

# GIDA

*THE JOURNAL OF FOOD*



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 46

SAYI / NUMBER : 6

YIL / YEAR : 2021

**GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI**

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF  
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

**Sahibi / Owner**

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

<b>Baş Editör/ Editor-in Chief</b>	<b>Danışma Kurulu / Advisory Board</b>
<b>ERİNÇ, Hakan; Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey</b>	Akköse, Ahmet; <i>Atatürk University, Turkey</i> Ank, Gökşen G.; <i>Balıkesir University, Turkey</i> Atalar, İlyas; <i>Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> Baysal, A. Handan; <i>İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey</i> Bezirtzoğlu, Eugenia; <i>Democritus University of Thrace, Greece</i> Bozkır, Hamza; <i>Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey</i> Çilak, Gizem Ö.; <i>Hittit University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> El Soda, <i>Morsi University of Alexandria, Egypt</i> Erbay, Zafer; <i>Adana Bilim ve Teknik University, Turkey</i> Evren, Mustafa; <i>Ondokuz Mayıs University, Turkey</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Gerçekaslan, K. Emre; <i>Neşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Güneşer, Onur; <i>Uşak University, Turkey</i> Güven, Esra Ç.; <i>İstanbul Teknik University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Hoşoğlu, Müge I.; <i>Gebze Teknik University, Turkey</i> Hüner, İrem D.; <i>Trakya University, Turkey</i> Kahraman, Kevser; <i>Abdullah Gül University, Turkey</i> Karaca, Hakan; <i>Pamukkale University, Turkey</i> Koçan, Deniz; <i>Aksaray University, Turkey</i> Konuskan, Dilşat B.; <i>Mustafa Kemal University, Turkey</i> Kuleşan, Hakan; <i>Süleyman Demirel University, Turkey</i> Meral, Raciye; <i>Yüzüncü Yıl University, Turkey</i> Mete, Aylin A.; <i>Mersin University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Muştaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Mutlu, Türkan K.; <i>Çukurova University, Turkey</i> Öztürk, Fatma; <i>Kâtip Çelebi University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> San, Ferda; <i>Cumburiyet University, Turkey</i> Şengün, İlkin Y.; <i>Ege University, Turkey</i> Soyer, Yeşim; <i>Orta Doğu Teknik University, Turkey</i> Toğay, Sine Ö.; <i>Bursa Uludağ University, Turkey</i> Toker, Ömer S.; <i>Yıldız Teknik University, Turkey</i> Velioglu, Murat; <i>Namık Kemal University, Turkey</i> Yemiş, Gökçe P.; <i>Sakarya University, Turkey</i> Yolaçaner, Elif; <i>Hacettepe University, Turkey</i> Yorulmaz, Aslı; <i>Adnan Menderes University, Turkey</i> Zorba, Murat; <i>Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey</i>
<b>Editörler / Editors</b> AVCI, Ayşe; <i>Sakarya University, Turkey</i> ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; <i>Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey</i> DEMİRKESEN, Mert; <i>İlkem, Ministry of Agriculture and Forestry, Turkey</i> DEMİROK SONCU, Eda; <i>Ankara University, Turkey</i> EYİLER, Esen; <i>Akdeniz University, Turkey</i> KULEAŞAN, Şükran; <i>Mehmet Akif University, Turkey</i> TABAN, Birce; <i>Ankara University, Turkey</i> TORUN, Mehmet; <i>Akdeniz University, Turkey</i> ÖZDEN, Özkan; <i>İstanbul University, Turkey</i>	
<b>Yönetim Yeri</b> <b>Adres / Address</b> Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey	
<b>Tel:</b> (+90) 0534 968 5994 • <b>Faks:</b> (+90) 312 317 8711 <b>E-posta / E-mail:</b> dergi@gidadernegi.org <b>URL:</b> http://www.gidadernegi.org	
<b>Yayın Türü:</b> Yaygın süreli ve hakemli	
<b>Hazırlayan / Prepared</b> Sim Ajans 19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com	
<b>Yayın Tarihi / Publication Date</b> 15 12 2021	

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

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

# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Akbulut Çakır, Ç., Bozkurt, A. *Effect of mineral salt replacers on the physicochemical, microbial and sensory properties of yogurt drink, ayran* / Mineral tuz ikame maddelerinin ayranın fizikokimyasal, mikrobiyal ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi ..... **1386-1396**

Leyluhan Yurtseven, B., Çıkrıkçı Erünsal, S., Öztop, M H. *Investigation of several factors on enzymatic hydrolysis of sugar beet pulp and corn cob: Statistical analyses of the experimental results* / Şeker pancarı küspesi ve mısır koçanının enzimatik hidrolizinde farklı faktörlerin etkisinin incelenmesi: Deney sonuçlarının istatistiksel analizleri ..... **1369-1385**

Sallan, S., Kaban, G., Kaya, M. *Effects of black pepper and sodium ascorbate on volatile compounds of sucuk* / Karabiber ve sodyum askorbatın sucuğun uçucu bileşikleri üzerine etkileri ..... **1358-1368**

Çorapçı, B. *Quality of black scorpionfish (scorpaena porcus, linnaeus 1758) meat cooked in different cooking materials* / Farklı pişirme materyalleri içinde pişirilen iskorpit balığı (*Scorpaena porcus*, Linnaeus 1758) etinin kalitesi ..... **1415-1424**

Coşansu, S., Toupal, S., Aslan, Ö. *Growth kinetics and survival of Lactobacillus acidophilus in black rice milk* / *Lactobacillus acidophilus*'ün siyah pirinç sütünde gelişme kinetiği ve canlılığı ..... **1440-1449**

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Yüksekdağ, H., Yüksekdağ, Z. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* zn541 ve *Streptococcus thermophilus* z1052 suşlarında beta galaktozidaz aktivitesi ve optimizasyon / *Beta galactosidase activity in Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* zn541 and *streptococcus thermophilus* z1052 strains and optimization ..... **1331-1342**

Gürer, B. *Türkiye'de nüfusun yeterli ve dengeli beslenmesi açısından hayvansal gıda arz ve talebinin değerlendirilmesi* / *Evaluation of the supply and demand for animal products in terms of sufficient and balanced nutrition in Turkey* ..... **1450-1466**

Fincan, M., Çiftci, Y. *Vurgulu elektrik alan ön işlemi ile dereotundan fenoliklerin ekstraksiyonu: Dondurup çözündürme, ısı işlem, mikrodalga ön işlemleri ve solvent ekstraksiyonu ile karşılaştırılması* / *Extraction of phenolics from dill leaf with pulsed electric field pretreatment: Comparison with freeze thaw, heat treatment, microwave pretreatments and solvent extraction* .. **1343-1357**

Erkoç, S., Özcan, İ., Özyiğit, E., Kumcuoğlu, S., Tavman, Ş. *Yumurta ikamesi olarak kullanılan çiya ve keten tohumu jelinin pankek hamuru reolojisi ve ürün özellikleri üzerine etkisinin incelenmesi* / *Investigation of the effects of chia and flaxseed gel used egg replacers on pancake batter rheology and product properties* ..... **1397-1414**

Kaya, B., Zorba, N. N., Caner, C. *Kitosan bazlı etil pirüvat filmlerin fizikokimyasal, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-quorum sensing özelliklerinin belirlenmesi* / *Determination of physicochemical, antioxidant, antimicrobial and anti-quorum sensing properties of chitosan films incorporated with ethyl pyruvate films* ..... **1425-1439**

Erinç, Ö., Erinç, H., Mert, B., Özbey, A. *Lityum klorit/dimetilasetamid ortamında nanoselülozun asetik anhidrit ve farklı yağ asitleri ile esterifikasyonunun optimizasyonu* / *Optimization of nanocellulose esterification with different fatty acids and acetic anhydride in lithium chloride/dimethylacetamide medium* ..... **1467-1480**

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Salık, M., A., Çakmakçı, S. *Zeytin (Olea europaea L.) yaprağının fonksiyonel özellikleri ve gıdalarda kullanım potansiyeli* / *Functional properties and usage potentials in food of olive (olea europaea L.) leaf* ..... **1481-1493**

Saygı, Y. B., Saygı, I. *Beslenmede farkındalık* / *Mindful eating* ..... **1494-1504**

**LACTOBACILLUS DELBRUECKII SUBSP. BULGARICUS ZN541 VE  
STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS Z1052 SUŞLARINDA BETA  
GALAKTOZİD AZ AKTİVİTESİ VE OPTİMİZASYON**

**Hazer Yüksekdağ<sup>1\*</sup>, Zehranur Yüksekdağ<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Gölbaşı Kampusu, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji ABD, Teknikokullar, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 30.03.2021; Kabul / Accepted: 06.09.2021; Online baskı / Published online: 14.10.2021

Yüksekdağ, H., Yüksekdağ, Z. (2021). *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 ve *Streptococcus thermophilus* Z1052 suşlarında beta galaktozidaz aktivitesi ve optimizasyon. *GIDA* (2021) 46 (6) 1331-1342 doi: 10.15237/gida.GD21059.

Yüksekdağ, H., Yüksekdağ, Z. (2021). Beta galactosidase activity in *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 and *Streptococcus thermophilus* Z1052 strains and optimization. *GIDA* (2021) 46 (6) 1331-1342 doi: 10.15237/gida.GD21059.

**ÖZ**

Çalışmada, 31 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve 34 *Streptococcus thermophilus* bakterisi kültürlerinde, o-nitrofenil-beta-D-galaktosid (o-NPG) substrat olarak kullanılarak, β-galaktosidaz enzim ve spesifik aktiviteleri taranmıştır. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşları 0.186-6.500 U/mg arasında spesifik aktivite gösterirken, *S. thermophilus* suşları 0.172-5.064 U/mg arasında spesifik aktivite göstermiştir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 (6.500 U/mg) ve *S. thermophilus* Z1052 (5.064 U/mg) suşlarının yüksek spesifik aktivite yeteneğine sahip oldukları tespit edilmiştir. Yüksek spesifik β-galaktozidaz aktivitesi gösteren ZN541 ve Z1052 suşları seçilerek, farklı koşulların (pH, sıcaklık, laktoz konsantrasyonu ve fermantasyon süresi) bu suşlara ait β-galaktozidaz enzimlerin aktivitelerine etkileri belirlenmiştir. ZN541 suşunda optimum enzim aktivitesi için gereken pH'nın 6.2, sıcaklığın 42°C, laktoz konsantrasyonunun %2 ve fermantasyon süresinin 24 saat olduğu tespit edilmiştir. Z1052 suşunda ise optimum enzim aktivitesi için gereken pH'nın 6.8, sıcaklığın 42°C, laktoz konsantrasyonunun %4 ve fermantasyon süresinin 24 saat olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus*, β-galaktosidaz, optimizasyon

**BETA GALACTOSIDASE ACTIVITY IN LACTOBACILLUS DELBRUECKII  
SUBSP. BULGARICUS ZN541 AND STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS Z1052  
STRAINS AND OPTIMIZATION**

**ABSTRACT**

In this study, thirty-one *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and thirty-four *Streptococcus thermophilus* were screened for β-galactosidase enzyme activities and specific activities. The β-galactosidase enzyme activities were determined by using o-nitrophenyl-beta-D-galactopyranoside (o-NPG) as a substrate. *L. delbrueckii* *bulgaricus* strains showed specific activity between 0.186-6.500 U/mg, while *S. thermophilus* strains exhibited specific activity between 0.172-5.064 U/mg. The highest specific enzyme activities among bacteria cultures were determined at *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 (6.500

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: hazer@gazi.edu.tr, zehranur@gazi.edu.tr

☎: (+90) 312 484 5635

☎: (+90) 312 484 3649

Hazer Yüksekdağ; ORCID no: 0000-0001-7953-2920

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

U/mg) and *S. thermophilus* Z1052 (5.064 U/mg) strains. The ZN541 and Z1052 strains that showed high specific  $\beta$ -galactosidase activity were selected and the effects of different conditions (pH, temperature, lactose concentration, and fermentation time) on the activities of  $\beta$ -galactosidase enzymes of these strains were determined. It was determined that the pH required for optimum enzyme activity in ZN541 strain was 6.2, the temperature was 42°C, the lactose concentration was 2% and the fermentation time was 24 hours. In the Z1052 strain, the pH required for optimum enzyme activity was 6.8, the temperature was 42°C, the lactose concentration was 4%, and the fermentation time was 24 hours.

**Keywords:** *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*,  $\beta$ -galactosidase, optimization.

## GİRİŞ

Yaygın olarak laktaz olarak bilinen  $\beta$ -galaktosidazlar ( $\beta$ -D-galaktosid galaktohidrolazlar, EC 3.2.1.23), laktozun galaktoz ve glikoz monomerlerine hidrolizini katalize eden glikozit hidrolazlardır ve gıda endüstrisindeki çeşitli biyoteknolojik süreçler için önemli bir enzimdir. Süt ve peynir altı suyunda laktoz hidrolizi için yaygın olarak kullanıldığından ticari açıdan önemlidir (Carević vd., 2015; Delgado-Fernandez vd., 2020). Hidrolitik aktivitelere ek olarak,  $\beta$ -galaktosidazlar, laktozdan galakto-oligosakkaritler (GOS) oluşturmak için transgalaktozilasyon aktivitesine sahiptirler. Ayrıca, laktoz intoleransı olan bireyler için düşük laktozlu ve laktozsuz süt ürünlerinin geliştirilmesi, laktoz içeren gıdaların teknolojik ve duyuşal özelliklerinin iyileştirilmesi ve peynir üretim proseslerindeki peynir altı suyu yan ürünlerindeki laktoz seviyelerini azaltmak gibi uygulamaları mevcuttur (Kittibunchakul vd., 2020; Deng vd., 2020).

$\beta$ -galaktosidaz enzimi kaynakları arasında bitkiler, hayvanlar ve maya, küf ve bakteri gibi mikroorganizmalar yer almaktadır (Deng vd., 2020). Biyoteknolojik uygulamalarda enzim kaynağı olarak *Kluyveromyces marxianus*, *K. lactis* ve *K. fragilis* yaygın olarak kullanılmaktadır (Inchaurredo vd., 1998). Yüksek aktiviteyi nedeniyle *Bifidobacterium* (*B. adolescentis*, *B. infantis* ve *B. longum*) (Venkateswarulu vd., 2017) ve laktik asit bakterileri (*Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus crispatus*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* vb.) bakterileri de kullanılmaktadır (Gobinath ve Prapulla, 2015; Kim ve Rajagopal, 2000; Yu vd., 2020). Süt endüstrisi uygulamalarında, fermentasyon kolaylığı, yüksek enzim aktiviteyi ve iyi stabilite olmaları nedeniyle bakteriler ve

özellikle laktik asit bakterileri daha çok tercih edilmektedir (İbrahim, 2018).

Bu çalışmada yoğurt kaynaklı 31 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve 34 *Streptococcus thermophilus* suşlarının öncelikle  $\beta$ -galaktosidaz aktivitelerinin taranması amaçlanmıştır. Daha sonra yüksek spesifik  $\beta$ -galaktosidaz aktiviteye sahip *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 ve *S. thermophilus* Z1052 suşları seçilerek, bu suşlardan elde edilen  $\beta$ -galaktosidaz enzimine farklı koşulların (pH, sıcaklık, laktoz konsantrasyonu ve fermentasyon süresi) etkisinin belirlenerek enzim aktivitesinin yüksek olduğu optimum koşullar tespit edilmesi hedeflenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Çalışmada geleneksel yoğurt kaynaklı 31 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve 34 *S. thermophilus* bakteri kültürlerine ait toplam 65 suş, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının geliştirilmesinde MRS besiyeri, enzim aktivitelerinin belirlenmesinde ise MRS içeriğinde bulunan glikoz yerine %2 oranında laktozun ilave edildiği Lac-MRS besiyeri kullanılmıştır. *S. thermophilus* suşlarının geliştirilmesinde Elliker besiyeri, enzim aktivitelerinin belirlenmesinde ise Elliker içeriğinde bulunan dekstroz yerine %2 oranında laktozun ilavesi edildiği Lac-EL besiyeri kullanılmıştır.

