaları uygulanan yumurta kabuklarının kaplanmamış kabuklara kıyasla önemli ölçüde daha düşük bir mikrobiyal popülasyon gösterdiği belirlenmiştir. PA ve PAL kaplamaların sırasıyla 1 ve 7 günlük depolamadan sonra *Salmonella*'nın gelişimini etkili bir şekilde inhibe ettiği ve 42 güne kadar herhangi bir gelişme gözlenmediği rapor edilmiştir [100].

Escamilla-García ve ark. [97], papayanın raf ömrünü uzatmak için 3.750 µg/mL nisin ve 0.0625 mg/mL LAE içeren bir kitosan-nişasta (3:1 a/a) kaplaması geliştirmiştir. Bu kaplama, oda sıcaklığında tutulan papayanın raf ömrü üzerinde olumlu bir etki göstererek, kaplanmamış meyvelere göre daha uzun süre boyunca özelliklerini korumuştur. Kaplama, meyvenin sıklığının sağlanmasına yardımcı olarak kaplanmamış papayanın 5 gün sonra son olgunlaşma aşamasına ulaşırken, kaplanmamış meyvenin ise oda sıcaklığında 15 gün sonra bu aşamaya ulaştığı gözlenmiştir. Papaya meyvesinin fermantasyonuna özgü uçucu bileşenler (etil butanoat gibi) kaplanmamış örneklerde 5 gün sonra ortaya çıkarken, kaplanmamış örneklerde 10 gün sonra oluşmuştur. Yenilebilir kaplamalar meyve yüzey görüntülerinde daha iyi homojenlik göstermiştir. Kaplanmamış meyvelerde mikrobiyal popülasyon azalırken, kaplanmamış papayalarda tam tersi durum gözlenmiştir. Başlangıçta papaya meyvesinin yüzeyinde 35 kob/g toplam koliform, 548 kob/g mezofilik aerobik bakteri, 239 kob/g maya belirlenmiş ve küf belirlenmemiştir. Toplam koliform ve mezofilik aerobik bakteri popülasyonu, kaplamalı papayada ilk 10 günde bir azalma sergilerken kaplanmamış papayada artış sergilemiştir ve 15 günlük depolama sonunda kaplanmamış papayada küf popülasyonu 0.3 log kob/g, kaplanmamış papayada 2.06 log kob/g düzeyinde tespit edilmiştir. Kaplanmamış

papayalarda depolama sonunda maya popülasyonu 5 log kob/g gözlenirken, kaplanmamış papayalarda 2 log kob/g gözlenmiştir. Araştırmacılar bu kaplamanın papayada uzun ve güvenli bir raf ömrünü mümkün kıldığını rapor etmişlerdir [97].

Sun ve ark. [99], montmorillonit ve LAE içeren kitosan (CML) kaplamaların 4°C'de 20 gün depolanan üzümün kalite ve raf ömrü üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. CML kaplamalarının üzümdeki ağırlık kaybını, solunumu ve çürüme belirtilerini ve ayrıca toplam aerobik bakteri, maya, küf ve laktik asit bakterilerinin sayılarını etkili bir şekilde azalttığı gözlenmiştir. CML kaplamaları ayrıca poligalakturonaz, pektin metil esteraz ve polifenol oksidazın azalmış aktivitelerine bağlı olarak doku yumuşamasını ve esmerleşmeyi geciktirmede daha iyi etkiler göstermiştir. CML kaplamaları, diğer örneklerle kıyasla üzümün çözünür katı içeriğini ve titre edilebilir asitliği veya pH değerini önemli ölçüde değiştirmemiştir. Bununla birlikte, CML kaplamalar üzümde daha yüksek askorbik asit içeriği ve duyu kalite sağlamıştır. Araştırmacılar, CML kaplamaların mikrobiyolojik güvenliği sağladığını ve minimum düzeyde işlenmiş üzümün beslenme ve duyu kalitesini koruduğunu doğrulamıştır [99].

Haghighi ve ark. [89], biyopolimer olarak kitosan ve jelatin, plastikleştirici olarak gliserol ve antimikrobiyal bileşik olarak LAE kullanarak harman ve çift katmanlı aktif filmler geliştirmişlerdir. Karışım filmlerin, çift katmanlı filmlere göre daha yüksek kopma mukavemetine ve elastik modüle ve daha düşük su buharı geçirgenliğine sahip olduğu belirlenmiştir. Çift katmanlı filmler UV ışığına karşı etkili bariyer olarak değerlendirilmiş ve daha düşük şeffaflık değerleri göstermiştir. LAE (%0.1, h/h) ilavesi filmlerin ağ yapısını etkilememişken *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. typhimurium* ve *C. jejuni*'nin gelişimini tamamen inhibe etmiştir. Araştırmacılar geliştirilmiş fiziksel, mekanik, bariyer ve antimikrobiyal özelliklere sahip gıda paketeleme uygulamaları için LAE ilaveli kitosan ve jelatine dayalı harman ve çift katmanlı biyo-bazlı aktif filmlerin geliştirilmesinin etkili olacağı sonucuna varılmıştır [89].

Kashiri ve ark. [25], LAE içeren zein kaplamaları polipropilen filmlere uygulamak için geliştirmişlerdir. Plastikleştirici olarak gliserol veya oleik asit kullanılmıştır. Aktif madde konsantrasyonunun (%5 ve 10) filmlerin mekanik ve su buharı geçirgenliği özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı belirtilmiştir. Gliserol ile plastikleştirilmiş %10 LAE içeren zein bazlı kaplamalar, patojen bakteriler içeren tavuk çorbası (gerçek gıda sistemi) ile yapılan denemelerde somut olarak çok iyi bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Burada indirgemeler *L. monocytogenes* için 3.47 iken *E. coli* için 5.02 log düzeyinde gözlenmiştir. Oleik asit ile plastikleştirilmiş %10 LAE içeren zein bazlı kaplamalarda *L. monocytogenes* için 8.68, *E. coli* için 8.87 log indirme gözlenmiştir. Araştırmacılar gıda kaynaklı patojenleri kontrol etmek için aktif gıda paketelemede LAE içeren zein kullanımının etkili olabileceğini belirtmişlerdir [25].

Pattanayaiyng ve ark. [92], deniz ürünlerinde gıda kaynaklı patojenleri kontrol etmek için LAE (0.8 mg/cm<sup>2</sup>) ve/veya Nisin Z (69.4 AU/cm<sup>2</sup>) içeren jelatin (%15, h/h) filmler geliştirmişlerdir. Filmler ile 28 gün +4°C ve 90 gün -20°C depolamada iri göz levrek (*Lutjanus lineolatus*) ve kaplan karides (*Penaeus monodon*) dilimlerinde *V. parahaemolyticus* ve *S. typhimurium*'in gelişimi incelenmiştir. LAE ilaveli film *S. typhimurium*'un gelişimini 4°C'de 28 gün sonra 3.2 log kob/g; Nisin ilaveli film ise 3.5 log kob/g azaltmıştır. İri göz levrek dilimlerinde 4°C 28 gün depolamada *V. parahaemolyticus* için sadece LAE içeren film 2.6 log kob/g indirgeme sağlarken, nisin-LAE içeren film 4.2 log kob/g indirgeme sağlamıştır. Her iki film de *V. parahaemolyticus*'u kaplan karidesi dilimlerinde 4°C 28 gün depolamada 7.1 log kob/g indirgemıştır. LAE ve nisin içeren filmler -20°C'de 60 gün sonra her iki gıdada da *S. typhimurium*'u sırasıyla 5.8 ve 5.6 log kob/g indirgemıştır. Araştırmacılar elde edilen sonuçlara dayanarak soğutulmuş ve dondurulmuş deniz ürünlerinde *S. typhimurium* ve *V. parahaemolyticus*'a karşı mükemmel inhibisyon sergilediğini belirtmişlerdir [92].

Demircan ve Özdestand Ocak [14], LAE (%0.1 a/h) ve limon esansiyel yağı (%1 h/h) katkılı kitosan (%2 a/h) bazlı yenilebilir filmlerin fiziko-kimyasal, mekanik ve morfolojik özelliklerini incelemişler ve katkılarının kitosan filminin özelliklerini geliştirdiği ve/veya iyileştirdiğini saptamışlardır. LAE'nin yapıya dahil edilmesi kitosan filminin çözünürlüğünü, antioksidan aktivitesini, toplam fenolik madde miktarını ve mekanik özelliklerini geliştirmiştir. Öte yandan morfolojik incelemede LAE'nin daha sıkı bir ağ yapısı oluşturduğu belirlenmiştir. Ardından film çözeltileri kaplama olarak (kitosan, kitosan-LAE, kitosan-limon esansiyel yağı) uskumru filetolarına uygulanmış ve 4°C'de 9 günlük bir depolama boyunca antimikrobiyal ilaveli kaplamaların filetoların fiziko-kimyasal özelliklerini daha iyi muhafaza ettiği ve bu kaplamaların kullanımının kalite parametreleri üzerinde daha koruyucu etkileri olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, limon esansiyel yağının %1 (h/h) oranında formülasyona dahil ederken LAE'yi %0.1 (a/h) oranında ilave etmeleri sonucunda her iki maddenin de filmler ve kaplamalar üzerinde benzer etkiler sergilediğini gözlemlemişlerdir. Çalışmada düşük dozlarda LAE'nin yenilebilir film ve kaplamalara dahil edilmesi ile bu sistemlerin işlevselliğinin artırılabilirliği sonucuna varılmıştır [14].

Hassan ve Cutter [86], pullulan bazlı bir biyopolimer ve polietilenden (PE) yapılmış kompozit antimikrobiyal film (CAF) geliştirmiş ve gıda patojenlerini kontrol etmek için incelemişlerdir. CAF'lar timol (T), nisin (N) ve/veya LAE'nin pullulan katmanına eklenmesi ve PE'nin üstüne katmanlanmasıyla geliştirilmiştir. Elde edilen CAF'ların antimikrobiyal aktivitesi Shiga toksini üreten *E. coli* (STEC), *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a göre değerlendirilmiştir. Sonuçlarda N içeren CAF'lerin etkisiz olduğu, T içerenlerin ise patojenlerin inhibisyonunda etkili olduğu gözlenmiştir. Fakat bunlarla yapılan CAF'ler istenen fiziksel ve mekanik özellikleri sağlamazken %0.5, 1 ve 2.5 LAE ile yapılan CAF'ler uygun fiziksel ve mekanik özellikleri koruyarak tüm

patojenleri inhibe etmiştir. Filmler ambalaj olarak kullanılmak üzere şekillendirilmiş ve 4°C'de 28 gün depolama boyunca %0.5, 1 ve 2.5 LAE içeren CAF'ler sırasıyla; çiğ sığır eti üzerinde STEC için 1.13, 1.33 ve 2.88 log kob/cm<sup>2</sup>; çiğ tavuk göğsünde *Salmonella* için 2.03, 2.12 ve 3.01 log kob/cm<sup>2</sup>; hindi göğsünde *L. monocytogenes* için 1.12, 1.81, 3.56 ve *S. aureus* için 0.68, 2.02 ve 3.43 log kob/cm<sup>2</sup> indirgeme sağlamıştır. Araştırmacılar gıda kaynaklı patojenleri kontrol etmek için et ve kümes hayvanları endüstrisinde LAE'nin etkili bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılabileceğini öne sürmüştür [86].

Jin ve ark. [98] tarafından taze kesilmiş elmalara *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* inoküle edilmiş ve sitrik asit (CA) ve/veya LAE katkılı kitosan kaplamalar uygulanmıştır. LAE konsantrasyonunun %0.25'ten %0.5'e yükseltilmesinin üç patojenin de tüm popülasyonunu önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. *Salmonella*, *Listeria* ve *E. coli* popülasyonları %1 CA+%0.25 LAE kaplamasında sırasıyla 2, 1.7 ve 4.2 log kob/cm<sup>2</sup> düzeyinde; %1 CA+0.5 LAE kaplamasında 1.2, 1.1 ve 3.7 log kob/cm<sup>2</sup> düzeyinde tespit edilmiştir. LAE konsantrasyonunun %0.5'ten %1'e yükseltilmesi *Salmonella* popülasyonlarını önemli ölçüde azaltmış ancak *Listeria* ve *E. coli* popülasyonlarını etkilememiştir. Araştırmacılar LAE'nin düşük dozlarda kullanımının bile patojenler üzerinde etkili olabileceğini ve taze kesilmiş elmaları mikrobiyolojik ve kalite bozulmasından korumak için güvenle kullanılabileceğini belirtmişlerdir [98].

Motta ve ark. [102], katyonik yüzey aktif madde LAE (%0.05 a/h) ile aktive edilen nişasta bazlı yenilebilir filmler geliştirmişlerdir. Filmlerin karakterizasyon sonuçlarında, LAE'nin eklenmesi ile gram-pozitif *S. aureus*, gram-negatif *E. coli* ve küf *Penicillium* spp.'nin inhibe edildiği belirtilmiştir. Filmlerde LAE ilavesinin, kalınlıkta ve esneklikte bir artışa ve sertlikte bir azalmaya neden olduğundan bir plastikleştirici olarak davrandığı veya gliserol ile sinerjik bir etki oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, LAE ilavesinin filmlerin opaklığını arttırdığı da belirtilmiştir. Araştırmacılar, nişasta bazlı geliştirilen yenilebilir film ve kaplamalara LAE'nin dahil edilmesinin, ambalajlanmış ürünlerin raf ömrünü uzatmada birincil ambalaj görevi göreceği sonucuna varmışlardır [102].