### Enzim Aktivitesi

Bakteriler uygun besiyortamlarında iki kez aktifleştirildikten sonra 5000 rpm'de 20 dk +4°C'de santrifüj edilerek Mc Farland 6 bulanıklığına ayarlanan kültürlerden elde edilen

pellet 0.03 M potasyum fosfat tamponuyla (pH 6.8) yıkanmıştır. 1 mL tamponda çözülen bakterilerin hücre duvarı ultrasonikasyon (50 MHz, Vibra-Cell, Sonics&Materials Inc. Danbury, CT marka) ile parçalanmıştır. 1000 rpm'de 10 dk +4°C'de santrifüjlenen örneklerden hücre atıkları uzaklaştırılmış ve süpernatant ham enzim ekstraktı olarak kullanılmıştır (Zhang vd., 2012).

Bradford Reagent Kit (Amresco) kullanılarak kültürlerin protein miktarları belirlenmiştir. Standart olarak 0.0025-0.05 mg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda Bovine serum albumin (BSA) kullanılmıştır.

$\beta$ -galaktozidaz aktivitesi soğuk şartlarda o-nitrofenil- $\beta$ -D-galaktopiranozit (o-NPG, Sigma) substrat olarak kullanılarak tespit edilmiştir. 1 mL enzim ekstraktına 0.2 mL 15 mM o-NPG içeren 0.03 M potasyum fosfat tamponu (pH 6.8) eklenmiş ve 37°C'da 15 dk inkübe edilmiştir. Reaksiyonu durdurmak için 1 M 0.5 mL sodyum karbonat (Merck) solüsyonu ilave edilerek 1000 rpm'de +4°C'de 10 dk santrifüjden sonra spektrofotometre cihazı ile (Hitachi UV-1800) 420 nm dalga boyunda absorbanans değeri okunmuştur. Kör olarak, ham ekstrakt yerine 1 mL 0.03 M potasyum fosfat tamponu (pH 6.8) kullanılmıştır. 1 ünite  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi dakikada 1  $\mu$ mol o-nitrofenolü serbest bırakan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır. Spesifik aktivite, bir miligram proteinde bulunan enzim ünite sayısı olarak kabul edilmiştir.  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (Shah ve Otieno, 2007).

$$\text{Enzim aktivitesi (U/mL)} = \frac{OD_{420}}{k} \times \frac{1}{t} \times [V_t/V_e] \times D$$

$$\text{Spesifik aktivite (U/mg)} = \left[ \frac{\text{Enzim aktivitesi (U/mL)}}{\text{Protein miktar (mg/mL)}} \right]$$

V<sub>t</sub> = Tüpte hazırlanan toplam reaksiyon hacmi  
V<sub>e</sub> = Küvette okutulan reaksiyon karışımındaki enzim hacmi  
k = Standart eğrinin eğimi  
t = Reaksiyon zamanı  
D = Dilüsyon faktörü

### Optimizasyon

Enzim aktivitesi tespit edilen 65 suş arasında yüksek spesifik  $\beta$ -galaktozidaz aktivite gösteren *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 ve *S. thermophilus* Z1052 suşları, farklı koşulların (pH, sıcaklık, laktoz konsantrasyonu ve fermantasyon süresi) enzim aktivitesine etkisinin belirlenmesi amacıyla seçilmiştir.

ZN541 ve Z1052 suşlarından elde edilen enzimlerin optimum aktivite gösterdiği pH değerini belirlemek için, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 suşunda, pH'sı 5.0, 6.2, 7.0 ve 8.0 değerlerine ayarlanan 0.03 M potasyum fosfat tamponu kullanılmış ve reaksiyon 42°C'de gerçekleştirilirken, *S. thermophilus* Z1052 suşunda tamponun pH'sı 5.5, 6.8, 7.5 ve 8.5 değerlerine ayarlanarak reaksiyon gerçekleştirilmiştir (Kara, 2004). Suşlarından elde edilen enzimlerin optimum aktivite gösterdiği sıcaklığı belirlemek için, 1 mL hücre süspansiyonuna 15 mM 0.2 mL o-NPG eklenmiş ve her iki örnekte de reaksiyon 30°C, 37°C, 42°C ve 50°C sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir (Ismail vd., 2010). Laktoz (substrat) konsantrasyonunun enzim aktivitesine etkisini belirlemek için, ZN541 suşunda Lac-MRS besiyerine, %2, %4, %6 ve %8 oranlarında laktoz (Merck), Z1052 suşunda ise Lac-EL besiyerine %2, %4, %6 ve %8 oranlarında laktoz (Merck) kullanılarak enzim aktivitesi belirlenmiştir (Hsu vd., 2005). Fermantasyon süresinin enzim aktivitesine etkisini belirlemek için ZN541 ve Z1052 suşlarından, 18, 24, 48 ve 72 saat inkübasyondan sonra elde edilen enzimlerin aktiviteleri yukarıda verilen enzim aktivitesi yöntemine göre belirlenmiştir. Enzim aktiviteleri relatif aktivite olarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Relatif aktivite (%) = İncelenen parametredeki enzim aktivitesi/Optimum koşullardaki enzim aktivitesi x100

### İstatistiksel Analiz

Tüm çalışmalar 3 paralelli ve 3 tekerrürlü olarak yapılmış ve çalışmaların ortalama sonuçları verilmiştir. İstatistiksel analizlerde SPSS (IBM SPSS Statistics Data Editor, version 22) kullanılmıştır. Suşların enzim ve spesifik

aktiviteleri arasında korelasyon olup olmadığı araştırılmasında Parametrik testlerden Pearson korelasyonu kullanılmıştır.

### SONUÇ ve TARTIŞMA

$\beta$ -Galaktosidaz, gıda endüstrisinde; sütün sindirilebilirliğini iyileştirmede, süt ürünlerinin tatlılığını, çözünürlüğünü ve lezzetini geliştirmede ve dondurulmuş konsantre tatlılarda laktoz kristalizasyonunun önlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Süt endüstrisinden sonra elde edilen hidrolize süt, laktoz intoleransı olan kişiler için yoğurt, peynir ve dondurma (konsantre tatlılar) yapımında da kullanılabilir (Xin vd., 2019).  $\beta$ -Galaktosidaz, gıda endüstrisi dışında, ilaç endüstrisinde laktozdan kaynaklanan problemlerin hafifletilmesinde ve prebiyotik özellikleriyle bilinen galaktooligosakkaritlerin sentezi gibi birçok uygulamaları olan önemli ticari enzimlerden biridir (Gomaa, 2018). Ticari olarak çok farklı kullanım potansiyeline sahip  $\beta$ -Galaktosidaz enziminin en önemli kaynakları probiyotik özelliklerinden dolayı laktik asit bakterileridir. Bu nedenden dolayı, bu çalışmada yüksek enzim aktivitesine sahip güvenilir ve yeni laktik asit bakterileri (LAB)'nin araştırılması amaçlanmıştır.

LAB'nde,  $\beta$ -Galaktosidaz enzimi intrasellüler bir enzim olduğundan (Carević vd., 2015; Son vd., 2017; Deng vd., 2020; Özkan vd., 2021; Mahadevaiah vd., 2020), çalışmamızda enzim ekstraksiyonunda bakterilerin hücre duvarını parçalamak için mekanik yöntemlerden yaygın olarak kullanılan (Carević vd., 2015) ultrasonikasyon kullanılmıştır. 31 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve 34 *S. thermophilus* bakteri kültürlerine ait toplam 65 suşun  $\beta$ -galaktozidaz enziminin intrasellüler olduğunu desteklemek amacıyla kültür süpernatantlarında da enzim aktivitesine bakılmış ve sonikasyon uygulanmayan kültür süpernatantında aktiviteye rastlanılmamıştır. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşları, 0.011 U/mL (ZN142)-0.247 U/mL (ZN541) arasındaki değişen değerlerde  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi, 0.186 U/mg (ZN142)-6.500 U/mg (ZN541) arasında  $\beta$ -galaktozidaz spesifik aktivite göstermişlerdir. *S. thermophilus* suşları, 0.007 U/mL (Z14)-0.238 U/mL (Z1052) arasındaki değişen değerlerde  $\beta$ -galaktozidaz

aktivitesi, 0.172 U/mg (Z1152)-5.064 U/mg (Z1052) arasında  $\beta$ -galaktozidaz spesifik aktivite göstermişlerdir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşları arasında, ZN541 (0.247 U/mL), ZN661 (0.149 U/mL) ve ZN641 (0.121 U/mL) suşları yüksek enzim aktivitesi gösterirken, *S. thermophilus* suşları arasında, Z1052 (0.238 U/mL), Z752 (0.221 U/mL) ve ZN641 (0.217 U/mL) suşları yüksek enzim aktivitesi göstermiştir (Çizelge 1). Bakterilerin spesifik aktiviteleri değerlendirildiğinde, her iki türde de suşlar arasında aktivitede önemli farklılıklar gözlemlenmiş ancak *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarının daha yüksek spesifik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Yüksek enzim aktivitesine sahip suşların yüksek spesifik aktiviteye sahip olup olmadığı istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının enzim ve spesifik enzim aktivitesi arasında 0.01 düzeyinde bir korelasyon tespit edilirken ve *S. thermophilus* suşlarının enzim ve spesifik enzim aktivitesi arasındaki anlamlılık düzeyi ise 0.05 olarak belirlenmiştir. Carević vd., (2015) *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşunda 0.011 IU/mL enzim aktivitesi olduğunu; Deng vd., (2020) ise *S. thermophilus* ST61 suşunda 78.85 U/mg spesifik aktivitenin olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların, diğer araştırmacıların sonuçlarından düşük olmasının nedeni, bakterilerin izolasyon kaynağı, karbon kaynağı, kullanılan enzim ekstraksiyon metodlarının farklılığı (sıcaklık, pH, tampon, ekstraksiyon yöntemi, enzim ve substrat konsantrasyonu) ve aktivite hesaplanma yöntemlerindeki farklılıklar olabilir.

Geniş bir kullanım potansiyeline sahip  $\beta$ -galaktozidaz enziminin endüstriyel uygulamalarda kullanılabilmesi için yüksek enzim aktivitesinin yanında enzimin aktivite gösterdiği en uygun koşullarının da belirlenmesi gerekmektedir (İsmail vd., 2010; Kılıç vd., 2014; Carević vd., 2015; Deng vd., 2020). Bu amaçla çalışmamızda spesifik  $\beta$ -galaktozidaz enzim aktivitesi belirlenen suşlar arasından yüksek spesifik aktiviteye sahip iki suş seçilmiş (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 ve *S. thermophilus* Z1052) ve farklı pH, sıcaklık, laktoz konsantrasyonları ve fermantasyon sürelerinde enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

Çizelge 1. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* suşlarının β-galaktozidaz enzim ve spesifik aktiviteleri

Table 1. The β-galactosidase enzyme and specific activity in *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus*

Bakteriler <i>Bacteria</i>	Protein Miktarı (mg/mL) <i>Protein content</i> (mg/mL)	Enzim Aktivitesi (U/mL) <i>Enzyme</i> <i>activity</i> (U/mL)	Spesifik Aktivite (U/mg) <i>Specific activity</i> (U/mg)	Bakteriler <i>Bacteria</i>	Protein Miktarı (mg/mL) <i>Protein content</i> (mg/mL)	Enzim Aktivitesi (U/mL) <i>Enzyme</i> <i>activity</i> (U/mL)	Spesifik Aktivite (U/mg) <i>Specific activity</i> (U/mg)
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (n=31)*				<i>S. thermophilus</i> (n= 34)**			
ZN171	0.023±0.002	0.020±0.001	1.150±0.002	Z15	0.024±0.001	0.032±0.000	0.750±0.001
ZN19	0.019±0.003	0.059±0.001	0.322±0.002	Z14	0.007±0.000	0.009±0.000	0.778±0.000
ZN141	0.017±0.001	0.029±0.003	0.586±0.002	Z151	0.217±0.000	0.096±0.000	2.260±0.000
ZN172	0.042±0.000	0.025±0.000	1.680±0.000	Z18	0.009±0.000	0.025±0.000	0.360±0.000
ZN18	0.036±0.003	0.059±0.002	0.610±0.003	Z173	0.063±0.002	0.074±0.002	0.851±0.002
ZN142	0.011±0.000	0.059±0.001	0.186±0.001	Z171	0.034±0.000	0.059±0.001	0.576±0.001
ZN252	0.033±0.000	0.024±0.002	1.375±0.001	Z272	0.088±0.000	0.074±0.000	1.189±0.000
ZN272	0.021±0.000	0.041±0.000	0.512±0.000	Z261	0.014±0.000	0.041±0.000	0.341±0.000
ZN251	0.048±0.000	0.068±0.000	0.706±0.000	Z271	0.018±0.000	0.041±0.000	0.439±0.000
ZN281	0.054±0.000	0.041±0.000	1.317±0.000	Z372	0.112±0.000	0.089±0.000	1.317±0.000
ZN362	0.030±0.003	0.034±0.003	0.883±0.003	Z361	0.030±0.003	0.034±0.000	1.258±0.002
ZN382	0.029±0.000	0.054±0.001	0.537±0.001	Z351	0.092±0.000	0.045±0.000	2.044±0.000
ZN341	0.039±0.004	0.043±0.002	0.907±0.003	Z472	0.096±0.000	0.067±0.002	1.433±0.001
ZN342	0.018±0.000	0.032±0.000	0.563±0.000	Z482	0.104±0.000	0.082±0.000	1.268±0.000
ZN361	0.015±0.000	0.026±0.003	0.577±0.002	Z662	0.052±0.000	0.062±0.000	1.339±0.000
ZN461	0.095±0.000	0.041±0.001	2.302±0.001	Z651	0.083±0.000	0.062±0.000	0.839±0.000
ZN442	0.082±0.000	0.062±0.003	1.323±0.002	Z672	0.105±0.000	0.091±0.000	1.150±0.000
ZN471	0.021±0.005	0.031±0.002	0.677±0.003	Z682	0.069±0.000	0.080±0.000	0.862±0.000
ZN552	0.015±0.001	0.027±0.000	0.556±0.001	Z752	0.221±0.000	0.071±0.000	3.113±0.000
ZN572	0.061±0.000	0.042±0.000	1.452±0.000	Z743	0.052±0.000	0.073±0.000	0.712±0.000
ZN551	0.018±0.001	0.026±0.001	0.692±0.001	Z861	0.014±0.000	0.034±0.000	0.412±0.000
ZN543	0.021±0.004	0.043±0.000	0.553±0.002	Z862	0.088±0.001	0.080±0.001	1.100±0.001
ZN541	0.247±0.000	0.038±0.001	6.500±0.000	Z1062	0.009±0.001	0.043±0.001	0.209±0.001
ZN662	0.022±0.001	0.059±0.001	0.373±0.001	Z1083	0.120±0.000	0.098±0.000	1.224±0.000
ZN661	0.149±0.000	0.071±0.001	2.099±0.001	Z1061	0.098±0.001	0.095±0.001	1.032±0.001
ZN652	0.073±0.000	0.058±0.001	1.259±0.001	Z1081	0.049±0.000	0.091±0.000	0.538±0.000
ZN641	0.121±0.000	0.043±0.004	2.814±0.002	Z1051	0.039±0.000	0.081±0.001	0.481±0.001
ZN672	0.096±0.000	0.034±0.001	2.823±0.001	Z1052	0.238±0.000	0.047±0.000	5.064±0.000
ZN82	0.061±0.001	0.038±0.001	1.605±0.001	Z1161	0.072±0.000	0.056±0.001	1.288±0.001
ZN942	0.097±0.000	0.067±0.002	1.448±0.001	Z1152	0.010±0.001	0.058±0.001	0.172±0.001
ZN951	0.124±0.000	0.071±0.000	1.746±0.001	Z1171	0.107±0.000	0.067±0.000	1.597±0.000
				Z1151	0.054±0.000	0.081±0.000	0.667±0.000
				Z1153	0.084±0.000	0.081±0.000	1.037±0.000
				Z1162	0.100±0.000	0.064±0.000	1.563±0.000