Otero-Tuárez ve ark. [93], farklı konsantrasyonlarda LAE (%0.5, 1, 5, 10 a/a) içeren balık jelatini filmlerinin fiziksel, kimyasal ve antimikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. Filmlerin optik özellikleri artan LAE ile değişmemiş ancak pH ve yüzey gerilimi artmıştır. LAE'nin formülasyona dahil edilmesi filmlerin nem içeriği ve çözünürlüğünü arttırmıştır. Ek olarak, LAE'nin varlığı filmlerin daha esnek ve dayanıklı olmasını sağlarken, su buharı geçirgenliği üzerinde etkili olmamıştır. LAE katkılı filmlerde artan LAE konsantrasyonları ile *L. innocua*, *Shewanella putrefaciens* ve *Pseudomonas fluorescens*'e karşı antimikrobiyal etki de artarken; *Aeromonas hydrophila*'ya karşı böyle bir etki gözlenmemiştir. Araştırmacılar bu antimikrobiyal filmlerin taze balık ürünlerinin raf ömrünü uzatmak için alternatif bir teknoloji olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir [93].

## SONUÇ

Yenilebilir film ve kaplamalar gıdaları korumak için kullanılan en iyi yöntemlerden biri olarak uzun yıllardır literatürde yer almaktadır. Bu yapıların gıdaları mekanik, kimyasal ve mikrobiyolojik bozulmalardan korumasının yanı sıra çeşitli antimikrobiyal ajanların da taşıyıcısı olarak kullanılması birçok araştırmacı tarafından odak noktası olmaktadır. Bir antimikrobiyal ajanı gıdaya doğrudan uygulamak yerine yenilebilir film ve kaplama yoluyla uygulamak ajanın kontrollü salımına imkan verdiğinden birçok avantaj sunmaktadır. Bu noktada denenmiş olan birçok farklı katkı maddesi bulunmaktadır fakat son yıllarda LAE sahip olduğu özelliklerden dolayı öne çıkan bir madde olarak değerlendirilmektedir. LAE, GRAS olarak sınıflandırılmış bir gıda koruyucu antimikrobiyal katkı maddesidir ve bakteriyel, maya ve küfler üzerinde güçlü inhibisyon etkisi vardır. LAE'nin antimikrobiyal etki mekanizması konusunda çeşitli görüşler olsa da genel yargı esas hedefin mikrobiyal membranlar olduğu yönündedir. Ayrıca LAE'nin renksiz, kokusuz ve tatsız olması da kullanımını kolaylaştırmaktadır. LAE ile ilgili yasal düzenlemeler göz önünde bulundurulduğunda miktarların çok düşük olması bu maddenin etkinliğinin daha iyi bir şekilde ve daha uzun bir sürede sağlanması amacıyla LAE'nin yenilebilir film ve kaplamalara dahil edilerek gıdalarda kullanımı yenilikçi bir yaklaşımdır ve birçok çalışmada elde edilen sonuçlar bu sistemlerde LAE'nin etkinliğinin arttığını göstermektedir. LAE'nin yenilebilir film ve kaplamalara dahil edilmesi, gıdalarda raf ömrünü uzatması ve gıda kalitesini geliştirmek için birçok mikroorganizmanın gelişimini inhibe etmesinin yanı sıra filmlerin fiziko-kimyasal ve morfolojik özelliklerini de geliştirmektedir. Tüm bu veriler doğrultusunda, LAE içeren yenilebilir film ve kaplamaların gerçek gıda sistemlerinde uygulanması, uzun depolama süreçlerinde LAE'nin bu sistemlerden salım etkinliğinin incelenmesi ve LAE'nin diğer gıda bileşenleri ile etkileşimi konusunda daha fazla araştırma yapılmalıdır. Ek olarak diğer antimikrobiyaller ile kombinasyon halinde yenilebilir film ve kaplamalarda kullanımı, kaplamalara veya gıda ile temas eden ambalaj filmlerine dahil ederek gıda matrisi müdahalesini en aza indiren ve talep halinde antimikrobiyal serbest bırakan dağıtım sistemlerinin geliştirilmesi ve tüketici kabulü için detaylı duyuşal değerlendirmelerin yapılması da araştırılması gereken öncelikli konulardır.

## KAYNAKLAR

- [1] Moreno, O., Pastor, C., Muller, J., Atarés, L., González, C., Chiralt, A. (2014). Physical and bioactive properties of corn starch–buttermilk edible films. *Journal of Food Engineering*, 141, 27-36.
- [2] Byun, Y., Kim, Y.T. (2014). Bioplastics for food packaging: chemistry and physics. In *Innovations in food packaging*, Edited by J.H. Han, Academic Press, 353-368.
- [3] Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A., Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocolloids*, 68, 136-148.
- [4] Chouhan, S., Sharma, K., Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils-present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
- [5] Malhotra, B., Keshwani, A., Kharkwal, H. (2015). Antimicrobial food packaging: Potential and pitfalls. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1-9.
- [6] Trinetta, V., Floros, J.D., Cutter, C.N. (2010). Sakacin a-containing pullulan film: an active packaging system to control epidemic clones of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Journal of Food Safety*, 30(2), 366-381.
- [7] Mangalassary, S., Han, I., Rieck, J., Acton, J., Dawson, P. (2008). Effect of combining nisin and/or lysozyme with in-package pasteurization for control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat turkey bologna during refrigerated storage. *Food Microbiology*, 25(7), 866-870.
- [8] Seol, K.H., Lim, D.G., Jang, A., Jo, C., Lee, M. (2009). Antimicrobial effect of κ-carrageenan-based edible film containing ovotransferrin in fresh chicken breast stored at 5°C. *Meat Science*, 83(3), 479-483.
- [9] Valdés, A., Burgos, N., Jiménez, A., Garrigós, M.C. (2015). Natural pectin polysaccharides as edible coatings. *Coatings*, 5(4), 865-886.
- [10] Solak, A.O., Dyankova, S.M. (2014). Composite films from sodium alginate and high methoxyl pectin-physicochemical properties and biodegradation in soil. *Ecologia Balkanica*, 6(2).
- [11] Martins, J.T., Cerqueira, M.A., Souza, B.W., Carmo Avides, M.D., Vicente, A.A. (2010). Shelf life extension of ricotta cheese using coatings of galactomannans from nonconventional sources incorporating nisin against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(3), 1884-1891.
- [12] Özdestand Ocak, Ö., Demircan, B. (2020). Transportation of flavorings and bioactive substances in food systems with edible films and coatings and their effects on functionality. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 26(7), 1245-1256.
- [13] Gaikwad, K.K., Lee, S.M., Lee, J.S., Lee, Y.S. (2017). Development of antimicrobial polyolefin films containing lauroyl arginate and their use in the packaging of strawberries. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 1706-1716.
- [14] Demircan, B., Özdestand Ocak, Ö. (2020). Effects of lemon essential oil and ethyl lauroyl arginate on the physico-chemical and mechanical properties of chitosan films for mackerel fillet coating application. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 19(11), 1-10.
- [15] Dehghani, S., Hosseini, S.V., Regenstien, J.M. (2018). Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chemistry*, 240, 505-513.
- [16] Poverenov, E., Rutenberg, R., Danino, S., Horev, B., Rodov, V. (2014). Gelatin-chitosan composite films and edible coatings to enhance the quality of food products: Layer-by-Layer vs. blended formulations. *Food and Bioprocess Technology*, 7(11), 3319-3327.



- [17] Souza, V.G.L., Fernando, A.L., Pires, J.R.A., Rodrigues, P.F., Lopes, A.A., Fernandes, F.M.B. (2017). Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. *Industrial Crops and Products*, 107, 565-572.
- [18] Staroszczyk, H., Sztuka, K., Wolska, J., Wojtasz-Pająk, A., Kołodziejska, I. (2014). Interactions of fish gelatin and chitosan in uncrosslinked and crosslinked with EDC films: FT-IR study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 117, 707-712.
- [19] Bonnaud, M., Weiss, J., McClements, D.J. (2010). Interaction of a food-grade cationic surfactant (lauric arginate) with food-grade biopolymers (pectin, carrageenan, xanthan, alginate, dextran, and chitosan). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(17), 9770-9777.
- [20] Kang, J., Stasiewicz, M.J., Murray, D., Boor, K.J., Wiedmann, M., Bergholz, T.M. (2014). Optimization of combinations of bactericidal and bacteriostatic treatments to control *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*, 179, 1-9.
- [21] Kashiri, M., Cerisuelo, J.P., Domínguez, I., López-Carballo, G., Hernández-Muñoz, P., Gavara, R. (2016). Novel antimicrobial zein film for controlled release of lauroyl arginate (LAE). *Food Hydrocolloids*, 61, 547-554.
- [22] Petkoska, A.T., Daniloski, D., D' Cunha, N.M., Naumovski, N., Broach, A.T. (2021). Edible packaging: Sustainable solutions and novel trends in food packaging. *Food Research International*, 140, 109981.
- [23] Theinsathid, P., Visessanguan, W., Kruenate, J., Kingcha, Y., Keeratipibul, S. (2012). Antimicrobial activity of lauric arginate-coated polylactic acid films against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* on cooked sliced ham. *Journal of Food Science*, 77(2), 142-149.
- [24] Higuera, L., López-Carballo, G., Hernández-Muñoz, P., Gavara, R., Rollini, M. (2013). Development of a novel antimicrobial film based on chitosan with LAE (ethyl-Nα-dodecanoyl-L-arginate) and its application to fresh chicken. *International Journal of Food Microbiology*, 165(3), 339-345.
- [25] Kashiri, M., López-Carballo, G., Hernández-Muñoz, P., Gavara, R. (2019). Antimicrobial packaging based on a LAE containing zein coating to control foodborne pathogens in chicken soup. *International Journal of Food Microbiology*, 306, 108272.
- [26] Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15(3), 237-248.
- [27] Demircan, B., Özdestan Ocak, (2019). Gıda katkı maddelerinin yenilebilir film ve kaplamalar kullanılarak taşınmasının günümüzde ve gelecekteki uygulama potansiyeli. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 4(2), 130-150.
- [28] Campos, C.A., Gerschenson, L.N., Flores, S.K. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 849-875.
- [29] Vásconez, M.B., Flores, S.K., Campos, C.A., Alvarado, J., Gerschenson, L.N. (2009). Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*, 42(7), 762-769.
- [30] Broumand, A., Emam-Djomeh, Z., Hamed, M., Razavi, S.H. (2011). Antimicrobial, water vapour permeability, mechanical and thermal properties of casein based *Zataria multiflora* Boiss. extract containing film. *LWT-Food Science and Technology*, 44(10), 2316-2323.
- [31] Janjarasskul, T., Krochta, J.M. (2010). Edible packaging materials. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 415-448.
- [32] Odila Pereira, J., Soares, J., Costa, E., Silva, S., Gomes, A., Pintado, M. (2019). Characterization of edible films based on alginate or whey protein incorporated with *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12 and prebiotics. *Coatings*, 9(8), 493.
- [33] Benbettaieb, N., Karbowski, T., Debeaufort, F. (2019). Bioactive edible films for food applications: Influence of the bioactive compounds on film structure and properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(7), 1137-1153.
- [34] Valencia, G.A., Luciano, C.G., Fritz, A.R.M. (2019). Smart and active edible coatings based on biopolymers. *Polymers for Agri-Food Applications*, 391-416.
- [35] Vilela, C., Kurek, M., Hayouka, Z., Röcker, B., Yildirim, S., Antunes, M.D.C., Freire, C.S. (2018). A concise guide to active agents for active food packaging. *Trends in Food Science Technology*, 80, 212-222.
- [36] Yousuf, B., Qadri, O.S. (2020). Preservation of fresh-cut fruits and vegetables by edible coatings. *Fresh-Cut Fruits and Vegetables*, 225-242.
- [37] Donsi, F., Marchese, E., Maresca, P., Pataro, G., Vu, K.D., Salmieri, S., Ferrari, G. (2015). Green beans preservation by combination of a modified chitosan based-coating containing nanoemulsion of mandarin essential oil with high pressure or pulsed light processing. *Postharvest Biology and Technology*, 106, 21-32.
- [38] Espitia, P.J., Avena-Bustillos, R.J., Du, W.X., Chiou, B.S., Williams, T.G., Wood, D., Soares, N.F. (2014). Physical and antibacterial properties of açai edible films formulated with thyme essential oil and apple skin polyphenols. *Journal of Food Science*, 79(5), 903-910.
- [39] Kadzińska, J., Bryś, J., Ostrowska-Ligęza, E., Estéve, M., Janowicz, M. (2020). Influence of vegetable oils addition on the selected physical properties of apple-sodium alginate edible films. *Polymer Bulletin*, 77(2), 883-900.
- [40] Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, M.A., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. (2015). Use of antimicrobial nanoemulsions as edible coatings: Impact on safety and quality attributes of fresh-cut Fuji apples. *Postharvest Biology and Technology*, 105, 8-16.
- [41] Šuput, D., Lazić, V., Pezo, L., Markov, S., Vaštag, Ž., Popović, L., Popović, S. (2016). Characterization of starch edible films with different