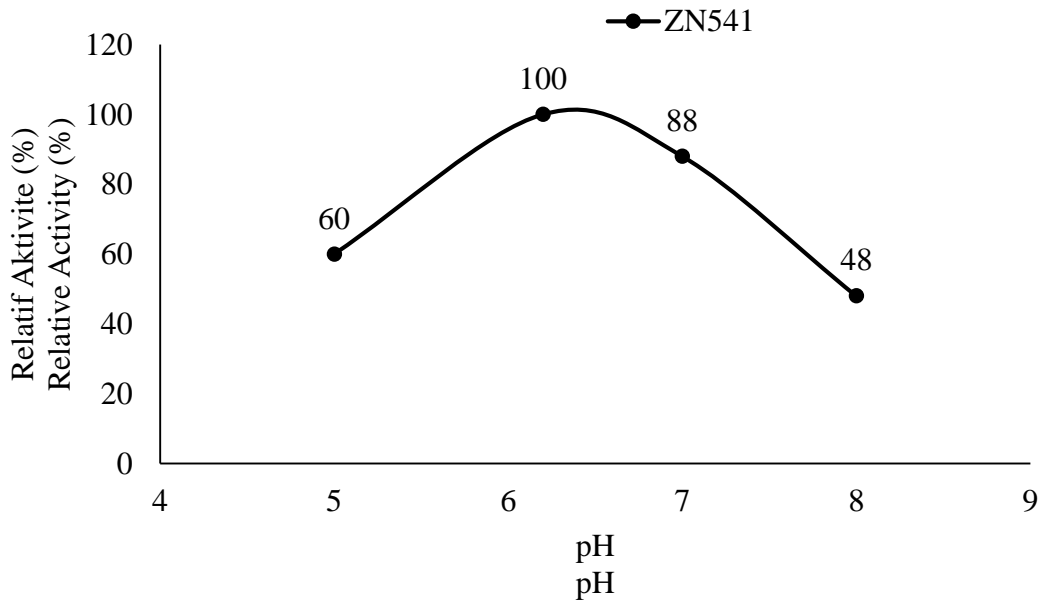
\* P<0.01 düzeyinde anlamlı (Korelasyon)

\*\* P<0.05 düzeyinde anlamlı (Korelasyon)

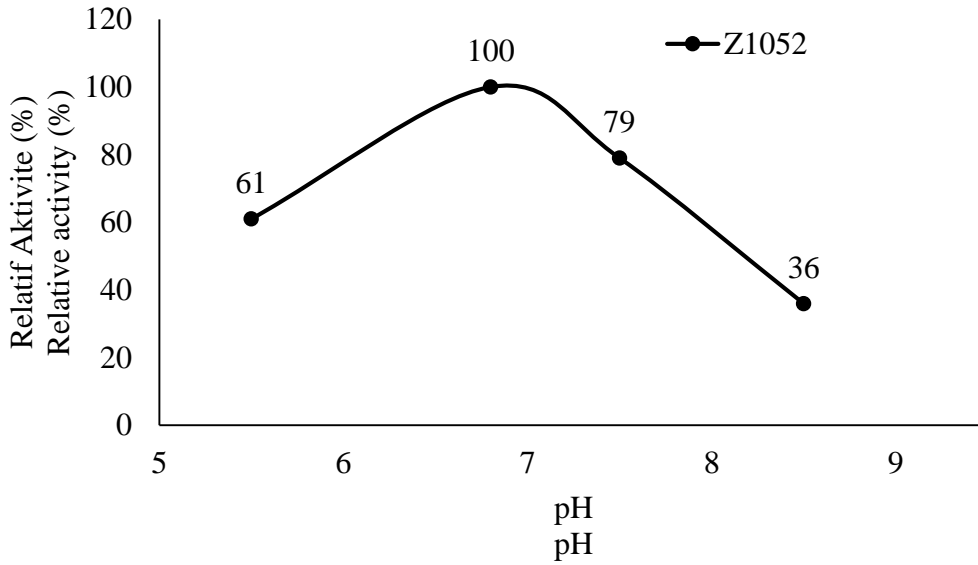


$\beta$ -Galaktosidazların optimum çalışma pH'ları, kaynaklarına bağlı olarak büyük ölçüde değişebilmektedir. Genel olarak, pH profillerine göre asidik  $\beta$ -galaktosidazlar (mantarlarda) ve nötr  $\beta$ -galaktosidazlar (bakterilerde ve mayalarda) olarak iki gruba ayrılabilirler (Panesar ve ark., 2010). pH, enzimle katalize edilen bir reaksiyonun hızını etkilediği için, bir enzimin aktivitesi ve stabilitesi üzerindeki etkisini bilmek gerekmektedir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 suşunda, farklı pH'lardaki (pH 5.0, 6.2, 7.0, 8.0) enzim aktivitesinin sırasıyla, 0.148 U/mL (relatif aktivite: %60), 0.247 U/mL (5100), 0.218 U/mL (%88) ve 0.119 (%48) U/mL olduğu belirlenmiştir. ZN541 suşundan elde edilen  $\beta$ -galaktozidaz enziminin optimum aktivite gösterdiği pH değeri 6.2 olarak bulunmuştur (Şekil 1). *S. thermophilus* Z1052 suşunda, pH 5.5, 6.8, 7.5 ve 8.5'de  $\beta$ -galaktozidaz enzim aktivitesi sırasıyla, 0.145 U/mL (relatif aktivite: %61), 0.238

U/mL (%100), 0.189 U/mL (%79) ve 0.086 U/mL (%36) olarak tespit edilmiştir. Z1052 suşundan elde edilen  $\beta$ -galaktozidaz enziminin optimum aktivite gösterdiği pH değeri 6.8 olarak bulunmuştur (Şekil 2). Optimum pH değerinden asidik ve alkali ortamlarda relatif aktivitede düşüş gözlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde, enzimin en aktif olduğu pH değerinin, *L. acidophilus* için 6.8 (Carević vd., 2015), *S. thermophilus* 95/2 suşu için pH 7.0, *L. bulgaricus* 77 suşu için pH 7.0-7.5 arasında (Ustok vd., 2010) ve *Lactococcus lactis* için pH 6.0 (Mozumder vd., 2012) olduğu rapor edilmiştir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 (pH 6.2) ve *S. thermophilus* Z1052 (pH 6.8) suşlarından elde edilen  $\beta$ -galaktozidaz enzimi nötr pH'a yakın değerlerde yüksek relatif aktivite gösterdiklerinden, sütte (pH 6.6) ve peynir altı suyunda (pH 6.2) laktozun hidrolizinde kullanım potansiyeline sahip olabilecekleri düşünülmüştür.



Şekil 1. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541'den elde edilen  $\beta$ -galaktozidaz enzimine pH'ın etkisi  
Figure 1. Effect of pH on  $\beta$ -galactosidase enzyme activity in *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541



Şekil 2. *S. thermophilus* Z1052'den elde edilen  $\beta$ -galaktozidaz enzimine pH'nın etkisi  
Figure 2. Effect of pH on  $\beta$ -galactosidase enzyme activity in *S. thermophilus* Z1052

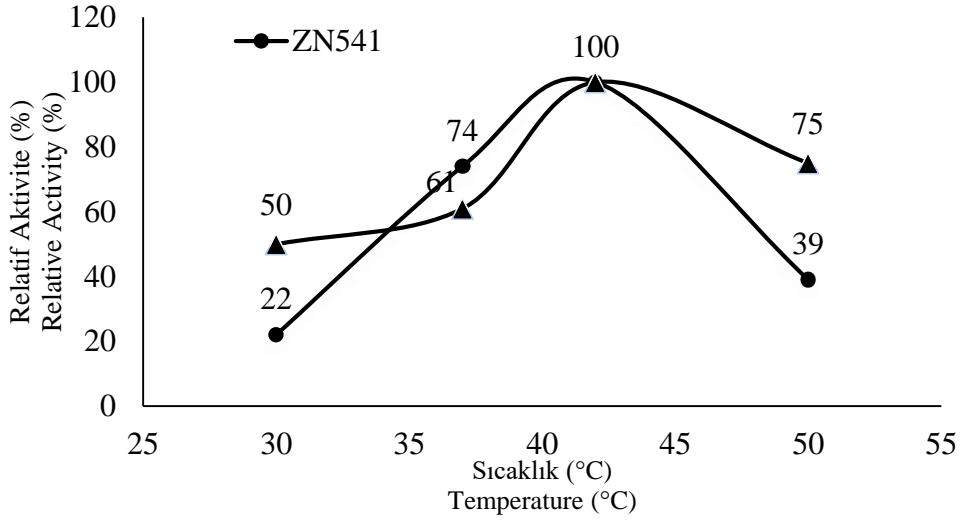
Bakterilerden elde edilen  $\beta$ -galaktosidazın kullanım kaynağını belirlemedeki seçim kriterlerinden biri de reaksiyon sıcaklığıdır (Mahadevaiah vd., 2020). Reaksiyon süresi, pH, enzimin elde edildiği kaynak, substrat gibi birçok faktör enzimin optimum sıcaklığını etkilemektedir (Ustok vd., 2010). *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 suşunda enzim aktivitesi, 30°C'de 0.055 U/mL (relatif aktivite: %22), 37°C'de 0.184 U/mL (%74), 42°C'de 0.247 U/mL (%100) ve 50°C'de 0.097 U/mL (%75) olduğu belirlenmiştir (Şekil 3). *S. thermophilus* Z1052 suşunda enzim aktivitesi, 30°C'de 0.120 U/mL (relatif aktivite: %50), 37°C'de 0.144 U/mL (%61), 42°C'de 0.238 U/mL (%100) ve 50°C'de 0.178 U/mL (%39) tespit edilmiştir. Her iki suşdan elde edilen enzimin optimum sıcaklık değeri 42°C olarak belirlenmiştir. Enzimlerin relatif aktivitesinin 30°C'de en düşük değerde olduğu görülmüştür (Şekil 3). Benzer şekilde, farklı laktik asit bakterileri ile yapılan çalışmalarda,  $\beta$ -galaktozidazın en aktif olduğu sıcaklığın, *L. crispatus* ATCC 33820 için 45°C (Kim ve Rajagopal, 2000), yoğurttan izole edilen *S. thermophilus* suşu için 40°C (Princely vd., 2013), *L. plantarum* 70810 suşu için 60°C (Zhang vd., 2013) ve *S. thermophilus* 95/2 suşu için 50°C, *L. bulgaricus* 77 suşu için 45°C (Ustok vd., 2010) olduğu rapor edilmiştir. Süt endüstrisinde laktozun hidrolizinde

yüksek sıcaklıklarda istenmeyen mikroorganizmalar çoğalmadan  $\beta$ -galaktozidaz elde edilebileceğinden çalışmamızda belirlenen yüksek sıcaklıklarda enzim aktivitelerinin fazla olması bir avantaj olarak değerlendirilmiştir.

LAB'de  $\beta$ -galaktosidaz üretimi için substrat konsantrasyonu, enzimin reaksiyon hızını arttıran en önemli faktörlerden birisidir (Deng vd., 2020). Lac baskılayıcı proteinine bağlanarak lacZ geninin ekspresyonunu destekleyen ve bu proteinin lac operonun operatör bölgesine bağlanmasını engelleyen laktoz,  $\beta$ -galaktosidaz sentezini uyaran optimum karbon kaynağıdır (Wheatley vd., 2013). Bu nedenle bu çalışmada substrat kaynağı olarak laktoz kullanılmış ve farklı konsantrasyonlardaki laktozun (%2, 4, 6 ve 8) enzim aktivitesine etkisi rapor edilmiştir. *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ZN541 suşunda, farklı laktoz konsantrasyonlarındaki enzim aktivitesinin sırasıyla, 0.247 U/mL (relatif aktivite: %100), 0.155 U/mL (%62), 0.134 U/mL (%54) ve 0.121 U/mL (%49); Z1052 suşunda ise sırasıyla, 0.136 U/mL (relatif aktivite: %57), 0.238 U/mL (%100), 0.142 U/mL (%60) ve 0.137 U/mL (%58) olarak belirlenmiştir. ZN541 suşundan elde edilen enzimin optimum laktoz konsantrasyonu %2, Z1052 suşundan elde edilen enziminin optimum laktoz konsantrasyonu ise %4 olarak tespit edilmiştir. ZN541 suşundan

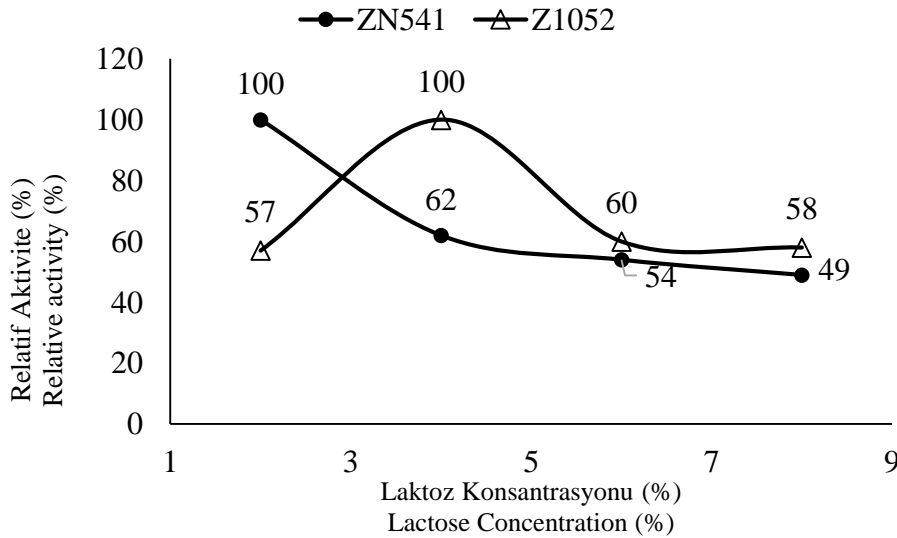
elde edilen enzimde, laktoz konsantrasyonu arttıkça relatif aktivitenin düştüğü görülmüştür (Şekil 4). Kılıç (2013), *L. fermentum* ZYN17 ve *L. acidophilus* BAZ36 suşları için %4, *L. casei* LB65 ve *L. rhamnosus* GD11 suşları için %2 oranında laktozun enzim aktivitesinin en uygun, Akolkar vd., (2005) *L. acidophilus* suşundan elde ettikleri β-

galaktozidaz enziminin maksimum β-galaktozidaz aktivitesini %1,5 laktoz konsantrasyonunda ve Zhang vd., (2013), *L. plantarum* 70810 suşunun ise %4 laktoz konsantrasyonunda aktivitenin yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda, β-galaktozidaz enzim aktivitesi farklı laktoz konsantrasyonlarında farklılık göstermiştir.