- essential oils addition. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 66(4), 277-286.
- [42] Teixeira, B., Marques, A., Pires, C., Ramos, C., Batista, I., Saraiva, J.A., Nunes, M.L. (2014). Characterization of fish protein films incorporated with essential oils of clove, garlic and origanum: Physical, antioxidant and antibacterial properties. *LWT-Food Science and Technology*, 59(1), 533-539.
- [43] Wu, J., Liu, H., Ge, S., Wang, S., Qin, Z., Chen, L., Zhang, Q. (2015). The preparation, characterization, antimicrobial stability and in vitro release evaluation of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil nanoliposomes. *Food Hydrocolloids*, 43, 427-435.
- [44] Xiong, Y., Chen, M., Warner, R.D., Fang, Z. (2020). Incorporating nisin and grape seed extract in chitosan-gelatine edible coating and its effect on cold storage of fresh pork. *Food Control*, 110, 107018.
- [45] Arancibia, M.Y., López-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C., Montero, P. (2014). Release of volatile compounds and biodegradability of active soy protein lignin blend films with added citronella essential oil. *Food Control*, 44, 7-15.
- [46] Barbiroli, A., Bonomi, F., Capretti, G., Iametti, S., Manzoni, M., Piergiovanni, L., Rollini, M. (2012). Antimicrobial activity of lysozyme and lactoferrin incorporated in cellulose-based food packaging. *Food Control*, 26(2), 387-392.
- [47] Musso, Y.S., Salgado, P.R., Mauri, A.N. (2017). Smart edible films based on gelatin and curcumin. *Food Hydrocolloids*, 66, 8-15.
- [48] García Domínguez, J.J., Infante, M.R., Erra, P., Julia, M.R. (1983). N-alpha-acil-L-alkylaminoguanidinic acids and their salts surfactants with antimicrobial action. *Spanish Patent*, ES, 512643-A1.
- [49] Demircan, B., Özdestan Ocak, Ö. (2019). Antimicrobial activity, mechanism of effect and usage potential of ethyl lauroyl arginate in food systems. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 25(7), 854-863.
- [50] EFSA Panel on Food Additives and Flavourings (EFSA FAF Panel), Younes, M., Aquilina, G., Engel, K.H., Fowler, P., Frutos Fernandez, M.J., Castle, L. (2019). Safety of ethyl lauroyl arginate (E 243) as a food additive in the light of the new information provided and the proposed extension of use. *EFSA Journal*, 17(3), e05621.
- [51] Kawamura, Y., Whitehouse, B. (2008). Ethyl Lauroyl Arginate-chemical and technical assessment. *69th JEFCA, FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*, JEFCA Monographs.
- [52] Ma, Q., Davidson, P.M., Zhong, Q. (2020). Properties and potential food applications of Lauric arginate as a cationic antimicrobial. *International Journal of Food Microbiology*, 315, 108417.
- [53] European Food Safety Authority (EFSA). (2007). Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) related to an application on the use of ethyl lauroyl arginate as a food additive. *EFSA Journal*, 5(7), 1-27.
- [54] FDA, U. (2005). Agency response letter GRAS notice no. GRN 000164. <http://wayback.archive-it.org/7993/20171031052522/https://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/UCM268847.pdf>
- [55] Becerril, R., Manso, S., Nerin, C., Gómez-Lus, R. (2013). Antimicrobial activity of lauroyl arginate ethyl (LAE), against selected food-borne bacteria. *Food Control*, 32(2), 404-408.
- [56] Lingbeck, J.M., Cordero, P., O'BRYAN, C.A., Johnson, M.G., Ricke, S.C., Crandall, P.G. (2014). Temperature effects on the antimicrobial efficacy of condensed smoke and lauric arginate against *Listeria* and *Salmonella*. *Journal of Food Protection*, 77(6), 934-940.
- [57] Ma, Q., Davidson, P.M., Zhong, Q. (2013). Antimicrobial properties of lauric arginate alone or in combination with essential oils in tryptic soy broth and 2% reduced fat milk. *International Journal of Food Microbiology*, 166(1), 77-84.
- [58] Lavieri, N.A., Sebranek, J.G., Brehm-Stecher, B.F., Cordray, J.C., Dickson, J.S., Horsch, A.M., Mendonca, A.F. (2014). Investigating the control of *Listeria monocytogenes* on alternatively-cured frankfurters using natural antimicrobial ingredients or post-lethality interventions. *Meat Science*, 97(4), 568-574.
- [59] Nair, D.V., Nannapaneni, R., Kiess, A., Mahmoud, B., Sharma, C.S. (2014). Antimicrobial efficacy of lauric arginate against *Campylobacter jejuni* and spoilage organisms on chicken breast fillets. *Poultry Science*, 93(10), 2636-2640.
- [60] Sommers, C., Mackay, W., Geveke, D., Lammenes, B., Pulsfus, S. (2012). Inactivation of *Listeria innocua* on frankfurters by flash pasteurization and lauric arginate ester. *Journal of Food Processing and Technology*, 3, 1-4.
- [61] Luchansky, J.B., Call, J.E., Hristova, B., Rumery, L., Yoder, L., Oser, A. (2005). Viability of *Listeria monocytogenes* on commercially-prepared hams surface treated with acidic calcium sulfate and lauric arginate and stored at 4°C. *Meat Science*, 71(1), 92-99.
- [62] Taormina, P.J., Dorsa, W.J. (2009). Short-term bactericidal efficacy of lauric arginate against *Listeria monocytogenes* present on the surface of frankfurters. *Journal of Food Protection*, 72(6), 1216-1224.
- [63] Stopforth, J.D., Visser, D., Zumbrink, R., Van Dijk, L., Bontenbal, E.W. (2010). Control of *Listeria monocytogenes* on cooked cured ham by formulation with a lactate-diacetate blend and surface treatment with lauric arginate. *Journal of Food Protection*, 73(3), 552-555.
- [64] Techathuvanan, C., Reyes, F., David, J.R., Davidson, P.M. (2014). Efficacy of commercial natural antimicrobials alone and in combinations against pathogenic and spoilage microorganisms. *Journal of Food Protection*, 77(2), 269-275.
- [65] Loeffler, M., McClements, D.J., McLandsborough, L., Terjung, N., Chang, Y., Weiss, J. (2014). Electrostatic interactions of cationic lauric arginate

- with anionic polysaccharides affect antimicrobial activity against spoilage yeasts. *Journal of Applied Microbiology*, 117(1), 28-39.
- [66] Sadekuzzaman, M., Yang, S., Kim, H.S., Mizan, M.F.R., Ha, S.D. (2017). Evaluation of a novel antimicrobial (lauric arginate ester) substance against biofilm of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* spp. *International Journal of Food Science Technology*, 52(9), 2058-2067.
- [67] Fu, Y., Deering, A.J., Bhunia, A.K., Yao, Y. (2017). Biofilm of *Escherichia coli* O157: H7 on cantaloupe surface is resistant to lauroyl arginate ethyl and sodium hypochlorite. *International Journal of Food Microbiology*, 260, 11-16.
- [68] Fernández, C.E., Aspiras, M., Dodds, M.W., González-Cabezas, C., Rickard, A. H. (2018). Combinatorial effect of magnolia bark extract and ethyl lauroyl arginate against multi-species oral biofilms: Food additives with the potential to prevent biofilm-related oral diseases. *Journal of Functional Foods*, 47, 48-55.
- [69] Kim, T.S., Ham, S.Y., Park, B.B., Byun, Y., Park, H.D. (2017). Lauroyl arginate ethyl blocks the iron signals necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Frontiers in Microbiology*, 8, 970.
- [70] Chang, Y., McLandsborough, L., McClements, D.J. (2015). Fabrication, stability and efficacy of dual-component antimicrobial nanoemulsions: essential oil (thyme oil) and cationic surfactant (lauric arginate). *Food Chemistry*, 172, 298-304.
- [71] Zheng, Z. (2014). Ingredient technology for food preservation. *Industrial Biotechnology*, 10(1), 28-33.
- [72] Wang, L., Zhao, L., Yuan, J., Jin, T.Z. (2015). Application of a novel antimicrobial coating on roast beef for inactivation and inhibition of *Listeria monocytogenes* during storage. *International Journal of Food Microbiology*, 211, 66-72.
- [73] Nübling, S., Hägele, F., Wohlt, D., Graf, B., Schweiggert, R.M., Carle, R., Weiss, A. (2017). Effects of *Quillaja saponaria* extract and N $\alpha$ -lauroyl-L-arginine ethyl ester on reducing selected foodborne pathogens in vitro and maintaining quality of fresh-cut endive (*Cichorium endivia* L.) at pilot plant scale. *Food Control*, 73, 393-400.
- [74] Hawkins, D.R., Rocabayera, X., Ruckman, S., Segret, R., Shaw, D. (2009). Metabolism and pharmacokinetics of ethyl N $\alpha$ -lauroyl-L-arginate hydrochloride in human volunteers. *Food and Chemical Toxicology*, 47(11), 2711-2715.
- [75] Ruckman, S.A., Rocabayera, X., Borzelleca, J.F., Sandusky, C.B. (2004). Toxicological and metabolic investigations of the safety of N $\alpha$ -Lauroyl-L-arginine ethyl ester monohydrochloride (LAE). *Food and Chemical Toxicology*, 42(2), 245-259.
- [76] Aznar, M., Gómez-Estaca, J., Vélez, D., Devesa, V., Nerín, C. (2013). Migrants determination and bioaccessibility study of ethyl lauroyl arginate (LAE) from a LAE based antimicrobial food packaging material. *Food and Chemical Toxicology*, 56, 363-370.
- [77] Adams, C. (2012). Determination of the minimal inhibitory concentration of lauric arginate against three strains of *Salmonella enterica*, 2012 Annual Meeting of the International Association of Food Protection.
- [78] Soni, K.A., Nannapaneni, R., Schilling, M.W., Jackson, V. (2010). Bactericidal activity of lauric arginate in milk and Queso Fresco cheese against *Listeria monocytogenes* cold growth. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4518-4525.
- [79] Manso, S., Nerin, C., Gómez-Lus, R. (2011). Antifungal activity of the essential oil of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), oregano (*Origanum vulgare*) and lauramide argine ethyl ester (LAE) against the mold *aspergillus flavus* CECT 2949. *Italian Journal of Food Science*, 23, 151.
- [80] Ebner, C., Morgan, A., Manuel, C. (2021), Food safety and quality-based shelf life of perishable foods. In *Food Microbiology and Food Safety*, Edited by P.J. Taormina, M.D. Hardin, Springer, Cham, 105-134p.
- [81] Muriel-Galet, V., Carballo, G.L., Hernández-Muñoz, P., Gavara, R. (2016). Ethyl lauroyl arginate (LAE): Usage and potential in antimicrobial packaging. In *Antimicrobial Food Packaging*, Edited by J.B. Velázquez, Academic Press, 313-318p.
- [82] Rubilar, J.F., Candia, D., Cobos, A., Díaz, O., Pedreschi, F. (2016). Effect of nanoclay and ethyl-N $\alpha$ -dodecanoyl-L-arginate hydrochloride (LAE) on physico-mechanical properties of chitosan films. *LWT-Food Science and Technology*, 72, 206-214.
- [83] Demircan, B., Özdestan Ocak, Ö. (2020). Yenilebilir Film ve Kaplamalarda Sentetik Katkı Maddesi Olarak Etil Lauroyl Arjinatın Kullanımı, *Türkiye 13. Gıda Kongresi*, 21-23 Ekim, 2020, Çanakkale, Türkiye, Bildiri Özetleri, 125s.
- [84] Ochoa, T.A., Almendárez, B.E.G., Reyes, A.A., Pastrana, D.M.R., López, G.F.G., Beloso, O.M., Regalado-González, C. (2017). Design and characterization of corn starch edible films including beeswax and natural antimicrobials. *Food and Bioprocess Technology*, 10(1), 103-114.
- [85] Muriel-Galet, V., Lopez-Carballo, G., Gavara, R., Hernández-Muñoz, P. (2015). Antimicrobial effectiveness of lauroyl arginate incorporated into ethylene vinyl alcohol copolymers to extend the shelf-life of chicken stock and surimi sticks. *Food and Bioprocess Technology*, 8(1), 208-217.
- [86] Hassan, A.H., Cutter, C.N. (2020). Development and evaluation of pullulan-based composite antimicrobial films (CAF) incorporated with nisin, thymol and lauric arginate to reduce foodborne pathogens associated with muscle foods. *International Journal of Food Microbiology*, 320, 108519.
- [87] Moreno, O., Gil, À., Atarés, L., Chiralt, A. (2017). Active starch-gelatin films for shelf-life extension of marinated salmon. *LWT-Food Science and Technology*, 84, 189-195.
- [88] Moreno, O., Cárdenas, J., Atarés, L., Chiralt, A. (2017). Influence of starch oxidation on the functionality of starch-gelatin based active films. *Carbohydrate Polymers*, 178, 147-158.

- [89] Haghghi, H., De Leo, R., Bedin, E., Pfeifer, F., Siesler, H.W., Pulvirenti, A. (2019). Comparative analysis of blend and bilayer films based on chitosan and gelatin enriched with LAE (lauroyl arginate ethyl) with antimicrobial activity for food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 19, 31-39.
- [90] Ma, Q., Zhang, Y., Zhong, Q. (2016). Physical and antimicrobial properties of chitosan films incorporated with lauric arginate, cinnamon oil, and ethylenediaminetetraacetate. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 173-179.
- [91] Guo, M., Jin, T.Z., Yang, R. (2014). Antimicrobial polylactic acid packaging films against *Listeria* and *Salmonella* in culture medium and on ready-to-eat meat. *Food and Bioprocess Technology*, 7(11), 3293-3307.
- [92] Pattanayaiying, R., Sane, A., Photjanataree, P., Cutter, C.N. (2019). Thermoplastic starch/polybutylene adipate terephthalate film coated with gelatin containing nisin Z and lauric arginate for control of foodborne pathogens associated with chilled and frozen seafood. *International Journal of Food Microbiology*, 290, 59-67.
- [93] Otero-Tuárez, V., Fernández-Pan, I., Ignacio Maté, J. (2020). Effect of the presence of ethyl lauroyl arginate on the technological properties of edible fish gelatin films. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(5), 2113-2121.
- [94] Chen, W., Golden, D.A., Critzer, F.J., Davidson, P.M. (2015). Antimicrobial activity of cinnamaldehyde, carvacrol, and lauric arginate against *Salmonella tennessee* in a glycerol-sucrose model and peanut paste at different fat concentrations. *Journal of Food Protection*, 78(8), 1488-1495.
- [95] Asker, D., Weiss, J., McClements, D.J. (2009). Analysis of the interactions of a cationic surfactant (lauric arginate) with an anionic biopolymer (pectin): isothermal titration calorimetry, light scattering, and microelectrophoresis. *Langmuir*, 25(1), 116-122.
- [96] Guo, M., Yadav, M.P., Jin, T.Z. (2017). Antimicrobial edible coatings and films from micro-emulsions and their food applications. *International Journal of Food Microbiology*, 263, 9-16.
- [97] Escamilla-García, M., Rodríguez-Hernández, M. J., Hernández-Hernández, H.M., Delgado-Sánchez, L.F., García-Almendárez, B.E., Amaro-Reyes, A., Regalado-González, C. (2018). Effect of an edible coating based on chitosan and oxidized starch on shelf life of *Carica papaya* L., and its physicochemical and antimicrobial properties. *Coatings*, 8(9), 318.
- [98] Jin, T.Z., Chen, W., Gurtler, J.B., Fan, X. (2020). Effectiveness of edible coatings to inhibit browning and inactivate foodborne pathogens on fresh-cut apples. *Journal of Food Safety*, 40(4), e12802.
- [99] Sun, Z., Hao, J., Yang, H., Chen, H. (2018). Effect of chitosan coatings enriched with lauroyl arginate ethyl and montmorillonite on microbial growth and quality maintenance of minimally processed table grapes (*Vitis vinifera* L. Kyoho) during cold storage. *Food and Bioprocess Technology*, 11(10), 1853-1862.
- [100] De Leo, R., Quartieri, A., Haghghi, H., Gigliano, S., Bedin, E., Pulvirenti, A. (2018). Application of pectin-alginate and pectin-alginate-lauroyl arginate ethyl coatings to eliminate *Salmonella enteritidis* cross contamination in egg shells. *Journal of Food Safety*, 38(6), e12567.
- [101] Pattanayaiying, R., Aran, H., Cutter, C.N. (2015). Incorporation of nisin Z and lauric arginate into pullulan films to inhibit foodborne pathogens associated with fresh and ready-to-eat muscle foods. *International Journal of Food Microbiology*, 207, 77-82.
- [102] Motta, J.F.G., de Souza, A.R., Gonçalves, S.M., Madella, D.K.S.F., de Carvalho, C.W.P., Vitorazi, L., de Melo, N.R. (2020). Development of active films based on modified starches incorporating the antimicrobial agent lauroyl arginate (LAE) for the food industry. *Food and Bioprocess Technology*, 13(12), 2082-2093.

## Diyet Lifi ve Sağlık Açısından Önemi

Nermin Salçın , Hüdayi Ercoşkun 

Çankırı Karatekin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çankırı

Geliş Tarihi (Received): 23.10.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 18.02.2021

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

☎ 0 376 218 95 00 (8351/8363) 📠 0 376 218 95 36

### ÖZ

Diyet lifi, insan sindirim sisteminden herhangi bir temel değişikliğe uğramadan geçip giden bitkisel bir gıda bileşenidir. Diyet lifi, bağırsakta biriken zararlı bileşiklerin atılmasını sağlaması, safra asitlerini bağlayarak kolesterolü düşürmesi, kan şekeri seviyesini kontrol altına alması ve prebiyotik olması açısından önemlidir. Diyet lifi, bağırsaktaki dışkı hacmini artırarak kabızlığı önlerken aynı zamanda bağırsaktan geçiş süresini kısaltarak kolon kanseri riskini de azaltmaktadır. Diyet lifleri, suda çözünen ve çözünmeyen lifler olarak iki grupta incelenmektedir. Suda çözünen lifler; pektinler, gamlar ve musilajları içerirken çözünmeyen lifler; selüloz, hemiselüloz ve lignin gibi bileşenleri içermektedir. Diyet lifleri sebze ve meyvelerde ağırlıklı olarak bulunmakla birlikte tahıllarda da yer almaktadır. Sağlıklı beslenmeye olan ilginin artması, teknolojinin gelişmesi, insanların bilinçlenmesi gibi faktörler diyet lifi üzerine yapılan çalışmaları artırmış ve fonksiyonel gıdaların öneminin de artmasıyla birlikte gelecekte gıda sektörünün birçok alanında vazgeçilmez ürünler arasına gireceği düşünülmektedir. Bu derleme çalışmasında, diyet liflerinin özellikleri ve insan sağlığı açısından öneminden bahsedilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Diyet lifi, Sağlık, Kanser, Diyabet, Obezite

### Dietary Fiber and Its Importance on Human Health

#### ABSTRACT

Dietary fiber is a plant food component that passes through the human digestive system without undergoing any major changes. It is important in terms of removing harmful compounds accumulated in the intestine, lowering cholesterol by binding bile acids, controlling blood sugar levels and being prebiotic. Dietary fiber prevents constipation by increasing the stool volume in intestines, while reducing the risk of colon cancer by shortening the intestinal transit time. It is generally divided into two sub-groups as water-soluble and insoluble fibers. Water soluble fibers include pectin, gums and mucilage while the latter includes cellulose, hemicellulose and lignin components. Dietary fibers are mainly found in vegetables and fruits, as well as in grains. Factors such as an increase in interest on healthy nutrition, the development of technology, and people's awareness have increased studies on dietary fiber, and it may be expected that it will become one of the indispensable products in many areas of the food industry with an increase in the importance of functional foods in the future. In this study, the properties of dietary fibers and their importance for human health are reviewed.

**Keywords:** Dietary fiber, Health, Cancer, Diabetes, Obesity

#### GİRİŞ

Son yıllarda, aydınlanmanın artması, teknolojinin doğurduğu imkânların pozitif yönde kullanılmaya

başlanması gibi nedenlerle insanların bilgiye ulaşması hem kolaylaşmış hem de bilgiyi doğru işleme algısı da artmıştır. Bu durumda insanları tüketim noktasında daha bilinçli hale getirmiş ve aldığı ürünleri araştıran, tükettiği



gıdaların besin değerlerini merak eden yani daha sağlıklı beslenmek isteyen bir tüketim toplumuna dönüşüm gerçekleşmiştir. Bu bağlamda, bilinçli tüketicinin önceliği gıdaların lezzet özelliklerinden ziyade güvenilir, sağlıklı ve besin değerlerinin yüksek olmasıdır. Tüketicinin sağlıklı beslenme hususunda bu bilinci kazanmasında, günümüzde artan kronik hastalıklar başta olmak üzere kalp-damar hastalıkları, sindirim sistemi hastalıkları, obezite, diyabet ve kolon kanserinin etkisi büyük rol oynamaktadır [1]. Ayrıca dünyada artık hızlı, sağlıksız ve işlenmiş gıdaların birçok hastalığa neden olduğu da bilinen bir gerçektir. Bu nedenler göz önünde bulundurulduğunda diyet lifi sağlıklı beslenmek isteyen tüketicinin listesinde ilk sıralara yerleşmiştir [2].

Diyet lifi, insan sindirim sisteminde sindirilemeyen ancak kalın bağırsakta kısmen veya tamamen probiyotik mikroorganizmalar tarafından fermente olabilen bitkilerin yenilebilir kısımlarını oluşturan bileşiklerdir [3]. Mide ve ince bağırsakta tokluk hissi yaratması ve yüksek su tutma kapasitesi ile kolondaki toksik atıkları seyrelterek kolon kanserini önleyici unsur olması gibi nedenlerden dolayı hem zayıflamak hem de sağlığını korumak isteyenler için iyi bir kaynak olmuştur [4, 5].

## DIYET LİFİ

Diyet lifi; sindirim enzimleri tarafından parçalanamayan bir bileşiktir [6]. 1953 yılında yapılan araştırmalar sonucunda, bitki hücre duvarının yapısını meydana getiren sindirilemeyen bileşenler "diyet lif" olarak tanımlanmıştır [7]. Daha sonraki yıllarda ise diyet lifi için; plantix, complantix, bitkisel hücre duvarı kalıntısı, besleyici değeri olmayan lif, sindirilemeyen karbonhidratlar, kısmen sindirilebilen bitki polimerleri gibi terimler kullanılmıştır. İngilizcede diyet lifi için kullanılan terim "Dietary Fibre" veya "Dietary Fiber"dir. Türkçede ise "Besinsel Lif" veya "Diyet Lif" kullanılmaktadır [8].

Tablo 1. Diyet lif çeşitleri ve kaynakları [58]

*Table 1. Dietary fiber types and sources [58]*

Diyet Lifi	Özellikleri	Kaynak
<b>Çözünür Lifler</b>		
Pektin	Galakturonik asit, ramnoz, arabinoz, galaktoz içeriği yüksek, orta lamede ve birincil duvarda bulunmaktadır	Tam tahıllar, elma, baklagiller, lahana, kök sebzeler
Gam	Genelde heksoz ve pentoz monomerlerinden oluşmaktadır	Yulaf ezmesi, kuru fasulye, baklagiller
Musilajlar	Bitkilerde sentezlenen glikoprotein içerebilen bileşenlerdir	Gıda katkıları
<b>Çözünmez lifler</b>		
Selüloz	Glikoz monomerlerinden oluşan, hücre duvarlarının ana bileşenidir	Tam tahıllar, kepek, bezelye, kök sebzeler, cruciferous familyası fasulye, elma
Hemiselüloz	Birincil ve ikincil hücre duvarları	Kepek, tam tahıllar
Lignin	Aromatik alkoller ve diğer hücre duvarı bileşenlerinden oluşmaktadır	Sebzeler, un

Gıdalarda diyet lifi, cins, çeşit, yetiştirme koşulları, olgunluk derecesi, doku tipi ve kültürel uygulamalar gibi faktörlere bağlı olarak farklı oranlarda bulunmaktadır. Taze meyvenin hasat zamanına göre toplam lif içeriği değişkenlik gösterebilir [15]. Meyve sebzeler, hububat ürünleri ile kıyaslandığında su kapasitelerinin fazla

İnsan sindirim sistemi selülozu parçalayacak enzimlere sahip değildir. İnsan sindirim sisteminin parçalayabileceği en karmaşık karbonhidrat nişastadır. Diyet lifi; nişasta olmayan polisakkaritleri (selüloz, hemiselüloz, pektin, gamlar, β-glukan, tahıl ve yulaf kepeği) alkolle çöktürmeden elde edilen bitki karbonhidratları (inülin, oligosakkaritler ve fruktanlar), lignin ve türevlerini, selüloz, hemiselüloz, pektin gibi yapı polisakkaritleri ve bazı dirençli nişastaları içermektedir [9]. Ayrıca yapı bileşikleri olmayan gum arabik ve guar gum gibi gam maddeleri ve karragenan, agar, aljinat gibi deniz yosunu polisakkaritleri de diyet lifi olarak geçmektedir [10].

Diyet lifi, suda çözünen ve suda çözünmeyen diyet lifi olmak üzere iki ana başlık altında incelenmektedir [11]. Çözünür lifler; elma, ayva vb. besinlerde bulunan pektini, reçinede bulunan gamı, β-glukan yapısındaki polisakkaritleri, daha çok yulafta bulunan musilajları ve suda çözünen pentozanları içermektedir [12]. Çözünür lifler, suyu bağlama yetenekleriyle jel ve sıkı bir yapı oluşturmaktadırlar. Çözünür diyet lifinin kandaki kolesterolün düşürülmesinde ve glikozun bağırsaktaki absorpsiyonunun azaltılmasında önemli rol oynadığı belirtilmiştir. Çözünmez lifler grubunda ise selüloz, hemiselüloz lignin ve suda çözünmeyen pentozanlar yer almaktadır. Çözünmez lifler, ağırlıklarının 20 katı kadar suyu absorblama kapasitesine sahip oldukları için dışı hacminin artmasını sağlayarak bağırsaktan transit süresini kısaltmakta ve kabızlığın önüne geçmede ciddi bir potansiyele sahip olduklarını göstermektedirler [13, 14].