Şekil 3. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 ve *S. thermophilus* Z1052 suşlarından elde edilen β-galaktozidaz enzime sıcaklığın etkisi

Figure 3. Effect of temperature on β-galactosidase enzyme in *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 and *S. thermophilus* Z1052

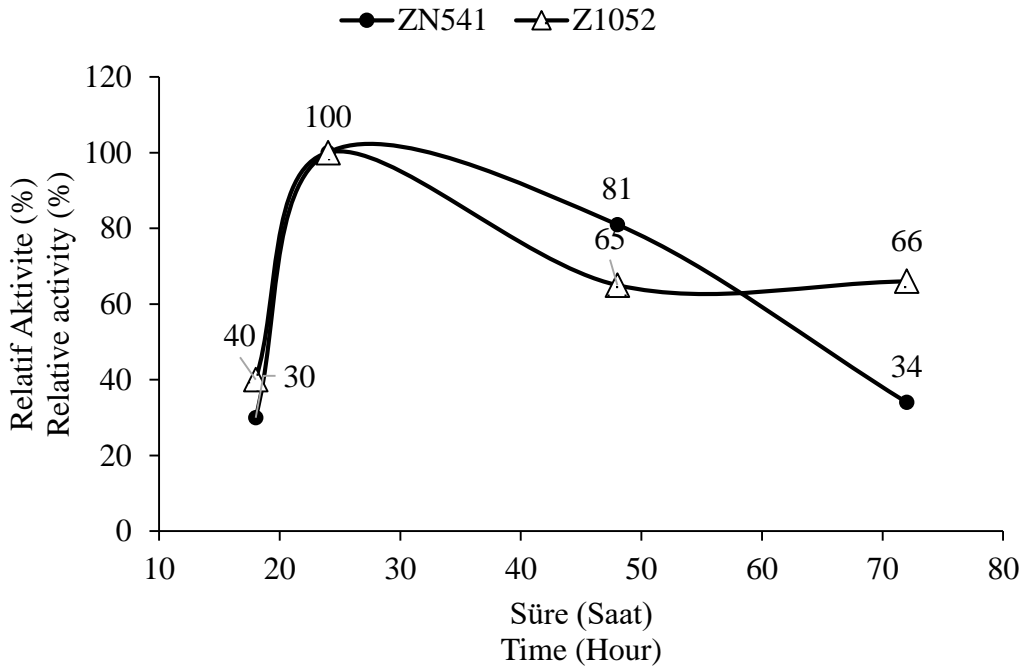


Şekil 4. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 ve *S. thermophilus* Z1052 suşlarından elde edilen β-galaktozidaz enzime laktoz konsantrasyonunun etkisi

Figure 4. Effect of lactose concentration on β-galactosidase enzyme in *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 and *S. thermophilus* Z1052

Mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri üzerinde, fermantasyon süresi önemli bir etkiye sahiptir. Bakterilerin fermantasyon süresinin kısa olması enzim üretim maliyetini azaltan bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Serin ve Akcan, 2019). *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 suşunda, enzim aktivitesi 18. saatte 0.074 U/mL (relatif aktivite: %30), 24. saatte 0.247 U/mL (%100), 42. saatte 0.201 U/mL (%81) ve 72. saatte 0.084 U/mL (%34) olduğu belirlenirken, *S. thermophilus* Z1052 suşunda enzim aktivitesi 18. saatte 0.095 U/mL (%40), 24. saatte 0.238 U/mL (%100), 42. saatte 0.154 U/mL (%65) ve 72. saatte 0.157 U/mL (%66) olarak tespit edilmiştir. ZN541 ve Z1052 suşlarından elde edilen enzimlerin optimum enzim aktivitesi için gereken fermantasyon süresinin 24 saat olduğu belirlenmiştir. Her iki suştan elde edilen enzimlerin relatif aktivitenin 18. saatte en düşük değerde olduğu görülmüştür (Şekil 5). Benzer

şekilde, Makwana vd., (2017) 10 *Lactobacillus* kültüründe  $\beta$ -galaktozidaz aktivitenin 24. saatte 48. ve 72. saate göre daha yüksek olduğunu, Carević vd., (2015) *L. acidophilus* suşunda 48. saatte enzim aktivitesinin maksimum düzeyde olduğunu ve soya ieeğinden (Das vd., 2020) izole edilen 8 *Lactobacillus* suşunun, optimum enzim aktivitesini 24. saatte gösterdiklerini bildirmişlerdir. Birçok bakterinin maksimum  $\beta$ -galaktozidaz enzim üretimini durgunluk fazının başlangıcında gösterdiği rapor edilmektedir (Carević vd., 2015; Alves vd., 2010). Bu durum, durgunluk fazında, ortamda bulunan laktoz hidrolizinin sonucu olarak düşük laktoz konsantrasyonu ve daha büyük miktarlarda serbest glikozun,  $\beta$ -galaktozidaz üretiminin baskılanmasına neden olduğu şeklinde yorumlanmıştır (Murad vd., 2011). Çalışmamızdaki her iki bakterilerinin de enzim aktivitesinin durgunluk fazının başlangıcında yüksek çıktığı görülmüştür.



Şekil 5. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 ve *S. thermophilus* Z1052 suşlarından elde edilen  $\beta$ -galaktozidaz enzimine fermantasyon süresinin etkisi

Figure 5. Effect of fermentation time on  $\beta$ -galactosidase enzyme in *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ZN541 and *S. thermophilus* Z1052

Bu çalışmada,  $\beta$ -galaktozidaza duyulan endüstriyel ilgiden dolayı, yoğurt kaynaklı *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* suşlarının  $\beta$ -galaktozidaz üretimi için potansiyel kaynak olabilirliği araştırılmıştır. Optimizasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlar doğrultusunda, bakterilerimizden elde edilen enzimlerin biyoteknolojik uygulamalar için umut verici adaylar olabileceği düşünülmüştür.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların makale ile ilgili başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

#### YAZAR KATKILARI

ZY ve HY, araştırmanın planlanması, yürütülmesi, değerlendirilmesi ve yazımında görev almıştır.

#### TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Akademik Yazma Uygulama Ve Araştırma Merkezi'ne makalenin İngilizce dil bilgisini kontrol ettiği için teşekkür ederiz.

#### KAYNAKLAR

Alves, F.G., Filho, F., Medeiros Burkert, J., Kalil, S. 2010. Maximization of  $\beta$ -Galactosidase production: A simultaneous investigation of agitation and aeration effects. *Appl Biochem Biotech*, 160, 1528–1539. doi: 10.1007/s12010-009-8683-z

Akolkar, S.K., Sajgure, A., Lele, S.S. 2005. Lactase Production from *Lactobacillus acidophilus*. *World J Microbiol Biotechnol*, 21, 1119–1122. doi: 10.1007/s11274-005-0079-9

Carević, M., Vukašinović-Sekulić, M., Grbavčić, S., Stojanović, M., Mihailović, M. Dimitrijević, A., Bezbradica, D. 2015. Optimization of  $\beta$ -galactosidase production from lactic acid bacteria. *Hem Ind*, 69 (3), 305–312. doi: 10.2298/HEMIND140303044C

Das, S., Mishra B.K., Hati, S. 2020. Effect of nutritional factors on growth behaviour, proteolytic,  $\beta$ -glucosidase and  $\beta$ -galactosidase activities of *Lactobacillus* cultures during soy-drink fermentation. *Curr Res Nut Food Sci*, 8 (3), 877-888. doi: <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.8.3.18>

Delgado-Fernandez, P., Plaza-Vinuesa, L., Lizasoain-Sánchez, S., de las Rivas, B., Muñoz, R., Jimeno, M.L., García-Doyagüez, E., Moreno, F.J., Corzo, N. 2020. Hydrolysis of lactose and transglycosylation of selected sugar alcohols by LacA  $\beta$ -galactosidase from *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *J Agric Food Chem*, 68, 7040–7050. doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02439

Deng, Y., Xu, M., Ji, D., Agyei, D. 2020. Optimization of  $\beta$ -galactosidase production by batch cultures of *Lactobacillus leichmannii* 313 (ATCC 7830). *Ferment*, 6, 27. doi.org/10.3390/fermentation6010027

Gobinath, D. and Prapulla, S.G. 2015. Transgalactosylating  $\beta$ -galactosidase from probiotic *Lactobacillus plantarum* MCC2156: Production and permeabilization for use as whole cell biocatalyst. *J Food Sci Technol-Mysore*, 52 (9), 6003–6009. doi:10.1007/s13197-014-1656-4

Gomaa, E.Z. 2018. Beta-galactosidase from *Lactobacillus delbrueckii* and *Lactobacillus reuteri*: Optimization, characterization and formation of galactooligosaccharides. *Indian J Biotechnol*, 17 (3), 407-415.

Hsu, C.A., Yu, R.C., Chou, C.C. 2005. Production of  $\beta$ -galactosidase by Bifidobacteria as influenced by various culture conditions. *Int J Food Microbiol*, 104 (2), 197–206. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.02.010

Ibrahim, A.H. 2018. Enhancement of  $\beta$ -galactosidase activity of lactic acid bacteria in fermented camel milk. *Emirates J Food Agric*, 30 (4), 256-267. doi: 10.9755/ejfa.2018.v30.i4.1660

Inchaurrondo, V.A., Flores, M.V., Voget, C.E. 1998. Growth and  $\beta$ -galactosidase synthesis in aerobic chemostat cultures of *Kluyveromyces lactis*. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 20, 291–298.

Ismail, S.A.A., El-Mohamady, Y., Helmy, W.A., Abou-Romia, R., Hashem, A.M. 2010. Cultural condition affecting the growth and production of  $\beta$ -galactosidase by *Lactobacillus acidophilus* NRRL 4495. *Aust J Basic Appl Sci*, 4 (10), 5051-5058.

Kara F. 2004. Release and characterization of beta-galactosidase from *Lactobacillus plantarum*.

- M.C. Thesis, Department of Biotechnology, Middle East Technical University, 89p.
- Kılıç, Y. 2013. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsi bakterilerin beta galaktosidaz enzim aktiviteleri. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 103 s.
- Kılıç, Y., Yüksekdağ, Z.N., Yüksekdağ, H. 2014. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsi bakterilerin beta galaktosidaz enzim aktivitelerinin belirlenmesi. *GIDA*, 39 (4), 211-218. doi: 10.5505/gida.29491
- Kim, J.W. and Rajagopal, S.N. 2000. Isolation and characterization of  $\beta$ -galactosidase from *Lactobacillus crispatus*. *Folia Microbiol*, 45, 29–34. doi: 10.1007/BF02817446
- Kittibunchakul, S., van Leeuwen, S.S., Dijkhuizen, L., Haltrich, D., Nguyen. T.H. 2020. Structural comparison of different galacto-oligosaccharide mixtures formed by  $\beta$ -Galactosidases from Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *J Agric Food Chem*, 68, 4437–4446. doi.org/10.1021/acs.jafc.9b08156
- Mahadevaiah, S., Basavaiah, R., Parida, M., Batra, H.V. 2020. Optimal production of  $\beta$ -galactosidase from *Lactobacillus fermentum* for the synthesis of prebiotic galactooligosaccharides (GOS). *J Pure Appl Microbiol*, 14(4), 2769-2780. doi.org/10.22207/JPAM.14.4.53
- Makwana, S., Hati, S., Parmar, H., Aparnathi, K.D. 2017. Process optimization for the production of  $\beta$ -galactosidase using potential *Lactobacillus* cultures. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 6(8), 1454-1469. doi:10.20546/ijcmas.2017.608.176
- Mozumder, N.H.M.R., Akhtaruzzaman, M., Bakr, M.A., Tuj-Zohra, F. 2012. Study on isolation and partial purification of lactase ( $\beta$ -galactosidase) enzyme from *Lactobacillus* bacteria isolated from yogurt. *J Sci Res*, 4 (1), 239-249. doi: https://doi.org/10.3329/jsr.v4i1.8478
- Murad, H.A., Refaea, R.I., Aly, E.M. 2011. Utilization of UF-permeate for production of  $\beta$ -galactosidase by Lactic Acid Bacteria. *Pol J Microbiol*, 60, 139–144. doi:10.33073/pjm-2011-019
- Özkan, E.R., Demirci, T., Öztürk, H.İ., Akına, N. 2021. Screening *Lactobacillus* strains from artisanal Turkish goatskin casing Tulum cheeses produced by nomads via molecular and *in vitro* probiotic characteristics. *J Sci Food Agric*, 101 (7), 2799-2808. doi 10.1002/jsfa.10909
- Panesar, P.S., Kumari, S., Panesar, R. 2010. Potential applications of immobilized  $\beta$ -galactosidase in food processing industries. *Enzyme Res*, 473137. doi: 10.4061/2010/473137
- Princely, S., Basha, N.S., Kirubakaran, J.J., Dhanaraju, M.D. 2013. Biochemical characterization, partial purification, and production of an intracellular beta-galactosidase from *Streptococcus thermophilus* grown in whey. *Eur J Exp Biol*, 3(2), 242-251.
- Serin, B ve Akcan, N. 2019. Katı faz fermantasyon tekniği ile *Bacillus circulans* ATCC 4516'dan ekstrasellüler  $\beta$ -galaktosidaz üretimi. *KSU J Agric Nat*, 22(3), 480-486. doi:10.18016/KSUTARIMDOGA.VI.503414
- Shah, N.P. and Otieno, D.O. 2007. Endogenous  $\beta$ -glucosidase and  $\beta$ -galactosidase activities from selected probiotic microorganisms and their role in isoflavone biotransformation in soymilk. *J Appl Microbiol*, 103 (4), 910-917. doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03438.x
- Son, S.H., Jeon, H.L., Jeon, E.B., Lee, N.K., Park, Y.S., Kang, D.K., Paik, H.D. 2017. Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* Ln4 from kimchi: Evaluation of  $\beta$ -galactosidase and antioxidant activities. *LWT-Food Sci Technol*, 85, 181-186. doi: 10.1016/j.lwt.2017.07.018
- Ustok, F.I., Tari, C., Harsa, S. 2010. Biochemical and thermal properties of  $\beta$ -galactosidase enzymes produced by artisanal yoghurt cultures. *Food Chem*, 119, 1114–1120. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.08.022
- Venkateswarulu, T.C., Prabhakar, K.V., Kumar, R.B. 2017. Optimization of nutritional components of medium by response surface methodology for enhanced production of lactase. *3 Biotech*, 7, 202. doi: 10.1007/s13205-017-0805

- Wheatley, R.W., Lo, S., Jancewicz, L.J., Dugdale, M.L., Huber, R.E. 2013. Structural explanation for allolactose (lac operon inducer) synthesis by lacZ-galactosidase and the evolutionary relationship between allolactose synthesis and the lac repressor. *J Biol Chem*, 288, 12993–13005. doi: 10.1007/s13205-017-0805-7
- Xin, Y., Guo, T., Zhang, Y., Wu, J., Kong, J. 2019. A new  $\beta$ -galactosidase extracted from the infant feces with high hydrolytic and transgalactosylation activity. *Appl Microbiol Biotechnol*, 103(20), 8439-8448. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10092-x>
- Yu, P., Li, N., Geng, M., Liu, Z., Liu X., Zhang, H., Zhao, J., Zhang, H., Chen W. 2020. Lactose utilization of *Streptococcus thermophilus* and correlations with  $\beta$ -galactosidase and urease. *J Dairy Sci*, 103 (1), 166–171. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17009>
- Zhang, H., Li, W, Rui, X., Sun, X., Dong, M. 2013. *Lactobacillus plantarum* 70810 from Chinese paocai as a potential source of  $\beta$ -galactosidase for prebiotic galactooligosaccharides synthesis. *Eur Food Res Technol*, 236, 817–826. doi: 10.1007/s00217-013-1938-5
- Zhang, W., Wang, C., Huang, C.Y., Yu, Q., Liu, H.C., Zhang, C.W., Pei, X.F., Xu, X., Wang, G.Q. 2012. Analysis of  $\beta$ -galactosidase production and their genes of two strains of *Lactobacillus bulgaricus*. *Biotechnol Lett*, 34 (6), 1067-1071. doi: 10.1007/s10529-012-0870-2



**VURGULU ELEKTRİK ALAN ÖN İŞLEMİ İLE DEREOTUNDAN  
FENOLİKLERİN EKSTRAKSİYONU: DONDURUP ÇÖZÜNDÜRME, ISIL  
İŞLEM, MİKRODALGA ÖN İŞLEMLERİ VE SOLVENT EKSTRAKSİYONU İLE  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Mustafa Fincan, Yasemin Çiftci\***

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

Geliş / Received: 28.05.2021; Kabul / Accepted: 30.09.2021; Online baskı / Published online: 18.10.2021

Fincan, M., Çiftci, Y.. (2021). Vurgulu elektrik alan ön işlemi ile dereotundan fenoliklerin ekstraksiyonu: Dondurup çözündürme, ısıl işlem, mikrodalga ön işlemleri ve solvent ekstraksiyonu ile karşılaştırılması. *GIDA* (2021) 46 (6) 1343-1357 doi: 10.15237/gida.GD21092.