Diyet lif çeşitleri ve kaynakları Tablo 1'de verilmiştir [58]. Sağlıklı beslenme açısından, her iki lif grubunu içeren gıda maddelerinin de alınması önemlidir. Her iki lif türünün bir arada tüketilmesinin, hastalıklarla mücadelede daha etkili olduğu belirtilmiştir [59].

olması sebebiyle daha az lif içeriğini bünyelerinde bulundurlar. Hububat tanesinin dış tabakalarında daha fazla lif bulunmaktadır. Aynı zamanda meyve ve sebzelerde de dış tabakalar lif bakımından fazlasıyla zengindir [8]. Çeşitli gıdaların diyet lif içerikleri Tablo 2' de sunulmuştur [16].

Tablo 2. Çeşitli gıdaların diyet lifi içerikleri (Diyet lifi g/100 g yenilebilir kısım) [16]  
 Table 2. Dietary fiber contents of various foods (Dietary fiber g/100 g edible part) [16]

Gıda	Çözünen	Çözünmeyen	Genel toplam
Buğday kepeği	-	-	33.75
Buğday(ekmeklik)	2.92	9.75	12.66
Kuru fasulye	-	-	32.17
Mercimek	-	-	25.99
Bezelye	1.92	21.73	23.65
Barbunya	4.03	19.18	23.21
Nohut	-	-	23.03
Arpa	1.93	19.10	21.11
Yulaf	2.05	10.27	12.24
Pirinç	-	-	3.46
Bulgur	1.70	5.09	6.79
Badem	1.02	10.98	12.00
Fındık	-	-	11.54
Ceviz	2.03	9.49	11.50
İncir	-	-	10.06
Havuç	0.82	1.76	2.58
Erik	0.98	1.23	2.20
Dut	0.40	1.76	2.16
Elma	0.62	1.29	1.91
Portakal	0.72	1.17	1.89
Şeftali	0.54	1.28	1.82
Kiraz	0.28	1.61	1.89
Muz	0.45	1.24	1.69
Kavun	0.22	0.43	0.65
Karpuz	0.12	0.42	0.54
Kabak	0.73	0.90	1.63
Semizotu	0.49	1.10	1.59
Patates	0.41	1.13	1.54
Domates	0.17	0.94	1.10
Salatalık	0.19	0.32	0.52
Biber	0.67	1.19	1.86
Yeşil Fasulye	0.57	1.51	2.08
Ispanak	0.67	1.60	2.27
Bamya	1.35	2.00	3.36
Patlıcan	0.65	1.85	2.51
Keten tohumu	0.28	34.78	35.06
Çörek otu	-	-	37.14
Karamuk	-	-	43.60
Türk kahvesi	-	-	51.88
Keçiboynuzu	2.68	23.14	25.83
Hindistan cevizi(kuru)	-	-	18.91
Siyez buğdayı	-	-	11.30
Avokado	0.33	9.37	9.70
Pıkan cevizi	1.32	6.93	8.25
Glutensiz ekmek	0.51	4.93	5.44
Glutensiz un	-	-	5.26

## DIYET LİFİ BİLEŞİKLERİ

### Selüloz

Selüloz, D-glikopiranoz ünitelerinin  $\beta$ -1-4 bağları ile bağlanması sonucu meydana gelen doğrusal zincir yapısında, suda çözünme kabiliyeti olmayan, doğada en çok bulunan karbonhidrat olma özelliğine sahip bir polimerdir [17]. Selüloz, insanlarda selülaz enzimi üretimi olmadığından sindirilememekte ve bu yüzden de diyet lif özelliğine sahip olmaktadır. Selülozun absorpsiyon kabiliyetinin yüksek olması su tutma yeteneğinin yüksek olmasına ve dolayısıyla bağırsak hareketlerini

düzenleyici etki göstermesine neden olmaktadır [18]. Selüloz ve bazı selüloz türevleri, insan sindirim sisteminde sindirilemedikleri, farklı ortam şartlarında sağlam ve dayanıklı olmaları ve bazı selüloz türevlerinin suda çözünerek probiyotik mikroorganizmalar tarafından fermente edilebilmesinden dolayı prebiyotik bileşen sınıfında değerlendirilebilmektedir [19]. Selüloz, çoğu meyve ve sebzenin hücre duvarında %30-40 oranında yer alırken, tahıl tanelerinin hücre duvarlarında ise daha düşük bir yüzde ile %2-4 oranında bulunmaktadır [20]. Bu bileşikler, yüksek su tutma kapasitesi, viskozite, düşük glisemik indeks değeri ve mide-bağırsak sisteminin

düzenlenmesine yardımcı olma gibi özellikleri ile günlük diyetinde gerekli olan bileşiklerdir [21].

### Hemiselüloz (Selüloz Olmayan Polisakkaritler)

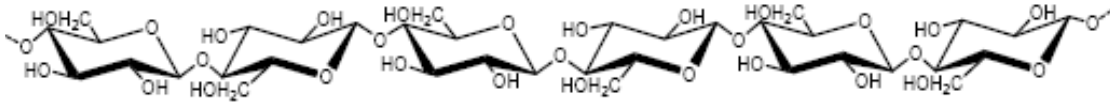
Hemiselüloz, bitkilerin hücre çeperlerinden pektik polisakkaritlerin uzaklaştırılmasından sonra alkali suda çözünme yeteneğine sahip olan polisakkaritlerdir.  $\beta$ -1,4 glikozidik bağları olan glikoz birimlerinin omurgalarını içerirler [23]. Meyve ve sebzelerin hücre duvarlarında selüloz yapısı göstermeyen ksiloglukanlar adıyla da bilinmektedir. Bu moleküllerin yapısı selülozla benzerlik göstermekte ancak çoğu glikoz monomeri ksiloz monomeriyle yer değişikliği yapmaktadır. Su tutucu ve katyon bağlayıcı özelliğe sahiptir. Sindirim enzimlerinden etkilenmekle birlikte ince ve kalın bağırsak bakterileri hemiselülozun %87'sini çok küçük moleküllere ayırmaktadır [24]. Tahıl tanelerinin kepek kısmı hemiselüloz yönünden zengin olmakla birlikte temel dokuları yapı bakımından farklı iki polisakkarit (arabinoksilan ve  $\beta$ -glukan) içermektedir. Arabinoksilan, çoğunluğu arabinoz ile yer değiştirmiş olan ksiloz zincirinden meydana gelmektedir.  $\beta$ -glukanlar ise %30'u

1-3,  $\beta$ -glikoz ve %70'i 1-4,  $\beta$ -glikoz zincirine sahip bir yapıdan oluşmaktadır [25].

### Pektin

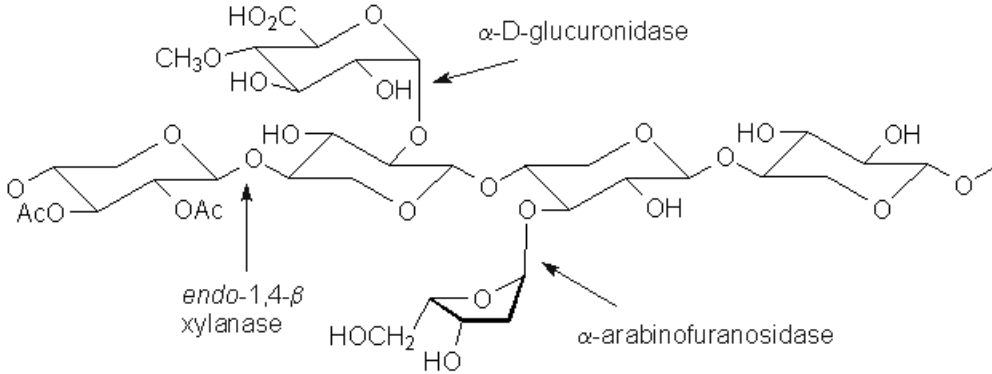
Pektin, D-galakturonik asidin temel bileşen olduğu metilin esterleşmesi sonucunda oluşan, bitkilerin hücre duvarından bulunan karmaşık yapıda ki polisakkaritlerdir [27]. Pektinin enzimatik reaksiyonları sonucundan pektinik asit ve metil alkol oluşmaktadır [28].

Pektin, meyve ve sebzelerde içeriği yüksek, tahıllarda ise daha düşük oranlarda yer alan bir yapı maddesidir. Pektinler, ticari kullanım amaçlı turuncu meyvelerinin kabuk kısımlarından ve elma posasından elde edilmektedir. Gıda endüstrisinde ki en önemli kullanım alanı jelleştirici özelliğinden dolayı kıvam vermesinden ileri gelir. Jelleşme düzeyi karboksil gruplarının farklı oranlarda metil alkolle esterleşme derecesine bağlı olarak değişir. Eğer pektinler yüksek metil oksitlenirse reçellere yoğun jel kıvamı vermek için, düşük metil oksitlenirse daha düşük kalorili reçel ve yoğurtlarda kullanılır. Bu yüzden pektin hem diyet ürünlerinde hem de fonksiyonel gıda ürünleri olarak değerlendirilir [29].



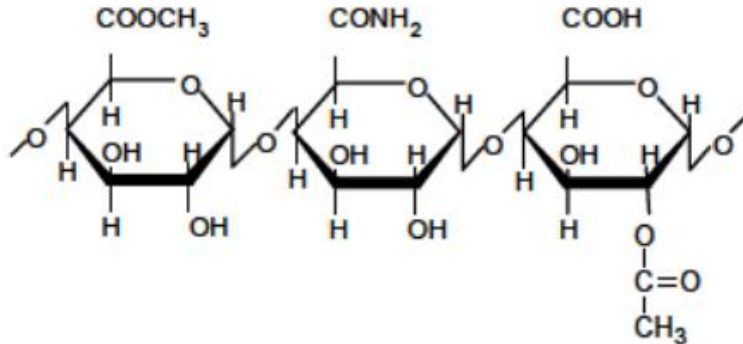
Şekil 1. Selüloz polimer yapısı [22]

Figure 1. Polymer structure of cellulose [22]



Şekil 2. Hemiselüloz polimer yapısı [26]

Figure 2. Hemicellulose polymer structure [26]



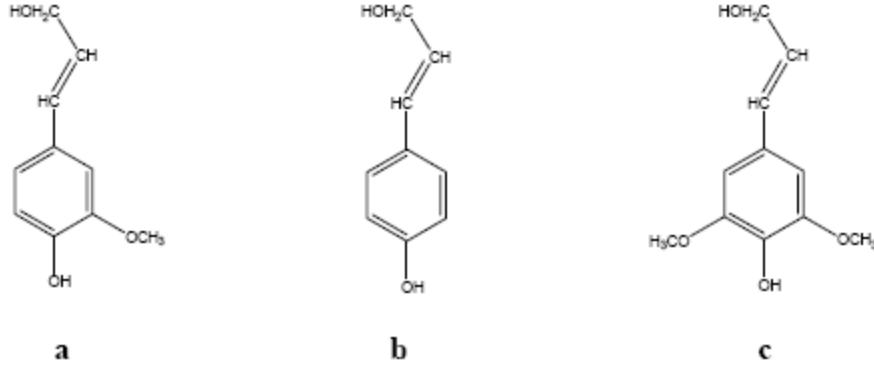
Şekil 3. Pektin polimer yapısı [30]

Figure 3. Pectin polymer structure [30]

### Lignin, Suberin ve Kutin

Hücre çeperine sertlik ve sağlamlık kazandıran lignin, fonksiyonları bakımından polisakkaritlerle birlikte bulunan bir fenil propan türevidir. Suberin, bitki hücre duvarının sekonder yapılarında bulunan, lignine benzer bir yapıya kovalent bağlı hidrofobik poliester kısımdan oluşan bir maddedir. Suberin, parankima dokunun su geçirgenliğini

engellemekte ve hasar görmüş çeperin onarılmasında kullanılmaktadır [31, 32]. Kutin ise bitkinin yaprak ve meyveleri gibi dış tabakasını oluşturan bir poliesterdir. Bitkiyi kötü çevresel şartları karşı koruyan bir yapıya sahiptir [33]. Lignin, suberin ve kütin, kalın bağırsakta kanser oluşumunu engelleyici özelliklerinden dolayı önemlidirler [31].