*Fincan, M., Çiftci, Y.. (2021). Extraction of phenolics from dill leaf with pulsed electric field pretreatment: comparison with freeze thaw, heat treatment, microwave pretreatments and solvent extraction. GIDA (2021) 46 (6) 1343-1357 doi: 10.15237/gida.GD21092.*

**ÖZ**

Bu çalışmada 3-4 kV/cm aralığındaki vurgulu elektrik alan uygulamasının dereotu dokusunu bozma düzeyleri elektriksel iletkenlik bazlı bir parçalanma indeksi ile tahmin edilip, en yüksek bozunumu sağlayan şartlarda fenoliklerin ekstrakte edilebilirliği katı-sıvı ekstraksiyon sisteminde incelenmiştir. Ekstraksiyon sonunda, toplam fenolik içerik (TFİ), antioksidan kapasite (AK) ve antiradikal aktivite (AA) değerleri ölçülüp, diğer ön işlemlerinki (dondurma-çözme, mikrodalga, solvent işlemi ve ısıl işlem) ile karşılaştırılmıştır. En yüksek indeks ( $61.43 \pm 5.17$ ) 4 kV/cm'de  $99 \times 10 \mu s$  lik uygulama şartlarında gözlenmiş olup, buda dereotunun parçalanma direncinin çalışmada kıyaslanan parankim dokularından ve yenilebilir yapraklardan yüksek olduğuna işaret etmiştir. Vurgulu elektrik alan destekli ekstraksiyonun TFİ ve AK değerleri dondurup-çözündürme ön işleminden yaklaşık %35 oranında düşük bulunurken, ısıl işlem içeren (mikrodalga, solvent işlemi ve ısıl işlem) yöntemlerden ortalama %68 oranında düşük tespit edilmiştir. Vurgulu elektrik alan ön işleminde ekstraksiyon veriminin, doku parçalanma düzeyinden ve fenoliklerin polifenol oksidaz (PPO) tarafından bozulmasından etkilendiği şeklinde yorumlanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** vurgulu elektrik alan, fenolik bileşikler, katı-sıvı ekstraksiyon, dereotu

**EXTRACTION OF PHENOLICS FROM DILL LEAF WITH PULSED ELECTRIC  
FIELD PRETREATMENT: COMPARISON WITH FREEZE THAW, HEAT  
TREATMENT, MICROWAVE PRETREATMENTS AND SOLVENT  
EXTRACTION**

**ABSTRACT**

In this study, disintegration of dill leaf in response to pulsed electric field pretreatment of 3-4 kV/cm was estimated using an electrical conductivity based-index, and extractability of phenolics at the highest index was studied in a solid-liquid extraction. Total phenolic content (TPC), antioxidant capacity (AC), and antiradical activity (AA) of the extraction were compared with other pretreatments

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: yasemenciftcii@gmail.com

☎: (+90) 544 392 03 69

☎: (+90) 352 437 57 84

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

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



(freeze-thaw, microwave, heat and solvent extraction). The highest index ( $61.43 \pm 5.17$ ) was obtained at  $99 \times 10 \mu\text{s}$  of  $4 \text{ kV/cm}$ , implying a higher disintegration resistance than the parenchyma tissues and edible leaves compared in the study. TPC and AC of the extraction were found around 35 % less than those of the freeze-thaw while about 68 % lower than the microwave, heat treatment and solvent extraction. The yield of pulsed electric field extraction has been interpreted as affected by the degree of disintegration and degradation of phenolics by polyphenol oxidase (PPO).

**Keywords:** Pulsed electric field, phenolic compounds, solid-liquid extraction, dill

## GİRİŞ

Taze bitkilerden fenolikler gibi hücre içi maddelerin ekstrakte edilmesinde hücre zarlarının sağlamlığı, ekstraksiyon verimini etkileyen önemli faktörlerden biridir. Fenolik maddeler bitkisel hücrede koful içerisinde zarlarla (tonoplast ve plasmalemma) çevrelenmiş olarak bulunduğu için, dış bir ortama geçişi sağlam hücre zarları tarafından engellenmektedir. Fenolik maddelerin etkin bir şekilde ekstraksiyonunun sağlanması için öncelikle hücre zarı direncinin aşılması veya bozundurulması gerekmektedir (Handa vd., 2008). Hücre zarı bozundurma işlemi, ekstraksiyon çeşidine bağlı olarak ekstraksiyon öncesi veya esnasında ısı uygulaması, kurutma ve öğütme gibi çeşitli yöntemler uygulamak suretiyle gerçekleştirilmektedir. Katı-sıvı ekstraksiyon sisteminde hücre zarlarının sağlamlığı, kullanılan solvent (çözücü) çeşidinin polaritesinden de etkilenmektedir. Bir kısım yağ çözücü aseton gibi apolar solventler, hücre zarına ulaştığında lipid açısından zengin olan hücre zarını çözerek bozundurma etkisine sahipken, su bazlı ekstraksiyonda bu etki sınırlı olup, hücre zarları önemli oranda sağlam kalmaktadır (Xu vd., 2017). Bu nedenle ön işlemler ile hücre zarlarının bozundurulması özellikle su bazlı ekstraksiyonda daha kritik bir öneme sahip olmaktadır (Dai ve Mumper, 2010). Gerek su bazlı gerek solvent bazlı olsun katı-sıvı ekstraksiyonda, ekstraksiyon verimini artırmaya yönelik birçok geleneksel ve yeni gelişen yöntemlerin etkisi yaygın araştırma konularındandır. Bu yöntemlerin her birinin avantaj ve dezavantajları vardır. Örneğin, fenolik maddelerin apolar solventlerde çözünürlüğü daha fazla olduğu için solvent bazlı ekstraksiyonda verim genellikle daha yüksek olurken, solvent maliyeti ve kalıntısı bir dezavantaj olarak görülmektedir. Ayrıca, ısıl ön işlemin bazı bitkilerde ısıya duyarlı fenolik maddelerin bozunumuna yol açtığı, buna karşın diğer bazı bitkilerde ise fenolik madde veya antioksidan

aktivite değerlerinin artırıcı etkisi gösterilmiştir (Fanasca vd., 2009; Chipurura vd., 2010; Chumyam vd., 2013; Maghsoudlou vd., 2019).

Son yıllarda ortaya çıkan, vurgulu elektrik alan (PEF) uygulaması, önemli bir ısı artışına neden olmadan hücre zarlarında gözenek oluşumuna yol açan, düşük enerji maliyetli bir doku parçalama tekniği olarak kabul edilmiştir. Bitki dokusu üzerine yapılan önceki birçok çalışmada PEF'in hücre içi bileşiklerin kütle transferini ekstraksiyon ve kurutma gibi proseslerde kolaylaştırdığı ve verimi artırdığı rapor edilmiştir (Fanasca vd., 2009; Barba vd., 2012; Vallverdú-Queralt vd., 2012). Bu çalışmaların birçoğunda incelenen bitki doku çeşidi, meyve et dokusu veya parankima dokularıdır. Bununla birlikte, literatürde PEF'in yapraksı (tıbbi, aromatik, yenilebilir) bitkilerde etkilerini inceleyen çalışmalar sınırlı sayıdadır. Çay yapraklarında yapılan bir çalışmada, PEF ön işlemi uygulanan yapraklardan fenolik maddelerin katı-sıvı ekstraksiyon sistemi ile elde edilmesinde, en yüksek ekstraksiyon verimi için PEF şartları  $1.25 \text{ kV/cm}$  elektrik alan kuvveti  $99$  vurgu olarak rapor edilmiştir (Liu vd., 2019). Benzer bir çalışmada, taze nane yapraklarından fenolik maddelerin ekstrakte edilebilirliği PEF ön işlemi ile artmış, optimum hücre parçalanması için  $3 \text{ kV/cm}$  elektrik alan kuvvetinde  $99$  vurgu kullanılması önerilmiştir (Fincan, 2015). Başka bir çalışmada, *Stevia rebaudiana* yapraklarından fenolik madde ekstraksiyonu mikrodalga, ultrason, vurgulu elektrik alan ve yüksek voltajlı elektrik deşarj ön işlemleri arasında en yüksek verim PEF ile muamele edilmiş örneklerde ( $20 \text{ kV/cm}$ ,  $200$  vurgu) rapor edilmiştir (Carbonell-Capella vd., 2017).

Dereotu (*Anethum graveolens* L.) fenolik, flavonoid ve tanen bakımından zengin ve morfolojik olarak yapraksı bitkilerden farklı diğer aromatik, yenilebilir bitkilerden biridir (Fanasca vd., 2009;

Niya vd., 2016). Dereotu, fenolik asitler (klorojenik asit, vanilik asit, siringik asit, kumarik asit, ferulik asit, benzoik asit), flavonol (kamferol, kuersetin ve rutin), flavon (apigenin, lutealin) flavanon (naringenin) gibi fenolik bileşikler içermektedir (Świeca ve Gawlik-Dziki, 2008; Shyu vd., 2009). Yapılan bir çalışmada, dereotu bitkisinin polifenol, flavonoid içeriği ve antioksidan aktivitesini belirlemek için, solvent ekstraksiyon metodu kullanılmış, hazırlanan etanol ve sulu yaprak ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla  $69.76 \pm 1.57$  ve  $47.71 \pm 1.44$  mg GAE/g kuru ekstrakt olarak tespit edilmiştir. Su ve etanol ekstraktları kıyaslandığında ise etanol ekstraktının daha iyi antioksidan ve antiradikal aktivite sergilediği görülmüştür (Nguyen vd., 2020). Dereotundan fenolik maddelerin ekstraksiyonu için solvent, ultrason ve mikrodalga metodlarının kullanıldığı rapor edilmiştir (Shyu vd., 2009; Isbilir ve Sagiroglu, 2011; Pandey vd., 2013; Vallverdú-Queralt vd., 2015; Niya vd., 2016; Paven vd., 2018).

Bu çalışmada dereotu dokusunu PEF ön işlemleri ile parçalamanın fenolik ekstraksiyonunu nasıl etkilediği, su bazlı ve solvent bazlı katı-sıvı ekstraksiyon sisteminde araştırılmıştır. Öncesinde, farklı şiddetteki PEF uygulamalarının ortaya çıkardığı doku parçalanma düzeyi elektriksel iletkenlik bazlı bir doku parçalanma indeksi ile tahmin edilip, sonrasında dokuları PEF ile en yüksek oranda parçalanan örnekler katı-sıvı ekstraksiyon işlemine maruz bırakılmıştır. PEF'in etkisi ekstraktlarda toplam fenolik içerik (TFİ), antioksidan kapasite (AK) ve antiradikal aktivite (AA) analizleri ile değerlendirilip, kontrol ve diğer ön işlem grupları (dondurup-çözündürme, mikrodalga, solvent işlemleri ve ısıl işlem) ile karşılaştırılmıştır.

### MATERYAL ve YÖNTEM

#### Örnek hazırlama

Taze dereotu (*Anethum graveolens*, *Apiaceae*), türden kaynaklanan değişimleri önlemek amacıyla Kayseri'de sürekli aynı marketlerden temin edilerek çalışmalarda kullanılmıştır. Temin sonrası materyaller, çoğunlukla hemen deneye alınmış, istisnai hallerde buzdolabında  $+4$  °C 'de plastik torbalar içerisinde en fazla 4 gün muhafaza

edilmiştir. 200 mg örnek yaprak kısmından kesildikten sonra, distile su ile yıkanıp kalan su peçete kâğıt ile uzaklaştırılmıştır. Daha sonra örnek, uygulama odacığına yerleştirilip ve üzerine 800 µl izotonik mannitol (0.33 M) çözeltisi (D(-) Mannitol, Merck) ilave edilerek, uygulamalar için hazır hale getirilmiştir. Mannitol, metabolik olarak inert ve suda çözündüğünde ortamın elektriksel iletkenliğinde önemli bir artışa yol açmadığından, deneylerde ozmotik etkileri en aza indirmek amacıyla yönelik izotonik olarak hazırlanıp kullanılmıştır (Gaidamauskas vd., 2005).

#### Deneysel düzenek

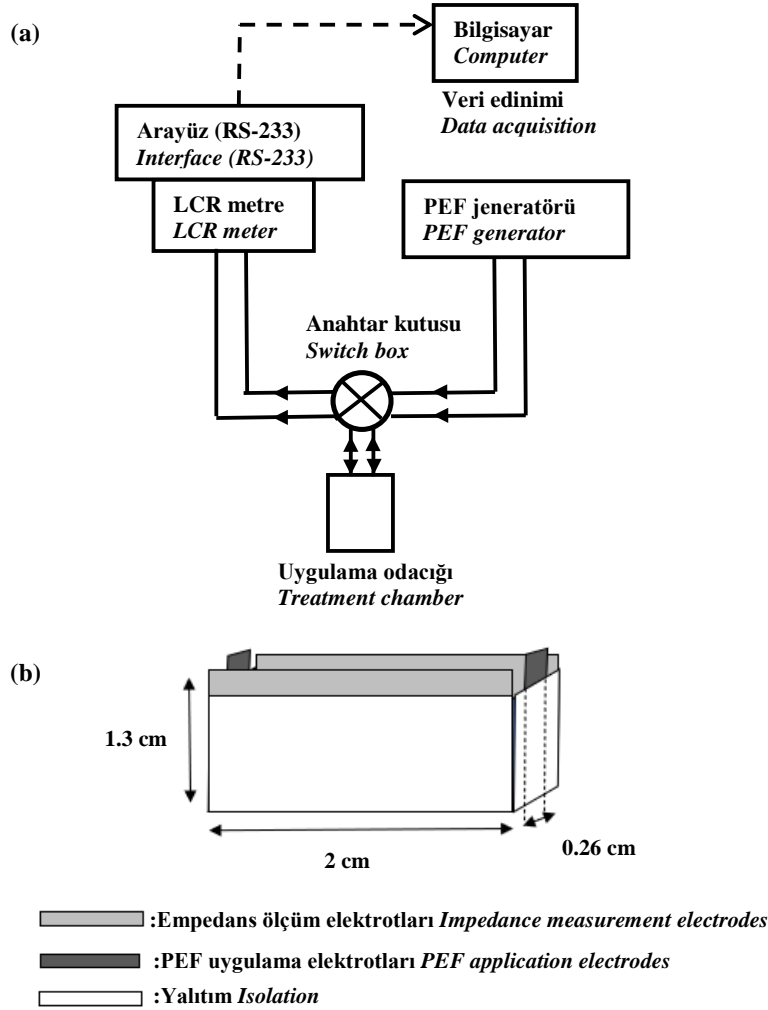
PEF ön işlemleri ve empedans ölçümü Şekil 1a'da verilen entegre sistem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Uygulama odacığı iki çift paslanmaz çelikten oluşan paralel plakalardan imal edilmiş (Şekil 1b), bir çifti PEF uygulaması, diğer çifti ise empedans ölçümü için kullanılmıştır. Uygulama odacığının mutlak empedansı 100 kHz'de ve 20 mV (rms)'lik sabit test voltajında bir LCR metre (Hioki 3532-50, Japan) ve probu (Hioki 4-terminal probe 9140) kullanılarak ölçülmüştür. Veriler LCR metreye bağlı bir arayüz (Hioki RS-233C, 9593-01, Japan) kullanarak bilgisayara aktarılıp, bilgisayar yazılımı (Hioki LCR version 4.03.E, Japan) ile kaydedilmiştir. Ölçümlerden önce kablo ve elektrotlardan kaynaklanan empedans değerleri, LCR metredeki program yardımıyla ölçümlerden çıkarılmıştır (açık ve kısa kompanzasyon).

#### PEF uygulaması ve empedans ölçümü

Uygulama odacığına örnekler yerleştirilip, empedans ölçüm elektrotları arasından LCR metreye bağlantı sağlandıktan sonra, empedans verileri yaklaşık 10 dakika boyunca ölçülerek bilgisayara kaydedilmiştir. Sonrasında, LCR metre bağlantısı kesilip, PEF uygulama elektrotları bağlantısından PEF jeneratörüne (ECM 830, Harvard apparatus, USA) bağlanıp PEF uygulanmıştır. PEF protokolünde, 3 ve 4 kV/cm elektrik alan şiddetinde 100 ms aralıklı 10 µs'lik karesel monopolar vurgulardan 99 adet uygulanmıştır. PEF sonrası uygulama odacığı tekrar LCR metreye bağlandıktan sonra, empedans verileri 50 dakika boyunca her dakika ölçülüp, bilgisayara kaydedilmiştir. Hiçbir işlem

görmemiş ve dondurulup-çözündürülmüş örneklerin empedans ölçümleri de benzer şekilde yapılmıştır. Dondurup-çözündürme işlemi bitkisel dokuları %100'e yakın parçalamayı sağlayan yaygın yöntemlerden biridir (Angersbach vd., 2002). Dondurulup-çözündürülmüş örnekler, önce izotonik mannitol çözeltisi içinde -20 °C'de

2 hafta boyunca bekletildikten sonra, çözündürülerek oda sıcaklığına getirilip hazırlanarak ölçümlerde kullanılmıştır. Dondurup-çözündürme işleminde mannitol çözeltisi diğer örneklerden farklılık oluşturmaması için kullanılmıştır.