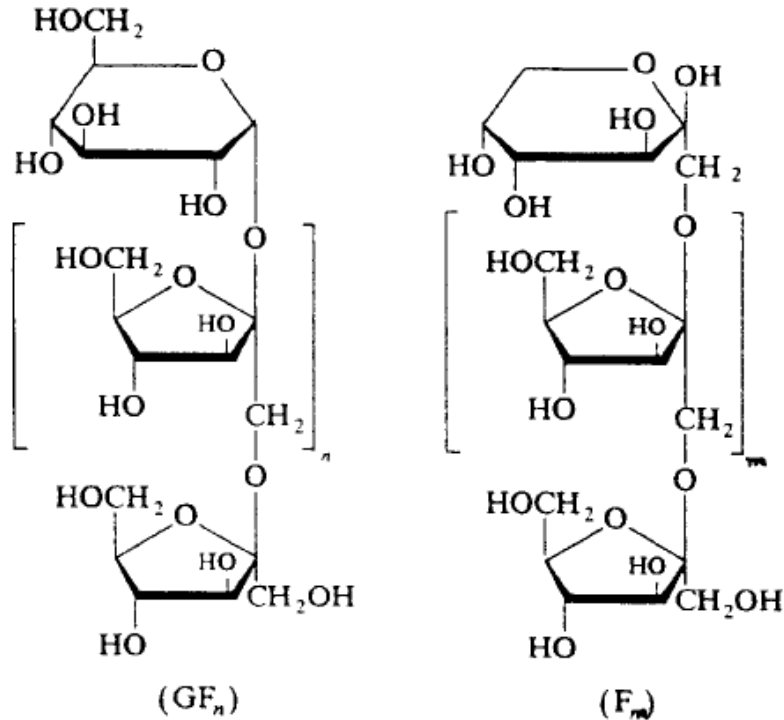
Şekil 4. Lignin polimer yapısı [22]

*Figure 4. Lignin polymer structure [22]*

### Oligofruktoz ve İnülin

$\beta$ , 2-1 bağlı fruktoz monomerlerinden oluşan oligofruktoz ve inülin, kan şekeri düzeyini dengede tuttuğu söylenmektedir. Soğuk suda çözünme oranı sıcak suya göre daha düşük olan inülin, başlıca soğan, sarımsak, pırasa, yerelması, muz, kuşkonmaz ve hindibada yer almaktadır [34]. İnülin ve oligofruktoz bifidobakteri salınımlarını artırarak kalın bağırsak kanserini önleyici

etkide bulunmaktadır. Probiyotik bakterilerden olan bifidobakteri bağırsak florasında artarken zararlı bakteriler azalmakta ve böylece bağışıklık sisteminin güçlenmesine neden olmaktadır. Anne sütü, oligosakkarit bakımından zengin olmasıyla bebeklerin sağlığı üzerinde olumlu etki bırakmaktadır. Bu nedenle bebek mamalarında oligofruktozların kullanılması bebek sağlığı açısından önem taşımaktadır [35].



Şekil 5. İnülin polimer yapısı [36]

*Figure 5. Inulin polymer structure*

## Dirençli Nişasta

Nişasta, amiloz ve amilopektinin oluşturduğu bitkisel gıdalarda bulunan önemli bir karbonhidrat kaynağıdır [37]. Gıdaların tekstür özelliklerini iyileştirmekle birlikte koloidal stabilizatör, kalınlaştırıcı, jelleştirme ajanı, hacim artırıcı ve su tutucu olarak gıda sanayinde kullanılmaktadır [38]. Nişasta ince bağırsakta tam olarak emilemez. Yapılan bir araştırmada enzimatik hidrolizden sonra bazı nişastaların sağlam kalması, mide ve ince bağırsakta sindirime direnç gösteren nişastaların varlığına kanıt olmuştur. Bu nişastalar ise "dirençli nişasta" olarak isimlendirilmiştir [39].

D-glikoz birimlerinden meydana gelen nişasta ile benzer yapıda olan dirençli nişasta, amilaz enzimleri ile sindirimi söz konusu olmadığından dolayı ince bağırsakta emilimi olmayan nişasta grubudur. Bu özelliğinden dolayı kan şekeri düzeyinin dengelemesinde, kolesterol mekanizmasının düzenlenmesinde, diyabet ve kolon kanserinin engellemesinde olumlu etkileri vardır [40, 41].

Diyet lif kaynakları arasında etkili bir değere sahip olan dirençli nişasta, insan sindirim sistemi tarafından sindirilememekte ve bu özelliği ile selüloz, pentozan,  $\beta$ -glukan gibi nişasta olmayan polisakkaritler ile benzerlik göstermektedir. Diyet lifin insan beslenmesi ve sağlığı üzerindeki öneminin fark edilmesi ile birlikte bu maddelerle ilgili ayrıntılı çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Ve araştırmacıların çoğu, günlük beslenmede hastalıklara karşı önlem olarak lif içeriği yüksek gıdaların tüketilmesi gerektiğini tavsiye etmektedir. Yapılan bir çalışmada diyet lif içeriği yüksek olan ham karabuğday bitkisinde bulunan nişastanın yaklaşık yarısını (%45'ini) EDN'nin oluşturduğu belirlenmiştir. Ve enzime dirençli nişastanın ince bağırsakta sindirilmemesinden dolayı kana hızlı karışmaması, glisemik indeksi düşürücü etki göstermekte ve bu da sağlık açısından önemli bir avantaj haline gelmektedir [42, 43].

Glisemik indeksi yüksek karbonhidratların çoğu tüketilmesinin ardından yaklaşık 1 saat içinde kan glikoz seviyesini artırıcı etki yapmaktadır. Yükselen glikoz seviyesi kanda insülin hormonu konsantrasyonunu artırmakta ve neticede vücutta depolanmış yağların kullanımını durdurmaktadır. Bu durumda acıkma hissi oluşmakta ve kişi sürekli yeme ihtiyacı duyarak açlık hissini bastırmaya çalışmaktadır. Dolayısıyla vücutta gerçekleşen bu reaksiyon obeziteye temel oluşturmakta ve sağlığı olumsuz yönde etkilemektedir. Dirençli nişastanın ise yavaş sindirilmesi kan glikoz seviyesinin kontrol altında tutulmasına ve depo yağların kullanılmasına yardımcı olmaktadır. Bundan dolayı dirençli nişasta bakımından zengin gıdalar hem şeker hastaları hem de obezite için önem taşımaktadır [44].

## Gamlar

Hidrokoloid veya stabilizatör gibi isimlerle de anılan gamlar, yüksek viskozite ve düşük miktarlar da kullandıklarında bile jelleşme özelliği göstermelerinden dolayı gıdalarda tekstür yapısının iyileştirilmesi amacıyla gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır [45].

Karreganlar, D-galaktoz ve 3,6 anhidro-D-galaktozdan oluşan, sıcak suda çözünebilir ve jel oluşturabilen polisakkaritlerdir. Aljinatlar, yüksek viskozite yeteneğine sahip aljinik asidin sodyum tuzu şeklinde bulunan gamlardır [46]. Agar-agar ise galaktoz molekülünden meydana gelmiştir. Su bağlama kapasitesinin iyi olması buz kütlelerinin erimesini geciktirmekle birlikte raf ömrünü uzatmakta böylece gıda sanayinde çok tercih edilen gamlar arasına girmektedir [47].

## DIYET LİFİNİN SAĞLIK AÇISINDAN OLUMLU ETKİLERİ

Diyet lifinin sağlığa yararıyla ilgili birçok çalışma ortaya konulmuştur. Bu çalışmalara göre diyet liflerinin obezite, tansiyon, hemoroit, diyare, bazı bağırsak rahatsızlıkları, hipertansiyon, damar ve immün sistemle ilgili hastalıklar üzerinde olumlu etki gösterdiği belirtilmektedir [48]. Diyet lifinin kolon kanserini engelleyici etkisi ilk olarak Burkitt tarafından ifade edilmiştir. Bu durum kolon kanserinin düşük olduğu ülkelerde lif tüketiminin fazla olmasına dayandırılmıştır [49]. İngiltere'de Bingham ve ark. [50], toplam diyet lifi ile kolon kanserinden ölümler arasında anlamlı bir bağlantı kurmuştur. Kolon kanseri yüksek olan Danimarka ile düşük risk grubunda yer alan Finlandiya'da şehirli ve kırsal bölgeler üzerinde eşzamanlı yapılan bir çalışmada kolon kanseri riski ile diyet lifi tüketimi arasında ters bir orantı gözlemlenmiştir. Sonuç itibarıyla düşük risk grubunda yer alan Finlandiya'da diyet lifi tüketiminin fazla olması kolon kanserine karşı koruyucu bir mekanizma geliştirmiştir [50]. Soler ve arkadaşlarının [51] 1992-1997 yılları arasında İtalya'da farklı tür liflerle ağız, özafagus ve gırtlak kanseri arasındaki ilişki üzerine bir çalışma yapılmıştır. Hastaların 271'i ağız kanseri, 327'si gırtlak kanseri, 304'ü ise özafagus kanseridir. Kontrol grubu ise 1950 kişiden oluşmakla birlikte akut, tümörle ilgili olmayan hastalıklardan hastaneye kabul edilen hastalardır. Vaka ve kontrol grubu ile hastanede kaldıkları süre içerisinde geçerliliği olan yiyecek soru formu kullanılarak görüşmeler yapılmıştır. Tahmini rölatif risk, yaş, cinsiyet ve diğer alkol, tütün tüketimi ve enerji alımı gibi ilişkili faktörler dikkate alındıktan sonra hesaplanmıştır. Tam tahıl ürünlerinin üst sindirim sisteminde ki kanser türleri üzerinde koruyucu etkisi olduğu belirtilmiştir [52,53].

## Diyet Lifinin Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri

Diyet lifi, ince bağırsakta sindirime uğramayıp kalın bağırsakta fermente olmaktadır. Diyet lifinin yaklaşık olarak yarısı fermantasyon sürecine dâhil olurken çözünür diyet lifi çözünmeyen life göre daha çok fermente olmaktadır. Örneğin; çözünür liflerden gamları içeren kuru baklagiller tamamen fermente olurken çözünmez liflerden hemiselüloza sahip kepek ve buğday %20-80 aralığında fermantasyon sürecini gerçekleştirmektedir. Bu fermantasyon sonucunda açığa çıkan asetat, propiyonat ve bütirat gibi kısa zincirli yağ asitleri de kanser hücrelerini pasif hale getirmektedir. Aynı zamanda bu yağ asitleri kolon için enerji kaynağı oluştururken çoğalan hücre yapılarıyla birlikte mukus üretiminde artış sağlamaktadır [54].

Diyet lifinin kalın bağırsakta sağladığı laktasif etkinin yanında besinleri seyreltme ve güçlü absorpsiyon yeteneği ile artan su tutma kapasitesi kabızlığın önüne geçmektedir. Diyet lifi dışkı atık hacmini artırarak bağırsaktan transit süresini kısaltmakta bu da kolonda toksik kalıntıların birikmesini engelleyerek kolon-rektum kanseri riskini azaltmaktadır. Ayrıca besinsel atıkların bağırsakta kalma süresi kısaltıldığında kalın bağırsak çeperinde ki deformasyonu nötralize ederek sızıntılı bağırsak sendromunun da önüne geçmektedir [55].

Diyet lifi, gastrointestinal sistemde yüksek su çekme potansiyelinden dolayı midenin geç boşalmasını sağlayarak yeme isteğini azaltmaktadır. Uzun süre yaşanan tokluk hissi gereksiz gıda alımını azaltmakta ve dengesiz kilo alımının önüne geçmektedir. Aşırı kilo alımının da damar tıkanıklığı, vücut yağ kitle indeksinin artması ve metabolizmanın kontrolünü kaybetmesiyle birçok hastalığa yol açabileceği bilinmektedir. Bu yüzden diyet lifinin midede yarattığı doluluk hissi dolaylı olarak kanseri önleyici parametreler arasında sayılabilir.

### **Diyet Lifinin Kolesterol Üzerine Etkileri**

Diyet lifi kolesterol seviyesini azaltmada fayda sağlamaktadır. Karaciğerde kolesterolün oksidasyonu sonucu meydana gelen safranin %60'ını oluşturan safra asitleri, kolesterolden sentezlenerek safra tuzlarına dönüştürülmekte ve bağırsağa geçmektedir. Bağırsakta bakteriler aracılığıyla tekrar safra asitlerine dönüştürülerek karaciğere geri gelmektedir. Diyet lifi ise safra asitlerini absorbe ederek tekrar karaciğere geçmesini engellemekte ve boşaltım sistemiyle dışarı atılmasını sağlamaktadır. Bu durum ise serum kolesterol seviyesindeki düşüşün olumlu nedeni olmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalar diyet lifinin kandaki kolesterol düzeyini %20 oranında düşürdüğünü göstermektedir. Bu durum kalp-damar hastalıkları riskinin önüne geçme açısından dikkate değer bir faydadır [56].

### **Diyet Lifinin Diyabet Üzerine Etkileri**

Diyet lifinin hastalıklara etkisinde iyileştirici rol oynayan bir diğer hastalıkta diyabettir. Diyet lifi tüketimi, serum glikoz seviyesinde düşüşe neden olarak insülin ihtiyacını azaltır [57]. Diyet lifi, glikozun kolondan emilimini geciktirerek kana hızlı karışmasını engellemektedir. Suda çözünen pentozanlar, pektinler ve gamlar gibi viskozite artırıcı özelliğe sahip olan lifler besinlerin midede kalma süresini uzatarak ince bağırsağa geçişi yavaşlatır ve enzimlerin substrata ulaşmasını engelleyerek glisemik indeks değerini düşürmektedir. Böylece diyet lifi kullanımı diyabet riskini düşürmektedir [58].

Klinik çalışmalarda yüksek lif içeren gıdaların tüketiminin diyabet ile ilişkisi araştırılmıştır. Pektin, gam ve musilaj gibi çözünen lifleri içeren gıdaların yemek öncesi veya sonrası fark etmeksizin insülin ve glikoz seviyelerini düşürdüğü sonucuna varılmıştır [59]. Diyabetliler için günlük diyet lifi miktarının 25-50 g/gün olması gerektiği ifade edilmiştir [60].