Şekil 1. (a) PEF uygulaması ve empedans ölçümü için deneysel kurulum (b) Uygulama odacığının şematik resmi

Figure 1. (a) Experimental set-up for PEF application and impedance measurement (b) Schematic picture of treatment chamber

**Doku parçalanma indeksinin (DPI) tahmini**  
 Ölçülen empedans değerlerinden, doku + mannitol çözeltisinin elektriksel iletkenliği ( $\sigma$ , Simens/m), aşağıdaki formülden hesap edilmiştir (Barsotti vd., 1999):

$$\sigma = \ell / (Z \times A) \quad (\text{Denklem 1})$$

$\ell$  = ölçüm elektrotları arasındaki mesafe (m),  
 $Z$  = doku + mannitol çözeltisinin empedansı (ohm,  $\Omega$ ),  
 $A$  = ölçüm elektrotunun yüzey alanı ( $m^2$ )

PEF işlemine maruz bırakılan örneklerin parçalanma düzeyini belirlemek amacıyla, doku parçalanma indeksi (DPI) aşağıdaki formülden hesap edilmiştir (Bazhal, 2003).

$$DPI = [(\sigma - \sigma_s)/(\sigma_{dc} - \sigma_s)] \times 100 \quad (\text{Denklem 2})$$

$\sigma$  = Farklı PEF işlemlerine maruz bırakılan dokunun 50 dakika sonundaki elektriksel iletkenliği (Simens/m),  $\sigma_s$  = sağlam (hiçbir işlem görmemiş) dokunun 50 dakika sonundaki elektriksel iletkenliği (Simens/m),  $\sigma_{dc}$  = dondurulup-çözündürülmüş dokunun elektriksel iletkenliği (Simens/m)

Buna göre yukarıdaki formül hiçbir işlem görmemiş (sağlam) doku için  $DPI \approx 0$  değerini verirken, dondurulup-çözündürülmüş doku için  $DPI \approx 100$  değerini vermektedir (De Vito vd., 2008).

### Katı-sıvı faz ekstraksiyonu

Bütüne yakın doku parçalanmasını sağlayacak şiddette, aşağıda belirtilen ön işlemler ile muamele edilen örnekler, katı-sıvı ekstraksiyon işlemine maruz bırakılmıştır (Zhang ve Willison, 1992; Ade-Omowaye vd., 2000; Pan vd., 2003; Roy vd., 2007). Ekstraksiyon için, 1 g ön işlem görmüş doku örneği üzerine 20 mL 0.33 M mannitol çözeltisi ilave edildikten sonra, erlenmeyer içerisine aktarılarak dakikada 180 devirde çalışan rotasyon çalkalayıcıda (Shel Lab SI6 Floor model incubator, Amerika) 90 dakika boyunca karıştırılmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığı solvent işlemi için 70 °C'de iken diğer ön işlemler için 20 °C'de gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstraktlar, filtre (Qualitative filter paper, 101 fast, Xinxing, Çin) edilerek, posa kısmı ayrılıp, sıvı kısmı (ekstrakt) fenolik maddelerin analizinde kullanılmıştır (Fincan, 2015).

### Önişlemler

PEF ön işlemi: Ade-Omowaye vd. (2000) tarafından rapor edilen prosedürlere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Empedans ve dondurulup-çözündürme deneyleri referans alınarak en yüksek parçalanma oranın sağlandığı 4.5 kV/cm alan şiddeti 99 vurgu şartları uygulanmıştır. Vurgu genişliği 10 µs ve vurgular arası mesafe 100 ms olarak uygulamalarda sabit tutulmuştur.

Mikrodalga ön işlemi: Pan vd. (2003)'e ait yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Doku örneği 800 W güçteki mikrodalgada (Kenwood MW796, Japonya) 4 kez 30 saniye boyunca işleme maruz bırakılmıştır. Her bir 30 saniye sonrasında örnekler 20 saniye çeşme suyu altında soğutulmuş, ısınmadan kaynaklanan buharlaşma olmamasına özen gösterilmiştir.

Isıl ön işlemi: Roy vd. (2007) tarafından rapor edilen prosedürlere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Doku örneği 80 °C'de 150 dakika boyunca tutulmuş, sonrasında çeşme suyu altında soğutulmuştur.

Dondurup-çözündürme yöntemi: Zhang ve Willison (1992)'a ait yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 1/8 (g/mL) katı sıvı oranındaki örnekler -20 °C'deki dondurucuda en az 1-2 hafta tutulmuş, daha sonra örnekler çözündürülerek katı sıvı oranı 1/20'ye ayarlanmıştır.

Solvent ekstraksiyonu: Kaufmann ve Christen (2002) tarafından rapor edilen prosedürlere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Etanol çözeltisi (20:80, su / etanol) hazırlanarak 70 °C'ye ısıtılmış, bu çözeltinin 20 mL'sine 1 g örnek ilave edilerek ekstraksiyon için hazır hale getirilmiştir.

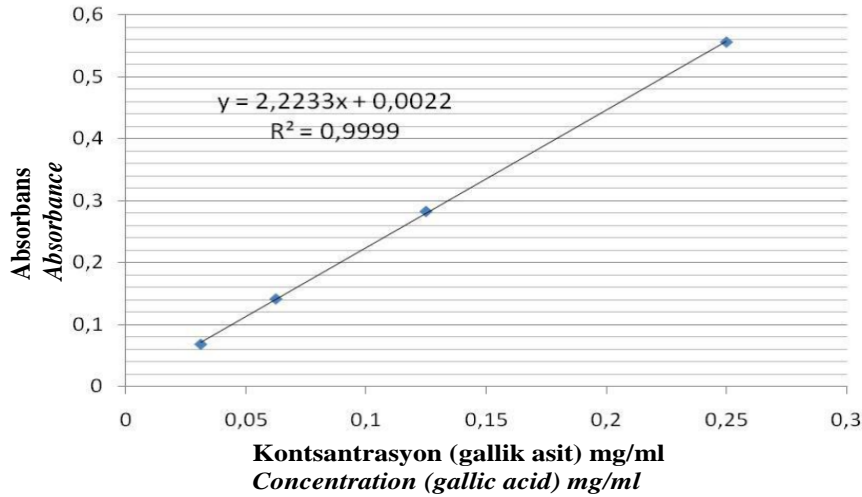
Kontrol: Örneklere hiçbir doku parçalamama işlemi uygulanmadan ekstraksiyon için hazır hale getirilmiştir.

### Toplam fenolik madde tayini

Ekstrakt vortekslenerek (Vortex MX-S, Dragonlab, Çin) 100 µl supernatant alınmış, ardından 100 µl etanol (%95) ilave edilerek, üzerine 3 mL Folin ayırıcı (%10 mL/mL) eklenmiştir. Çözelti vortekslenerek 5 dakika bekletme sonrasında üzerine 3 mL sodyum karbonat (%7 g/mL) çözeltisi ilave edilmiş, tekrar vortekslenerek oda sıcaklığında 1 saat beklemeye bırakılmıştır. Oluşan mavi renkli çözeltinin absorbansı, supernatant yerine 100 µl mannitol (0.33 M) çözeltisi kullanılan kontrole karşı spektrofotometrede (Shimadzu UV-1700 spectrophotometer, Japonya) 760 nm'de ölçülmüştür. Toplam fenolik madde miktarı, gallik

asit cinsinden mg/mL olarak ifade edilmiştir. Gallik asit standart eğrisi (Şekil 2), 50-250 mg/L konsantrasyon aralığında hazırlanan gallik asit standart çözeltilerinin her birinden 100 µl alınarak, supernatant yerine kullanılmış ve okunan absorbans değerleri ile  $y = 2.2233x + 0.0022$  ( $R^2 = 0.9999$ ) oluşturulmuştur. 1 g taze örnekten

ekstrakte edilen toplam fenolik madde, grafikten bulunan konsantrasyonun toplam ekstrakt hacmi ile çarpımından hesap edilmiş ve mg gallik asit eşdeğeri/g taze doku olarak ifade edilmiştir (Nagy vd., 2014).



Şekil 2. Gallik asit çözeltisinin standart eğrisi

Figure 2. Standard curve of gallic acid solution

#### Antioksidan kapasite tayini

Ekstrakt vortekslenerek (Vortex MX-S, Dragonlab, Çin) 0.25 mL supernatant alınmış, üzerine 1 mL metanol (%99) ve 2 mL karışım çözeltisi (0.6 M sülfürik asit, 28 mM trisodyum fosfat, 4 mM amonyum molybdat) ilave edilerek vortekslenmiştir. Çözelti 95 °C'de 90 dakika boyunca su banyosunda tutulmuştur. Daha sonra oda sıcaklığına getirilen örneklerin absorbansı, supernatant yerine mannitol (0.33 M) çözeltisi kullanılan kontrole karşı spektrofotometrede 695 nm'de ölçülmüştür. Toplam antioksidan kapasite, askorbik asit cinsinden mg/mL olarak ifade edilmiştir. Askorbik asit standart eğrisi (Şekil 3), 55-250 mg/L konsantrasyon aralığında hazırlanan askorbik asit standart çözeltilerinin her birinden 0.25 mL alınarak supernatant yerine kullanılmış ve okunan absorbans değerleri ile  $y = 2.6125x - 0.0572$  ( $R^2 = 0.9998$ ) oluşturulmuştur. 1 g taze örnekten ekstrakte olan toplam antioksidan kapasite, grafikten bulunan konsantrasyonun toplam ekstrakt hacmi ile çarpımından hesap edilmiş ve mg askorbik asit eşdeğeri/g taze doku olarak ifade edilmiştir (Cao vd., 2011)

#### Antiradikal aktivite tayini

Ekstrakt vortekslenerek (Vortex MX-S, Dragonlab, Çin) 40 µl supernatant alınmış, üzerine 3 mL metanol ile hazırlanmış DPPH çözeltisi (4 mg/ 100 mL) ilave edilerek vortekslenmiştir. Karışım karanlıkta oda sıcaklığında 60 dakika boyunca bekletilmiş ve çözeltinin absorbansı 517 nm'de spektrofotometrede ölçülmüştür. Absorbans ölçümlerinde metanol kullanılarak absorbans sıfırlanmış, kontrol ölçümünde supernatant yerine mannitol (0.33 M) kullanılmıştır (Sánchez-Moreno vd, 1998; Kunyanga vd., 2012). Antiradikal aktivite % inhibisyon olarak aşağıdaki formülden hesap edilmiştir:

$$\% \text{Inhibisyon} = [(K - \text{Ö}) / K] \times 100 \quad (\text{Denklem 3})$$

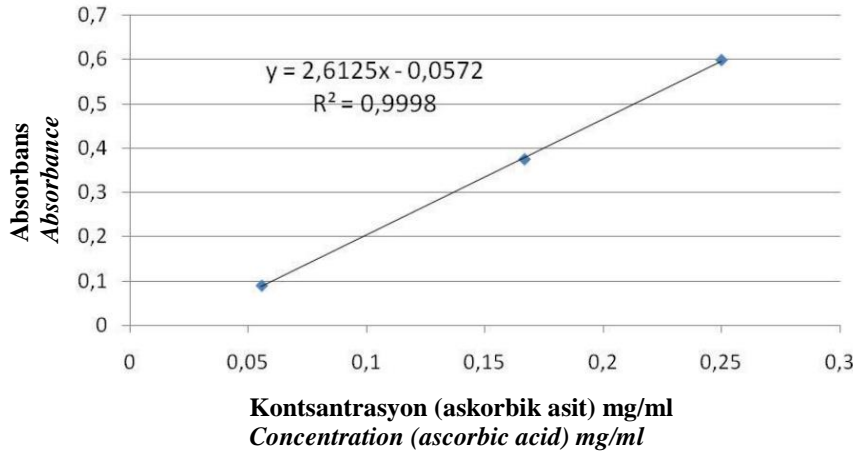
K = Kontrol, mannitol kullanıldığındaki absorbans değeri,

Ö = Örnek, örnek kullanıldığındaki absorbans değeri

**Verilerin istatistiksel analizi**

Çalışmada her bir deney için beş tekerrürlü empedans sonuçları ve beş tekerrürlü ve üç paralel fenolik madde sonuçları Minitab (Minitab inc.,

Minitab for Windows, release 12.2, Amerika) istatistiksel programı kullanılarak, varyans (ANOVA) analizi ile değerlendirilmiştir.



Şekil 3. Askorbik asit çözeltisinin standart eğrisi

Figure 3. Standard curve of ascorbic acid solution

**BULGULAR ve TARTIŞMA****PEF'in hücre içi iyonların salınımı üzerine etkisi**

Şekil 4'de, PEF uygulanmış, dondurulup-çözündürülmüş ve işlem görmemiş örneklerden hücre içi iyonların salınma kinetiği verilmiştir. İşlem görmemiş örneklerin elektriksel iletkenliği 60 dakika boyunca sabite yakın seyrederken (Şekil 4a), 10. dakikada uygulanan PEF sonrası, elektriksel iletkenlikte gözlenen artış hücre zarının parçalanmış olduğuna, bu sebepten iyonların dış ortama salınmaya başladığına işaret etmektedir (Şekil 4b ve c). %100'e yakın doku parçalamayı sağlayan dondurup-çözündürme işleminde ise, başlangıçta bütün iyonlar ortama salındığı için sonraki zamanlarda artış gözlenmemektedir (Şekil 4a). Bundan başka, PEF uygulanmış örneklerden iyon salınım hızının nispeten düşük bir hızda gerçekleşmesi dikkat çekici olmuştur. Zira, önceki bir çalışmada soğan epidermisi PEF yollu parçalandığında iyon salınım hızının daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Fincan ve Dejmek, 2002). PEF uygulanmış örneklerde gözlenen bu düşük iyon salınım hızının, hücre zarındaki gözeneklerin küçüklüğü ve mumsu kutikula tabakasının direnci ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Özellikle hücre zarı üzerinde çok küçük gözenekler

oluşturduğunda iyon salınımı hızı yavaşlamakta ve salınım uzun sürmektedir (Şekil 4a ve b'de 60 dakika sonunda bile devam etmektedir). Nitekim önceki çalışmalarda vurgu genişliği ile gözenek çapı ve sayısı arasında ilişki olduğu, örneğin, vurgu genişliğinin mikrosaniyeden milisaniyeye çıkarıldığında gözenek çapının da büyüyeceği belirtilmiştir (Saulis, 2010).

Ayrıca, PEF şiddetinin 3 kV/cm'den 4 kV/cm'ye çıkarılması da, iyon salınım kinetiği açısından belirgin bir fark oluşturmamıştır.

**PEF'in doku parçalanma seviyesi üzerine etkisi**

Şekil 5'te dereotuna iki farklı şiddete PEF uygulaması (3 kV/cm'de 99x10µs ve 4 kV/cm'de 99x10µs) sonrasında gelişen doku parçalanma indeksi (DPI) gösterilmiştir. Bu şartlarda DPI değerleri sırasıyla 53.73 ± 15.64 ve 61.43 ± 5.17 olarak hesaplanmıştır. Uygulanan PEF şiddetine karşı gelişen DPI değerinin, çoğu parankim ve geniş yüzeye sahip yapraksı dokulardan daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Donsi vd., 2010). Diğer bir deyişle, sonuçlar dereotu dokusunun PEF ile parçalanmaya dirençli olduğunu göstermektedir. Çünkü, meyve ve sebzelerin et kısmını oluşturan parankima hücrelerine sahip

dokularda bütüne yakın parçalamayı sağlayan PEF uygulaması 1-1.5 kV/cm şiddetindedir (Soliva-Fortuny vd., 2009). Bu nedenle dereotu dokusunda bütüne yakın parçalanma sağlamak için 4 kV/cm'den daha yüksek PEF şiddetleri uygulanması gerekmektedir. Ayrıca, benzer bir çalışmada, taze nane yaprağı dokularına 3 kV/cm'de 99x10µs'lik PEF uygulamasında DPI değeri %90'a yakın bulunmuştur (Fincan, 2015). Dereotunun PEF ile parçalanmaya karşı direncinin yüksek olması, hücre çapının küçük olmasından kaynaklanabilir. Çünkü denklem 4'te verilen formül dikkate alındığında, hücre çapı

küçüldükçe, elektroporasyon için gereken elektrik alanın şiddeti artmaktadır (Barsotti ve Cheftel, 1999; Wilson, 2016; Dhiman vd., 2017).

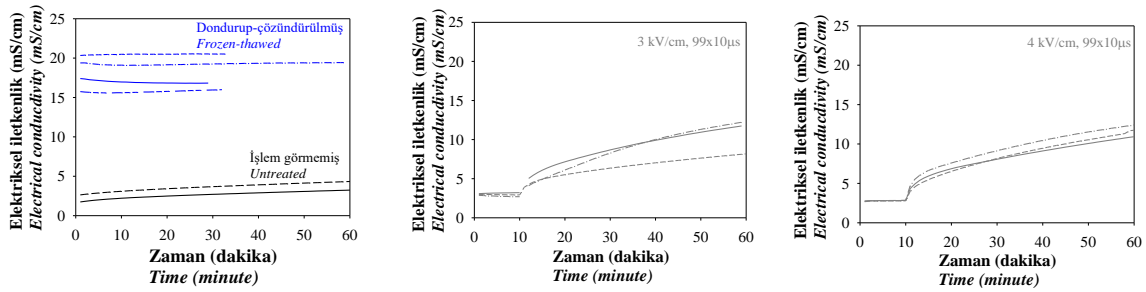
$$V_R = 1.5 \times E_R \times r \times \cos(\theta) \quad (\text{Denklem 4})$$

$V_R$ = Hücre zarında gözenek oluşumu için gereken kritik transmembran potansiyeli (V, Volt),  $E_R$ = Hücre zarında gözenek oluşumu için gereken kritik elektrik alan (V/m),

$r$  = Hücre çapı (m),

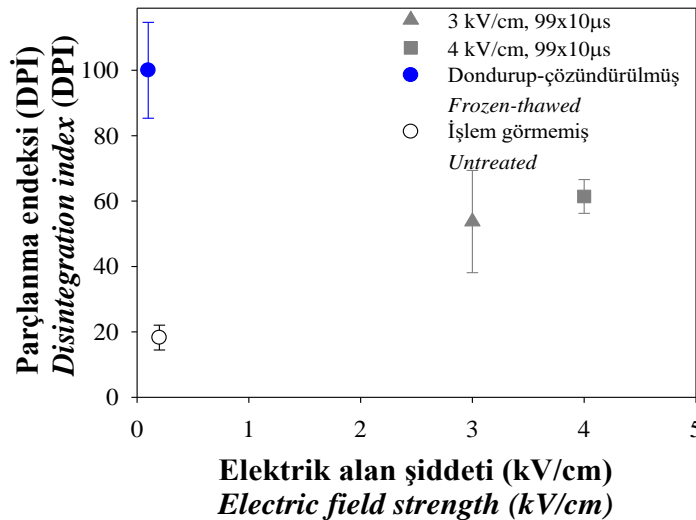
$\theta$  = Hücre zarının ilgili kısmında elektrik alan vektörü ve hücre çapı arasındaki açı.

Şekil 5



Şekil 4. İşlem görmemiş ve dondurulup çözülmüş (a) ve PEF uygulanmış dereotu örneklerinde elektriksel iletkenliğin zamana karşı değişimi (b, c)

Figure 4. Change in electrical conductivity versus time in untreated and frozen-thawed (a) and PEF-treated (b,c) dill samples



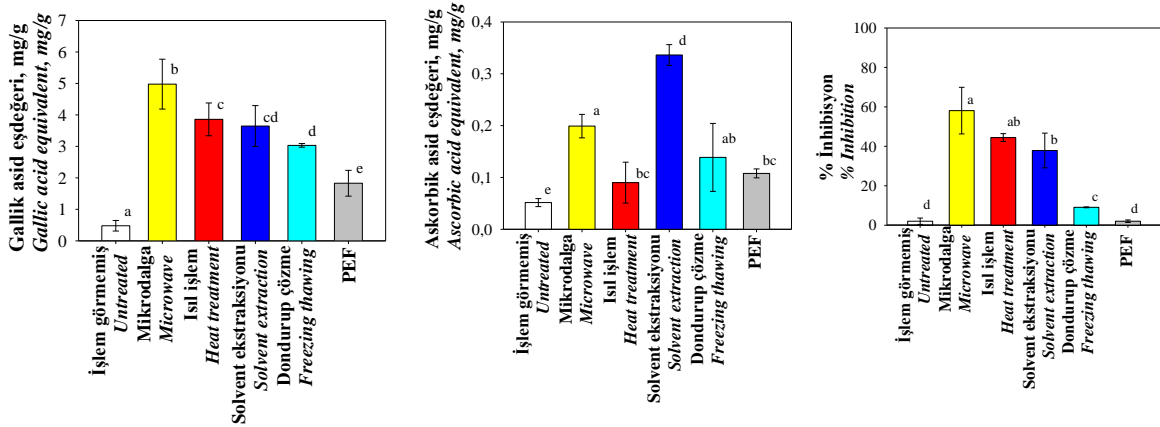
Şekil 5. Dereotu dokusuna 3 ve 4 kV/cm'lik elektrik alan şiddetinde 99x10µs vurgu uygulanması sonrasında doku parçalanma indeksleri

Figure 5. Disintegration indices developed in dill leaf after application of 99x10µs pulses at electric field strength of 3 and 4 kV/cm

**Fenolik maddelerin katı-sıvı ekstraksiyonunda PEF'in etkileri**

Şekil 6'de, PEF ve diğer ön işlemlere maruz bırakılarak hücre parçalanması sağlanan örneklerin katı-sıvı ekstraksiyon işlemi sonrası ölçülen toplam fenolik madde (TFİ), antioksidan kapasite (AK) ve antiradikal aktivite (AA) analiz sonuçları gösterilmiştir. PEF uygulaması, yukarıda bahsedilen hücre içi iyonların salınımına sebebiyet verdiği gibi, hücrelerde bulunan fenolik maddelerin ekstraksiyonunda da aynı yolu izleyerek maddelerin ekstrakte edilebilirliğini sağlamıştır. PEF'in fenolik maddeleri ekstrakte etme etkinliği, dondurulup-çözündürme işlemi ile mukayese edilebilir bulunmuştur. Çizelge 1'de PEF ve dondurup-çözündürme işlemleri sonrası katı-sıvı ekstraksiyonunda, AK değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmezken ( $P > 0.05$ ), PEF'in TFİ ve AK değerleri, sırasıyla dondurup-çözündürülmüş örneklerin ortalamada %60 ve %78'ini vermiştir. Doku parçalanma oranı dondurulup-çözündürme ön işleminde %100'e yakın ve PEF ön işleminde bu oranın daha düşük

( $DPİ = 61.43 \pm 5.17$ ) olduğu göz önüne alındığında, doku parçalanma oranı ile fenolik maddelerin ekstraksiyon oranı arasında doğrusal bir ilişki görülmektedir. Bundan başka, ekstraksiyonda ısıl işlem içeren ön işlemlerin (mikrodalga, ısıl işlem ve solvent ekstraksiyonu) fenolik madde değerleri, ısısız olmayan (PEF ve dondurup-çözündürme) işlemlerden genelde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ön işlemler arasında TFİ değerleri kıyaslandığında, mikrodalga ön işlemi en yüksek değeri gösterirken, ısıl işlem ve solvent ekstraksiyon ön işlemi birbirine yakın ( $P > 0.05$ ) sonuçlar sergilemiştir. AK değerleri karşılaştırıldığında, solvent ekstraksiyon işlemi en yüksek değeri gösterirken, PEF işleminin ısıl işleme yakın ( $P > 0.05$ ) ve mikrodalga ön işleminden daha düşük ( $P < 0.05$ ) değerler gösterdiği tespit edilmiştir. AA değerleri kıyaslandığında, ısıl işlem ve solvent ekstraksiyonu arasında istatistiksel olarak belirgin bir fark gözlenmezken ( $P > 0.05$ ) solvent ekstraksiyon işlemi mikrodalga ön işleminden önemli derecede düşük bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).



a) Toplam fenolik madde  
Total phenolic content

b) Antioksidan kapasite  
Antioxidant capacity

c) Antiradikal aktivite  
Antioxidant activity

Şekil 6. Taze dereotu dokusunun farklı yöntemlere parçalanıp katı-sıvı ekstraksiyona maruz bırakılması sonrasında ekstraktların toplam fenolik madde, antioksidan kapasite ve antiradikal aktivitesi. Her bir analiz kategorisinde aynı bir harfi paylaşmayan kolon simgeleri ön işlemler arasında istatistiksel fark olduğunu ifade etmektedir ( $P < 0.05$ )

Figure 6. Total phenolic content, antioxidant capacity and antioxidant activity values of dill leaf disintegrated with different pretreatment methods, followed by solid-liquid extraction. In each category of analysis, column superscripts not sharing a letter means statistical difference between pretreatments ( $P < 0.05$ )



Çizelge 1. Her bir ön işleme ait toplam fenolik madde (TF), antioksidan kapasite (AK) ve antiradikal aktivite (AA) değerleri

Table 1. Total phenolic content, antioxidant capacity and antioxidant activity values of dill leaf disintegrated with different pretreatment methods, followed by solid-liquid extraction.

Ön işlemler <i>Pre-treatments</i>	Toplam Fenolik Madde (mg gallik asit eşd. /g taze doku) <i>Total phenolic content (mg gallic acid eqv./g fresh weight)</i>	Antioksidan Kapasite (mg askorbik asit eşd. /g taze doku) <i>Antioxidant capacity (mg ascorbic acid eqv./g fresh weight)</i>	Antiradikal Aktivite (% İnhibisyon) <i>Antioxidant activity (% Inhibition)</i>
Kontrol (İşlem görmemiş) <i>Control (Untreated)</i>	0.48±0.17 <sup>a</sup>	0.05±0.01 <sup>a</sup>	2.04±1.61 <sup>d</sup>
PEF	1.83±0.41 <sup>e</sup>	0.11±0.01 <sup>bc</sup>	2.06±0.64 <sup>d</sup>
Dondurup-çözündürme <i>Freezing-thawing</i>	3.03±0.06 <sup>d</sup>	0.14±0.06 <sup>ab</sup>	9.09±0.21 <sup>c</sup>
Mikrodalga <i>Microwave</i>	4.98±0.79 <sup>b</sup>	0.20±0.02 <sup>a</sup>	58.11±11.82 <sup>a</sup>
Isıl işlem <i>Heat treatment</i>	3.86±0.52 <sup>c</sup>	0.09±0.04 <sup>bc</sup>	44.44±2.01 <sup>ab</sup>
Solvent ekstraksiyonu <i>Solvent extraction</i>	3.65±0.65 <sup>cd</sup>	0.34±0.20 <sup>d</sup>	37.90±8.79 <sup>b</sup>

Her bir sütunda aynı bir harfı paylaşmayan değerler, birbirinden istatistiksel olarak farklı olduğunu ifade etmektedir ( $P < 0.05$ ). (In each category of analysis, column superscripts not sharing a letter means statistical difference between pretreatments ( $P < 0.05$ ))

Isıl olmayan ön işlemler ile ekstrakte edilen fenolik madde değerlerinin ısı işlem içeren ön işlemlerden daha düşük olmasının enzim aktivitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Gerek PEF uygulaması ve çözündürme esnasında gerekse 20 °C'deki ekstraksiyon boyunca, aktif polifenol oksidaz enzimleri (PPO), fenolik maddeler üzerinde bozucu etki göstermesi mümkün olmaktadır. Isıl ön işlem içeren ekstraksiyonlardaki fenolik madde değerlerinin yüksekliği de bunu destekler niteliktedir. Zira PPO enzimlerinin ısı direnci düşük olup, inaktif olduklarında fenolik maddeler üzerinde bozucu etki gösteremezler (Pekyardımcı, 1992). Enzimler dışında, ısı işlem de fenolik maddeler üzerinde etkide bulunmaktadır. Isının fenolik maddeler üzerinde etkisi, işlemin şiddeti (sıcaklık ve süre), fenolik madde çeşidi ve içinde bulunduğu ortamın özellikleri gibi unsurlara bağlı olarak değişebilmektedir. Birçok meyve ve sebzede ısının bozucu etkisi belirtilirken, bunun tam aksi yani

ısının fenolik madde değerlerini yükseltici etkisini rapor eden çalışmalar da vardır (Chipurura vd., 2010; Romero vd., 2014; Maghsoudlou vd., 2019; Radziejewska-Kubzdela vd., 2020). Isıl işlemin fenolik madde değerlerini yükseltici etkisi tam olarak açıklığa kavuşturulmamasına rağmen, ısı işlemin antioksidan özelliğe sahip yeni Maillard reaksiyon yan ürünlerinin oluşumuna ve hücre duvarını ileri derecede bozarak ekstraksiyonu artırabileceği öne sürülmüştür (Kaufmann ve Christen, 2002; Juániz vd., 2016; Kim vd., 2019)

Şekil 6'daki ekstraksiyon sonuçları bu açıdan değerlendirildiğinde, dereotundaki fenolik madde içeriği belirtilen ısı işlemlerde ısısal olmayan işlemlere kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir.

Bundan başka, Şekil 6'daki değerlerin ekstraksiyondaki çözünen ve çözgen (solvent) arasındaki polarite ilişkisinden etkilendiği düşünülmektedir. Ön işlemler sonrası

gerçekleştirilen katı-sıvı ekstraksiyon deneylerinde, örnekler birçok açıdan benzer şartlara maruz bırakılmıştır ancak bununla birlikte ekstraksiyon sistemlerinde farklılıklar da mevcuttur. Isıl işlem, mikrodalga, PEF, dondurup-çözündürme ön işlemleri içeren ekstraksiyonlarda, çözgen madde polar ve izotoniktir (0.33 M mannitol çözeltisi) ve ekstraksiyon 20 °C'de gerçekleştirilmiştir. Solvent ekstraksiyon sisteminde ise fenolik maddelerin daha fazla çözünmesine elverecek polar protik çözgen (20: 80, su / etanol) kullanılmış, önemli bir fark olarak ekstraksiyon 70 °C'de gerçekleştirilmiştir. Şekil 6c'de en yüksek AK değeri, solvent ekstraksiyon ön işleminde bulunmuştur.

Ekstraksiyon verimini etkileyen diğer bir unsur, ön işlemlerin dokuyu hangi oranda parçaladığı veya hücre zarını hangi oranda bozduğudur. Bu anlamda, özellikle taze dokuları parçalama yöntemlerinde uygulanan sıcaklık derecesi önemli olmaktadır. Isıl yöntem ile gerçekleşen parçalama metotlarında, parçalanma mekanizması çoğunlukla hücre zarlarının erimesi ile olmaktadır. Buna örnek olarak Eshtiaghi ve Knorr (2002) yaptığı çalışma incelendiğinde, belirli bir sıcaklık derecesi üzerinde şeker pancarı dokusunun hücre zarının ısı etkisiyle bozduğu gözlenmiştir. PEF işlemi hariç deneylerde kullanılan diğer ön işlemlerde, işlemler %100 hücre parçalanmasına yakın olacak şekilde tasarlanmıştır. Ancak PEF ön işleminde en fazla %61.43 ± 5.17 oranında hücre parçalanması gerçekleşmiştir. Solvent ekstraksiyon işleminde hücre parçalanması ve ekstraksiyon aynı esnada gerçekleşirken, diğer bütün ekstraksiyon sistemlerinde hücre parçalanması ekstraksiyon öncesinde sağlanmıştır.

### SONUÇ

Yapılan bu çalışma, yapraksı dokuların PEF ile parçalanabileceğini, ayrıca PEF ile parçalanmış dokuların katı-sıvı ekstraksiyon işlemine maruz bırakıldığında, fenolik maddelerin ekstrakte edilebileceğini göstermiştir. Uygulanan elektriksel parametrelere ve dokuların muamele edildiği ortamın özelliklerine göre kısmi değişiklikler gösterebilmesine rağmen, birçok meyve dokusu genellikle 1- 2 kV/cm'de bütüne yakın

parçalanmaktadır. Bu çalışmada dereotu dokusunun PEF ile parçalanmaya karşı gösterdiği direncin nane gibi diğer benzer bir bitki dokusundan daha yüksek olduğuna ve bütüne yakın parçalanmasının sağlanması için 4 kV/cm üzerinde bir elektrik alan kuvveti kullanımı gerektiğine işaret edilmiştir (Fincan, 2015). Ayrıca PEF'in fenolik maddeleri ekstrakte etme davranışının, dondurup-çözündürme işlemine benzediği belirtilmiştir.