### **Diyet Lifinin Obezite Üzerine Etkileri**

Obezite, hormonal ve genetik rahatsızlıkların dışında genelde yanlış beslenme alışkanlığı sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır. Sebze ve meyve gibi lifli gıdaların günlük beslenmeden çıkarılması, hızlı tüketim alışkanlığı, tek tip gıdaya dayalı yanlış diyet uygulamaları obeziteye neden olan etkenler arasında gösterilebilir. Diyet lifleri ise midede sindirilmeyip uzun süre kaldığı için tokluk hissiyatıyla birlikte sürekli yeme alışkanlığını en aza indirmektedir. Bilhassa glisemik indeksi düşük gıdaların tüketimiyle glikozun kana hızlı karışması engellenmekte ve böylece açlık oluşturan temel unsurlar ortadan kalkmaktadır. Bu durum da diyet liflerinin tüketimi obezite hastalığı olanlar için umut verici sonuçlar doğurabilir.

Diyet lifi ile obezite arasındaki en belirleyici bağlantı enerji harcama ve enerji alımının dengede tutulmasına yönelik kurulabilir. Diyet lifi doyumluk ve tokluk gibi fiziksel yaptırımlarla vücudu etkilediği için yiyecek alımını engellemekte dolayısıyla enerji alımını kısıtlamaktadır [61].

Diyet lifi tüketiminin, lifli içerik yönünden zengin meyve, sebze, baklagiller ve tahıl kaynakları ile artırılması gelişmiş ülkelerde mevcut obezite epidemisinin yok edilmesinde bir adım olarak düşünülmektedir. Zayıflamak için uygulanan diyetlere de diyet lifi eklenmesi başarıyı artıran bir faktör olabilir [24].

### **Diyet Lifinin Biyo-yararlanım Üzerine Etkisi**

Diyet lifinin birçok hastalığı iyileştirici etkisinin ya da remisyon dönemine girmesine yardımcı olmasının yanında mineral madde içeriğinin yüksek olması da sağlık açısından bir diğer faydasıdır. Buğday kepeğinden örnek verecek olursak; 100 g buğday kepeği vücudun günlük bakır, çinko, fosfor, magnezyum, kükürt, potasyum gibi vitamin ve mineral ihtiyacının neredeyse tamamına yakınına karşılıkaktadır [68]. Ayrıca kalın bağırsakta fermente olması besinlerin emilim düzeyini artırmakta ve biyo-yararlanımı pozitif yönde etkilemektedir. Yapılan çalışmalar kişilerde diyet lif tüketiminin artırılmasına yönelik faydalarına dikkat çekmektedir. Bu tüketimin günde 25-30 g arasında olması tavsiye edilen miktardır. Alınan toplam diyet lifinin 5-7 gramını çözünen liflerin oluşturması gerektiği söylenmektedir [62]. Bilhassa bebeklerde günlük alınması gereken lif içeriği 19 g olarak belirlenmiştir. Bu miktarın kolon pH düzeyinin düşürerek sindirime yardımcı olması yönünden yeterli ve faydalı olduğu belirtilmektedir [63].

### **DİYET LİFİNİN SAĞLIK AÇISINDAN OLUMSUZ ETKİLERİ**

Diyet lifinin birçok hastalık için iyileştirici etkisi olması yanında fazla alınması durumunda olumsuz etkileri de vardır. Diyet lifinin günlük alınması gereken miktardan fazlası karında şişkinlik, gaz ve ağrıya neden olabilir. Ayrıca özellikle tahıllar ve baklagillerde bulunan fitik asit bileşiğinin ve lektin proteininin fazla alınması çinko minerallerinin emilimini azaltmaktadır. Ve çinko eksikliği de iştahsızlık, dermatit, enfeksiyonlara karşı direncin

düşmesi, bağışıklık sisteminin olumsuz etkilenmesi, tat ve kokuya karşı duyarlılık ve gece körlüğü gibi problemlere neden olmaktadır [64]. Ayrıca lektin intoleransı olan bireylerde ikinci beyin olarak anılan bağırsakların çevresinde sızıntıya neden olmaktadır. Bu sızıntı sonucunda sindirilemeyen ve kana karışan toksik maddeler bağışıklık sistemini zedeleyerek otoimmün hastalıklara yol açmaktadır. Ayrıca depresyon, kaygı, anksiyete gibi psikolojik rahatsızlıklarında sızıntılı bağırsak sendromu neticesinde olduğu söylenmektedir. Bu duyarlılığı en aza indirmek ve gıdalardaki lektini uzaklaştırmak için filizlendirme ve fermantasyon işlemleri kullanılabilir.

Diyet lifi, vitamin, mineral ve antioksidan açısından zengin bir grup olan meyvelerdeki fruktoz alımının yüksek seviyelere çıkması sağlığı olumsuz yönde etkiler. Glisemik indeksi yüksek meyveler tüketildiğinde kana hızlı karışır ve kan şekeri değerini artırır. Bu durumda insülin direncinin gelişmesine sebebiyet verir. Yüksek fruktoz alımının DNA hasarına ve mitokondriyal fonksiyonlarda bozulma yaratabileceği belirtilmektedir. Bunun yanında kansere sebep olabileceği düşünülmektedir. Yüksek fruktoz alımı hücrel stres ve kontrolsüz hücrel büyümeyi tetikleyebilir [65]. Bağırsak duvarı hasarlı, bağırsak florası dengesiz ve fruktoz intoleransı olan kişilerde fazla fruktoz alımı karın ağrısı, şişkinlik ve gaz gibi problemlere neden olabilir. Bu yüzden günlük alınması gereken 16-20 g fruktoz miktarını aşmamak gerekir [66].

Avokado, ıspanak ve kuruyemişler gibi gıdalar her ne kadar bol lifli gıdalar olsalar da histamin oranı yüksek gıdalardır. Histamin intoleransına sahip kişilerde bu gıdaların tüketimi vücutta alerjik reaksiyonlara, baş dönmesi ve çarpıntıya, migren ağrılarına, bulantı ve kusmaya, burun tıkanıklığı ve nefes almada zorluk çekmeye neden olabilir. Ayrıca içeriğinde histamin olmamasına rağmen histamin salınımını artıran buğday rüşeymi, ananas, muz gibi lifli gıdalarda vardır. Bu gıdaların histamini bloke eden diaminoksidaz enzimi olmadan vücuda alınması histamin intoleransı olan bireylerin sağlığını olumsuz yönde etkiler.

## SONUÇ

Son yıllarda, insanların sağlıklı yaşam üzerine günlük ritüellerini düzenlemeye başlaması sağlıklı beslenmeyi de beraberinde getirmiştir. Özellikle insanların bilinçlenmesiyle birlikte etiket okuma alışkanlığı kazanmasıyla üretilen paketli gıdalarda birçok katkı maddesinin yer aldığı farkındalığına ulaşması ve bunların araştırmalar neticesinde birçok hastalığa davetiye çıkardığının bilinmesi sağlıklı beslenmeye olan ilgiyi daha çok artırmıştır. Diyet lifi ise sağlığını korumak ya da hastalıklarına olumlu katkılar sağlamak isteyen insanlar için listenin başında yer alması gereken bir unsur olmuştur. Çünkü yapılan araştırmalar diyet lifinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin besleyici ve tedavi edici özelliklere sahip olduğunu göstermektedir.

Ülkemizin mevcut tarım potansiyeli düşünüldüğünde diyet lif kaynakları yönünden zengin bir ülkedir. Hatta gıda endüstrinin üretim artıklarında ortaya çıkan diyet

posaları önemli lif kaynakları oluşturmaktadır. Bu atıkların değerlendirilmesi ve ar-ge çalışmalarında yeni ürünlerle desteklenmesi hem sağlığımız için hem de toplumsal bilinç kazanarak lif içeriği yüksek gıdalara talebi artırabilir. Günümüzde artan glütensiz beslenme popülaritesi içinde lif içeriği yüksek kinoa, karabuğday gibi tahıl yerine geçebilecek gıdalar önem taşımaktadır. Gelecekte diyet lif içeriği yüksek endüstriyel veya fonksiyonel gıdaların sağlık üzerindeki etkilerinin araştırılmaya devam edeceği beslenme tarzı fark etmeksizin birçok insanın diyet kompozisyonunda daha çok yer alacağı öngörülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Burdurlu, H.S., Karadeniz, F. (2003). Gıdalarda diyet lifinin önemi. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 7(15), 18-25.
- [2] Ayar, A. (2006), *Diyet lifler ve beslenmedeki önemleri*, www.gidaraporu.com/lifligida\_g.htm., [Erişim Tarihi: 01.09.2019]
- [3] Arslan, S., Erbaş M. (2014). Selüloz ve selüloz türevi diyet liflerin özellikleri ve fırın ürünlerinde kullanım imkânları. *Gıda*, 39(4), 243-250.
- [4] Venter, C.S. (2006). Prebiotics for the improvement of human health. *Human Ecology*, 14, 1-6.
- [5] BeMiller, J.N., Whistler, R.L. (1996). Dietary fiber and carbohydrate digestibility. Food Chemistry (Ed. Fennema, O.R.), Marcel Dekker, New York, USA, pp. 157-224.
- [6] Dülger, D., Şahan, Y. (2011). Diyet lifi özellikleri ve sağlık üzerine etkisi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2), 147-157.
- [7] Devries, J.W., Prosky, L., Li, B., Cho, S. (1999). A historical perspective of defining dietary fiber. *Cereal Foods World*, 44, 367-369.
- [8] Köksel, H., Özboy, O. (1993). Besinsel liflerin insan sağlığındaki rolü. *Gıda*, 18(5), 309-314.
- [9] Samur G. (2008). Diyet posası ve kalp damar hastalıkları. *Türk Kardiyoloji Seminerleri*, 8(2), 271-277.
- [10] Ekici, L., Erçoşkun, H. (2007). Et ürünlerinde diyet lif kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1, 83-90.
- [11] Ramulu, P., Rao, P.U. (2003). Total insoluble and soluble dietary fiber contents of indian fruits. *Journal of Food Composition Analysis*, 16(6), 677-688.
- [12] Rodríguez, R., Jiménez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R., Heredia, A. (2006). Dietary fibre from vegetable products as a source of functional ingredients. *Trends in Food Sciences and Technology*, 17, 3-15.
- [13] Thebaudin, J.Y., Lefebvre, A.C., Harrington, M., Bourgeois, C.M. (1997). Dietary fibres: nutritional and technological interest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 8, 41-48.
- [14] Bemiller, J.N., Whistler, R.L. (1996). Dietary fiber and carbohydrate digestibility. Food Chemistry, Marcel Dekker, USA, pp. 157-224.
- [15] Erbilir, Özel, F. (2006). Değişik Meyveler ve Bu Meyvelerden Yapılan Reçellerde NDF, ADF ve Hemiselüloz İçeriğinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi,

- Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- [16] <http://www.turkomp.gov.tr/database> (Erişim Tarihi: 20.09.2019).
- [17] Chauvelon, G., Buleon, A., Thibault, J.F., Saulnier, L. (2003). Preparation of sulfoacetate derivatives of cellulose by direct esterification. *Carbohydrate Research*, 338, 743-750.
- [18] Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., Patil, R.T. (2012). Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49, 255-66.
- [19] Espinoza-Herrera, N., Pedroza-Islas, R., San Martin-Martinez, E., Cruz-Orea, A., Tomas, S.A. (2011). Thermal, mechanical and microstructures properties of cellulose derivatives films: a comparative study. *Food Biophysics*, 6(1), 106-114.
- [20] Harris, P. J., Ferguson, L. R. (1999). Dietary fibres may protect or enhance carcinogenesis. *Nutrition Research*, 443, 95-110.
- [21] Meier, R.F. (2009). Basics in clinical nutrition: fibre and short chain fatty acids. *European Journal of Clinical Nutrition Metabolism*, 4, 69-71.
- [22] Valenzuela, M.B., Jones, C.W., Agrawal, P.K. (2006). Batch aqueous-phase reforming of woody biomass. *Energy Fuels*, 20, 1744-1752.
- [23] Kay, R.M. (1982). Diyet lifi. *The Journal of Lipid Research*, 23, 221-224.
- [24] Slavin, J.L. (2005). Dietary fiber and body weight. *Nutrition*, 21, 411-418.
- [25] Shelton, D., Lee, W.J. (2000). Cereal carbohydrates, 385-416. (Ed: Kulp, K., Ponte, J). *Handbook of Cereal Science and Technology*, second ed. Marcel Dekker, New York.
- [26] Kurtuluş, M. (2010). Lignoselülozik Materyallerden Termokatalitik İşleme Süda Çözündürülen Polisakkaritlerin Moleküler Yapılarının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Adana.
- [27] Harholt, J., Suttangkakul, A., Scheller, H.V. (2010). Biosynthesis of pectin. *Plant Physiology*, 153, 384-395.
- [28] William, G.T., Lesley, M., William, M., Paul, K. (2001). Pectin: cell biology and prospects for functional analysis *Plant Molecular Biology*, 47, 9-27.
- [29] Demirci, M. 2006. Karbonhidratlar. Gıda Kimyası, Rebel Yayıncılık, Tekirdağ.
- [30] Yuliarti, O. (2011). Isolation and Characterisation and Functional Properties of Pectin from Gold Kiwifruit (*Actinidia chinensis* cv. HORT16A). PhD Thesis. Massey University, 287p, New Zeland.
- [31] Bilişli, A. (2009). Karbonhidratlar. Gıda Kimyası, Sidas Medya Ltd. Şti, İzmir.
- [32] Chris, J.M., Carol, A.P., Mark, A.B. (2011). Spatial and temporal deposition of suberin during maturation of the onion root exodermis. *Botany*, 89(2), 119-131.
- [33] Heredia, A. (2003). Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1620, (1-3): 1-7.
- [34] Causey, J.L., Feirtag, J.M., Gallaher, D.D., Tungland, B.C., Slavin, J.L. (2000). Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men. *Nutrition Research*, 20, 191-201.
- [35] Nurcan, Y. (2010). İnülin ve oligofruktozların insan sağlığı ve beslenmesi üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 8, 49-54.
- [36] Franck, A. (2006). Inulin. *Food Polysaccharides and Their Applications*, 752, CRC Press, USA.
- [37] Ertugay, Z., Kotancılar, G., (1988). Nişastanın bazı fizikokimyasal özellikleri ile ekmek içi sertliği arasındaki ilişkiler. *Gıda*, 13, 115-121.
- [38] Karaoğlu, M.M. (1998). Farklı Yöntemler Uygulanarak Elde Edilmiş Modifiye Nişastaların Kek Kalitesi Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.
- [39] Englyst, H., Wiggins, H.S., Cummings, J.H. (1982). Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, 107, 307-318.
- [40] Özdemir, A., Sıdali, U. (2013). Streptomyces sp. Mc10 suşunun alfa amilaz üretim kabiliyetinin belirlenmesi. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9, 39-46.
- [41] Kotancılar, H., Gerçekaslan, K., Karaoğlu, M., Boz, H. (2009). Besinsel lif kaynağı olarak enzime dirençli nişasta. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40, 103-107.
- [42] Nugent, A. (2005). Health properties of resistant starch. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, 30, 27-54.
- [43] Dizlek, H., Özer, M.S., İnanç, E., Gül, H. (2009). Karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench) bileşimi ve gıda sanayiinde kullanım olanakları. *Gıda Dergisi*, 34, 317-324.
- [44] Anonim, (2005b). Resistant Starch—Questions and Answers. British Nutrition Foundation, [http://www.nutrition.org.uk/upload/Resistant%20Starch\(1\)](http://www.nutrition.org.uk/upload/Resistant%20Starch(1)), (Erişim Tarihi: 10 Mart 2008).
- [45] Demirci, M. (2010). Gıda Kimyası, Yenilenmiş 5. Baskı, 51-52, Onur Grafik, İstanbul.
- [46] Belitz, H. D., Groch, W., Schieberle, P. (2004). Carbohydrates, Food Chemistry. 3rd revised Edition, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p: 314-318.
- [47] Roberts, K.T. (2011). The physiological and rheological effects of foods supplemented with gaurgum. *Food Research International*, 5(44), 1109-1114.
- [48] Tamer, C.E., Aydoğan, N., Çopur, Ö.U. (2004). Besinsel liflerin sağlık üzerine etkileri. *Türkiye 8. Gıda Kongresi*, 26-28 Mayıs, Bursa.
- [49] Burkitt, D.P. (1971). Epidemiology of cancer of the colon and rectum. *Cancer*, 28, 3-13.
- [50] Bingham, S.A., Willams, D.D.R., Cole, T.J., James, W.p.T. (1979). Dietary fibre consumption and regional large bowet cancer mortality in Britain. *British Journal of Cancer*, 40, 456-463.
- [51] Soler, M., Bosetti, C., Franceschi, S., Negri, E., Zambon, p, Talamini, R., Conti, E., Vecchia, C.L. (2001). Fiber intake and the risk of oral pharyngeal



- and esophageal cancer. *The International Journal of Cancer*, 1, 283-287.
- [52] Kritchevsky, D. (1986). Diet, nutrition, and cancer. *Cancer*, 1830-1836.
- [53] Satchithanandam, S., Klurfeld, DM., Calvert R.J., Cassidy MM. (1996). Effects of dietary fibers on gastrointestinal mucin in rats. *Nutrition Research*, 16, 1163-77.
- [54] Kahlon, T.S., Chow, F.I., Hoefler, J.L., Betschart, A.A. (2001). Effect of wheat bran fiber and bran particle size on fat and fiber digestibility and gastrointestinal tract measurements in the rat. *Cereal Chemistry*, 78(4), 481-484.
- [55] Villanueva-Suarez, M.J., Redondo-Cuenca, A., Rodríguez-Sevilla, M.D., De Las Waldron, K.W., Parker, M.L., Smith, A.C. (2003). Plant cell walls and food quality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(4), 128-146.
- [56] Burdock, G.A. (2007). Safety assessment of hydroxypropyl methylcellulose as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2341-51.
- [57] Memiş, E., Şanlıer, N. (2009). Glisemik indeks ve sağlık ilişkisi. *Gazi Üniversitesi Endüstriyel Sanatlar Eğitimi Fakültesi Dergisi*, 24, 17-27.
- [58] Ou, S., Kwok, K., Li, Y., Fu, L. (2001). In vitro study of possible role of dietary fiber in lowering postprandial serum glucose. *Food Chemistry*, 49, 1026-1029.
- [59] Anderson, J.W., Randles, K.M., Kendall, D.W., Jenkins, D.J. (2004). Carbohydrate and fiber recommendations for individuals with diabetes: a quantitative assessment and meta analysis of the evidence. *Journal of the American College of Nutrition*, 23, 5-7.
- [60] Freeman, B. B. (2000). Dietary fiber and energy regulation. *The Journal of Nutrition*, 13(2), 272-275.
- [61] Kurucu. (1987). Beslenme. Milli Eğitim Basımevi, 421 s.
- [62] Dashti, B., Al-Awadi, F., Khalafawi, M.S., Sawaya, W., Al Amiri, H. (2003). Soluble and insoluble dietary fibre in thirty-two kuwaiti dishes. *Food Chemistry*, 83, 557-561.
- [63] Brooks, S. P. J., Mongeau, R., Deeks, R., Lampi, B.J., Brassard, R. (2006). Dietary fibre in baby foods of major brands sold in Canada. *Journal of Food Composition Analysis*, 19, 59-66.
- [64] Ajarapu R. (2000). Phytate/minerals in Indian vegetarian dishes. San Jose State University, A Thesis, 132 p, California, USA.
- [65] Charrez, B., Qiao, L., Hebbard, L. (2015). The role of fructose in metabolism and cancer. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 22(2), 79-89.
- [66] Park, YK., Yetley, EA. (1993). Intakes and food sources of fructose in the United States. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 58(5 Suppl), 737-747.
- 
-

## Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

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

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

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

### Makalelerin Değerlendirilmesi

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

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

### Yazım Ücreti

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

### Etik Beyanı

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

### Çalışmaların Hazırlanması

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

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

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

4. Ana metin 9.5 punto Arial olarak hazırlanmalıdır.

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

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

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

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

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

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

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

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

## Makale

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

## Kitap

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

## Kitap Bölümü

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

## Kongre-Sempozyum Bildirisi

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

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

13. Yukarıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmamış çalışmalar değerlendirmeye alınmaz.

## Guidelines to Authors

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

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

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

### Peer review policy

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

### Publication fee

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

### Ethics Statement

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

### Preparation of a manuscript

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### **Article**

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

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

#### **Book**

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

#### **Book Chapter**

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

#### **Proceedings of the Congress-Symposium**

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

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

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

## Etik Beyanı

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

### Yayın Politikası

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

### Makalelerin Değerlendirilmesi

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

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

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

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

### Yayın Ücreti

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

### Gizlilik

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

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

### Yazarlık

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

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

### Destekleyen/Finans Sağlayan Kuruluşlar

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

### Yazarlarda Değişiklik

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

### Çalışma Verilerinde Düzeltme

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

### Makalenin Geri Çekilmesi

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

### Etik Hususlar

#### Çıkar çatışması:

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

Editörleri bilgilendirmesi ve bu konuda COPE kurallarına uyması tavsiye edilmektedir.

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

### İnsan denekleri, hayvan veya bitki içeren araştırmalar

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

### Yayın suistimali

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

## Telif Hakkı

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

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



## Ethics and Publication Malpractice Statement

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

### Editorial Policy

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

### Peer Review

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

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

### Publication Fee

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

### Confidentiality

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

Akademik GIDA conducts a double-blind peer review process, i.e. the names of the reviewers are confidential to ensure the critical evaluation of the work. Reviewers are asked not to disclose their names or contact details in their comments for authors.

### Authorship

An author is an individual who substantially contributed to the idea or design of a research, acquisition of data, analysis or interpretation of data, was involved in drafting, writing or revising the manuscript critically for important intellectual content. Other contributors should be mentioned in the Acknowledgements section of the manuscript and cannot be considered as authors of the study. Correct and full names of all authors and their [ORCID](#) IDs should be on the title page of the manuscript. Names of authors must be supplemented with their affiliations and a valid address of the corresponding author. The phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be stated in the first page of the manuscript. All authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.

### Funding Sources

Details for all funding sources of the research should be stated in the Acknowledgements. Authors should provide

the full official funding agency name(s) and grant number(s).

### **Alteration in Authorship**

Alteration in authorship after the submission of the manuscript to Akademik GIDA can be justified only by the additional work required during the revision. Any change is not allowed after the acceptance of the manuscript for publication. Alteration in authorship should be indicated in the responses to reviewers, and should be accepted by all authors. The corresponding author is primarily responsible for any alteration in the revised version of the manuscript, including the order of authors.

### **Correction of Data**

All authors should be responsible for the accuracy of the published data. For the correction of data, the corresponding author receives the galley proof of the paper and is asked to correct it carefully within 4 days before publication.

### **Retraction of an Article**

A retraction of an article is used to correct errors in submission or publication. Authors can retract the paper and should follow the Committee on Publication Ethics (COPE) [retraction guidelines](#). In case of a duplicate or overlapping publication, fraudulent use of data, plagiarism or unethical research, the paper will be retracted by the editor, and a retraction notice will be included into the electronic database while all links to the retracted article will be maintained.

### **Ethical Considerations**

#### ***Conflict of interest:***

- Authors should declare any conflict of interest in their submission form. Authors are requested to suggest at least three potential reviewers before submission, and these reviewers cannot be their colleagues, collaborators or members of their institutions.
- Reviewers should notify the editors on any conflict of interest which prevents them from reviewing the paper, and they are recommended to follow the [COPE guidelines](#).
- For the manuscripts submitted by the members of the Editorial Board or their collaborators, peer reviewing is modified to exclude them from the entire evaluation process in order to minimize any bias during the evaluation.
- During revision, the editors follow the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).

#### ***Research involving human subjects, animals or plants:***

- If the research involves humans or animals, the authors are recommended to follow the guidelines of the [International Committee of Medical Journal Editors](#).

- In studies involving human subjects, their informed consent to participate in the study should be supplied by the authors. For subjects under the age of 18, their parents or guardians should give the permission for their participation in the study. For all tested subjects, the manuscript must accompany with a statement detailing compliance with relevant guidelines and/or appropriate permissions or licenses.
- Any research on animals must comply with institutional, national or international guidelines and, where possible, should be approved by an ethics committee.
- Any experimental research on plants, including collection of plant materials, must comply with institutional, national, or international guidelines.
- Field studies should be conducted in compliance with local legislation, and a statement specifying the appropriate permissions and/or licences should be included in the manuscript.

#### ***Publication misconduct:***

- The Journal follows the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).
- In a case of a suspected misconduct such as redundant or duplicate submission, plagiarism, text recycling, violation of ethical norms, etc., researchers, reviewers or readers are encouraged to contact the Editorial Office ([ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com)).
- The overlapping in the manuscript is highly restricted to the maximum of 25% with no more than 10% from a single source; otherwise, the manuscript will be rejected. If these terms are violated, COPE recommendations will be followed and all parties involved will be notified.

### **Copyright**

Akademik GIDA applies the [Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 CC BY-NC license](#) to all published papers, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes. Before publication, the [Copyright Transfer Form](#) must be signed by the corresponding author and returned to the editorial office of the journal. Copyright of published papers is retained by the Sidas Media Agency Advertisement Consultation Ltd. (Cankaya, Izmir, Turkey). Authors have the right to use their published article freely and in noncommercial purposes, as long as its integrity is maintained and its original authors, citation details and publisher are clearly stated. Individual users may access, download, copy, display, and adapt the manuscripts published in Akademik GIDA, provided that the authors' intellectual and moral rights, reputation and integrity are not compromised. Users must ensure that any reuse complies with the copyright policies of the owners. If the content of the published manuscripts is copied, downloaded or otherwise reused for noncommercial research and educational purposes, a link to the appropriate bibliographic citation (authors, journal title, manuscript title, volume, year and page

numbers, and the link to the published version on the [Journal's website](#) should be provided. Copyright notices and disclaimers must not be deleted.

---

Fevzipaşa Blv. Çelik İş Merkezi No:162 K:3 D:302 Çankaya / İZMİR  
Tel: +90 232 441 60 01 Fax: +90 232 441 61 06 E-mail: [sidasmedya@gmail.com](mailto:sidasmedya@gmail.com)

**SIDAS MEDYA**