Bu çalışmada, fenolik maddelere dair ekstraksiyon verimini belirlemede Folin-Ciocalteu, phosphomolybdenum ve DPPH metotlarından elde edilen sonuçlar arasında her zaman paralellik bulunmamıştır. PEF'in fenolik madde ekstraksiyonundaki etkinliği, genellikle dondurup-çözündürme işleminin etkinliğine benzemektedir. Ancak toplam fenolik içerik değerinde, dondurup-çözündürme işleminin etkinliği, PEF işleminden daha düşüktür. Dondurup-çözünmüş örneklerde, çözündürme sırasında bekleme süresi göz önüne alındığında, fenolik maddelerin enzimlerce parçalanması söz konusu olmaktadır. Isıl işlem içeren örneklerde fenolik madde analizlerinin genellikle yüksek çıkması, enzimlerin ekstraksiyondaki etkisini destekler niteliktedir. Çünkü ısı işlemde enzimlerin inaktivasyonu söz konusu olmaktadır. Bundan başka, ısı işlemin fenolik maddeler üzerinde etkisi, bitkiye özgü fenolik madde çeşidine göre değiştiği ve bazı çalışmalarda artış, bazılarında ise azalmaya yol açtığı bildirilmektedir. Yapılan bu çalışmada, dereotu örneklerinin PEF ile fenolik madde ekstraksiyonunun diğer işlemlere kıyasla daha az miktarda sonuçlandığı denemelerde gösterilmiş ve bunun PEF ile muamele edilmiş örneklerde doku bozunum oranının %100'e yakın olmaması ve ekstraksiyon süresince aktif kalan PPO gibi enzimlerin fenolik maddeleri bozma etkilerinden kaynaklanabileceğine işaret edilmiştir.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

### YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin oluşumundaki farklı süreçlerde önemli derecede katkı sağlamışlardır.

Mustafa Fincan makalenin son halini okudu ve onayladı.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu, TÜBİTAK, tarafından 108 O 641 proje kodu ile desteklenmiştir.

### KAYNAKLAR

Ade-Omowaye, B. I. O., Angersbach, A., Eshtiaghi, N. M., Knorr, D. (2000). Impact of High Intensity Electric Field Pulses on Cell Permeabilisation and as Pre-Processing Step in Coconut Processing. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 1(3), 203–209. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(00\)00014-X](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(00)00014-X)

Angersbach, A., Heinz, V., Knorr, D. (2002). Evaluation of Process-Induced Dimensional Changes in the Membrane Structure of Biological Cells Using Impedance Measurement. *Biotechnol Prog*, 18(3), 597–603. <https://doi.org/10.1021/bp020047j>

Barba, F. J., Jäger, H., Meneses, N., Esteve, M. J., Frigola, A., Knorr, D. (2012). Evaluation of Quality Changes of Blueberry Juice During Refrigerated Storage After High-Pressure and Pulsed Electric Fields Processing. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 14, 18–24. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.12.004>

Barsotti, I., Cheftel, J. C. (1999). Food Processing by Pulsed Electric Fields. II. Biological Aspects. *Food Rev Int*, 15(2), 181–213. <https://doi.org/10.1080/87559129909541186>

Bazhal, M., Nikolai, L., Vorobiev, E., (2003). Optimisation of Pulsed Electric Field Strength for Electroporation of Vegetable Tissues. *Biosyst Eng*, 86(3), 339–345. [https://doi.org/10.1016/S1537-5110\(03\)00139-9](https://doi.org/10.1016/S1537-5110(03)00139-9)

Chipurura, B., Muchuweti, M., Manditseraa, F. (2010). Effects of Thermal Treatment on the Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Vegetables. *Asian J Clin Nutr*, 2(3), 93–100. <https://doi.org/10.3923/ajcn.2010.93.100>

Chumyam, A., Whangchai, K., Jungklang, J., Faiyue, B. (2013). Effects of Heat Treatments on Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content

of Four Cultivars of Purple Skin Eggplants. *ScienceAsia*, 39(3), 246–251. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2013.39.246>

Xu, C., Wang, B., Pu, Y., Tao, J., Zhang, T. (2017). Advances in Extraction and Analysis of Phenolic Compounds from Plant Materials. *Chin J Nat Med*, 15(10), 721–731. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(17\)30103-6](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(17)30103-6)

Dai, J., Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>

Dhiman, C., Kumar, N., Kothiyal, P. (2017). Pharmacological Actions of *Anethum graveolens* (Dill). *J Phar Res*, 11(5), 511–516.

Eshtiaghi, M. N., Knorr, D. (2002). High Electric Field Pulse Pretreatment: Potential for Sugar Beet Processing. *J Food Eng*, 52(3), 265–272. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00114-5](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00114-5)

Fanasca, S., Roupheal, Y., Venneria, E., Azzini, E., Durazzo, A., Maiani, G. (2009). Antioxidant Properties of Raw and Cooked Spears of Green Asparagus Cultivars. *Int J Food Sci Technol*, 44, 1017–1023. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01871.x>

Fincan, M. (2015). Extractability of Phenolics from Spearmint Treated with Pulsed Electric Field. *J Food Eng*, 162, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.04.004>

Fincan, M., Dejmek, P. (2002). In Situ Visualization of the Effect of a Pulsed Electric Field on Plant Tissue. *J Food Eng*, 55(3), 223–230. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00079-1](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00079-1)

Donsi, F., Ferrari, G., Pataro, G. (2010). Applications of Pulsed Electric Field Treatments for the Enhancement of Mass Transfer from Vegetable Tissue. *Food Eng Rev*, 2(2), 109–130.

Gachovska, T., Cassada, D., Subbiah, J., Hanna, M., Thippareddi, H., Snow, D. (2010). Enhanced Anthocyanin Extraction from Red Cabbage Using Pulsed Electric Field Processing. *J Food Sci*,

- 75(6), 323-329. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01699.x>.
- Gaidamauskas, E., Norkus, E., Vaičiūnienė, J., Crans, D. C., Vuorinen, T., Jačiauskienė, J., Baltrūnas, G. (2005). Evidence of Two-step Deprotonation of D-mannitol in Aqueous Solution. *Carbohydr Res*, 340(8), 1553-1556. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.03.006>
- Niya, M. H., Aryai, P., Fatahi, E. (2016). The Effect of Extraction Methods on Phenolic and Tocopherol Content and Antioxidant Properties of Dill Extracts (*Anethum Graveolens*). *Iranian J Food Sci Technol*, 13(57), 109–119.
- Isbilir, S. S., Sagiroglu, A. (2011). Antioxidant Potensial of Different Dill (*Anethum Graveolens* L.) Leaf Extracts. *Int J Food Prop*, 14(4), 894–902. <https://doi.org/10.1080/10942910903474401>
- Jana, S., Shekhawat, G. S. (2010). *Anethum graveolens*: An Indian Traditional Medicinal Herb and Spice. *Pharmacogn Rev*, 4(8), 179–184. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70915>
- Kaufmann, B., Christen, P. (2002). Recent Extraction Techniques for Natural Products: Microwave-assisted Extraction and Pressurised Solvent Extraction. *Phytochem Anal*, 13(2), 105–113. <https://doi.org/10.1002/pca.631>
- Kunyanga, C. N., Imungi, J. K., Okoth, M. W., Biesalski, H. K., Vadivel, V. (2012). Total Phenolic Content, Antioxidant and Antidiabetic Properties of Methanolic Extract of Raw and Traditionally Processed Kenyan Indigenous Food Ingredients. *LWT- Food Sci Technol*, 45(2), 269–276. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.006>
- Liu, Z., Esveld, E., Vincken, J., Bruins, M. E. (2019). Pulsed Electric Field as an Alternative Pre-treatment for Drying to Enhance Polyphenol Extraction from Fresh Tea Leaves, *Food Bioproc Technol*, 12, 183-192. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2199-x>
- Maghsoudlou, Y., Ghajari, M. A., Tavasoli, S. (2019). Effects of Heat Treatment on the Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Quince Fruit and Its Tisane's Sensory Properties. *J Food Sci Technol*, 56(5), 2365–2372. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03644-6>
- Nguyen, V. T., Nguyen, N. Q., An, T. N. T., Van, N. T., Anh, N. H. T. (2020). Evaluation of Polyphenol Content and Antioxidant Activities of Dill Leaves Extract *Anethum graveolens* L., *IOP Conf Ser: Mater Sci Eng*, 991, 012032. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/991/1/012032>
- Pan, X., Niu, G., Liu, H. (2003). Microwave-assisted Extraction of Tea Polyphenols and Tea Caffeine from Green Tea Leaves. *Chem Eng Process*, 42(2), 129–133. [https://doi.org/10.1016/S0255-2701\(02\)00037-5](https://doi.org/10.1016/S0255-2701(02)00037-5)
- Pandey, M. M., Vijayakumar, M., Rastogi, S., Rawat, A. K. S. (2013). Phenolic Content and Antioxidant Properties of Selected Indian Spices of Apiaceae Phenolic Content and Antioxidant Properties of Selected Indian Spices of Apiaceae. *J Herbs Spices Med Plants*, 18(3), 246–256. <https://doi.org/10.1080/10496475.2012.680548>
- Paven, C. S. J., Radu, D., Alexa, E., Pintilie, S., Ravis, A. (2018). *Anethum graveolens*- An Important Source of Antioxidant Compounds for Food Industry. 18th International Multidisciplinary Scientific GeoConference, 02-08 July 2018, Sofia, Bulgaria, pp.11-18. <https://doi.org/10.5593/sgem2018/6.2/S25.002>
- Pekyardımcı, Ş. (1992). Polifenol Oksidaz Enzimi ve Esmerleşme Reaksiyonlarının Gıda Endüstrisi Uygulamaları. *Gıda*, 17(3), 181–186. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida/issue/6953/92734>
- Cao, S., Wan, C., Yu, Y., Zhou, S., Liu, W., Tian, S. (2011). Antioxidant Activity and Free Radical-Scavenging Capacity of Gynura Divaricata Leaf Extracts at Different Temperatures. *Pharmacogn Mag*, 7(25), 40. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.75900>
- Radziejewska-Kubzdela, E., Szwengiel, A., Ratajkiewicz, H., Nowak, K. (2020). Effect of Ultrasound, Heating and Enzymatic Pre-Treatment on Bioactive Compounds in Juice from *Berberis amurensis* Rupr. *Ultrason Sonochem*, 63, 104971. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.104971>
- Romero, J. F., Díaz-moreno, C., Bernal-Roa, L. J. (2014). Influencia de Tratamientos Térmicos

- sobre la Capacidad Antioxidante de Espinaca (*Spinacea oleracea* L.). *Acta Hortic*, 1016, 109–112. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1016.13>
- De Vito, F., Ferrari, G., Lebovka, N. I., Shynkaryk, N. V., Vorobiev, E. (2008). Pulse Duration and Efficiency of Soft Cellular Tissue Disintegration by Pulsed Electric Fields. *Food Bioproc Tech*, 1(4), 307-313. <https://doi.org/10.1007/s11947-007-0017-y>
- Roy, M. K., Takenaka, M., Isobe, S., Tsushida, T. (2007). Antioxidant Potential, Anti-Proliferative Activities, and Phenolic Content in Water-Soluble Fractions of Some Commonly Consumed Vegetables: Effects of Thermal Treatment. *Food Chem*, 103(1), 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.002>
- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., Saura-calixto, F. (1998). A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *J Sci Food Agric*, 76, 270–276. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199802\)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9)
- Saulis, G. (2010). Electroporation of Cell Membranes: The Fundamental Effects of Pulsed Electric Fields in Food Processing. *Food Eng Rev*, 2(2), 52–73. <https://doi.org/10.1007/s12393-010-9023-3>
- Shyu, Y., Lin, J., Chang, Y., Chiang, C., Yang, D. (2009). Evaluation of Antioxidant Ability of Ethanolic Extract from Dill (*Anethum graveolens* L.) Flower. *Food Chem*, 115(2), 515–521. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.039>
- Carbonell-Capella, J. M., Brnčić, S. R., Žlabur, J. Š., Barba, F. J., Grimi, N., Koubaa, M., Brnčić, M., Vorobiev, E. (2017). Electrotechnologies, Microwaves, and Ultrasounds Combined with Binary Mixtures of Ethanol and Water to Extract Steviol Glycosides and Antioxidant Compounds from *Stevia rebaudiana* Leaves. *J Food Process Preserv*, 41(5), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13179>
- Soliva-Fortuny, R., Balasa, A., Knorr, D., Martín-Belloso, O. (2009). Effects of Pulsed Electric Fields on Bioactive Compounds in Foods: A Review. *Trends Food Sci Technol*, 20(11-12), 544–556. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.07.003>
- Świeca, M., Gawlik-Dziki, U. (2008). Influence of Thermal Processing on Phenolics Compounds Level and Antiradical Activity of Dill (*Anethum graveolens* L.). *Herba Pol*, 54(3), 59–69.
- Vallverdú-Queralt, A., Regueiro, J., Alvarenga, J. F. R., Martínez-Huélamo, M., Leal, L. N., Lamuela-Raventós, R. M. L. (2015). Characterization of the Phenolic and Antioxidant Profiles of Selected Culinary Herbs and Spices: Caraway, Turmeric, Dill, Marjoram and Nutmeg. *J Food Sci Technol*, 35(1), 189–195. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6580>
- Vallverdu-Queralt, A., Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Lamuela-Raventós, R. M., Martín-Belloso, O., Elez-Martínez, P. (2012). Effects of Pulsed Electric Fields on the Bioactive Compound Content. *J Agric Food Chem*, 60(12), 3126-3134. <https://doi.org/10.1021/jf205216m>
- Nagy, M., Tofană, M., Socaci, S. A., Pop, A. V., Borș, M. D., Fărcaș, A., Moldovan, O. (2014). Total Phenolic, Flavonoids and Antioxidant Capacity of Some Medicinal and Aromatic Plants. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. *Food Sci Technol*, 71(2). <https://doi.org/10.15835/buasvmcnfst:10639>
- Wilson, L. (2016). Spices and Flavoring Crops: Fruits and Seeds, Encyclopedia of Food and Health. In: *Encyclopedia of Food and Health* (1st ed.), Caballero, B., Finglas, P., Toldrá, F., (Eds.), Academic Press. pp.73-83
- Zhang, M. I. N., Willison, J. H. M. (1992). Electrical Impedance Analysis in Plant Tissues: The Effect of Freeze-Thaw Injury on the Electrical Properties of Potato Tuber and Carrot Root Tissues. *Can J Plant Sci*, 72(2), 545–553. <https://doi.org/10.4141/cjps92-068>
- Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., Rakesh, D.D. (2008). *Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants*. (1st ed.), United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology, Trieste, Italy, pp. 21-52.

Kim, M. Y., Lee, B. W., Lee, H. U., Lee, Y. Y., Kim, M. H., Lee, J. Y., Lee B. K., Woo, K. S., Kim, H. J. (2019). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Sweet Potato After Heat Treatment. *J Sci Food Agric*, 99(15), 6833-6840. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9968>

Juániz, I., Ludwig, I. A., Huarte, E., Pereira-Caro, G., Moreno-Rojas, J. M., Cid, C., De Peña, M. P. (2016). Influence of Heat Treatment on Antioxidant Capacity and (Poly) Phenolic Compounds of Selected Vegetables. *Food Chem*,

197, 466-473. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.139>

Turkmen, N., Sari, F., Velioglu, Y. S. (2005). The Effect of Cooking Methods on Total Phenolics and Antioxidant Activity of Selected Green Vegetables. *Food Chem*, 93(4), 713-718. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.038>

## EFFECTS OF BLACK PEPPER AND SODIUM ASCORBATE ON VOLATILE COMPOUNDS OF SUCUK

Selen Sallan<sup>1\*</sup>, Güzin Kaban<sup>2</sup>, Mükerrerem Kaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bandırma Onyedi Eylül University, Bandırma Vocational School, Department of Food Processing, Bandırma, Balıkesir, Turkey

<sup>2</sup>Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Erzurum, Turkey

Received / Geliş: 30.06.2021; Accepted / Kabul: 18.10.2021; Published online / Online baskı: 27.10.2021

Sallan, S., Kaban, G., Kaya, M. (2021). Effects of black pepper and sodium ascorbate on volatile compounds of sucuk. GIDA (2021) 46 (6) 1358-1368 doi: 10.15237/gida.GD21107.

Sallan, S., Kaban, G., Kaya, M. (2021). Karabiber ve sodyum askorbatın sucuğun uçucu bileşikleri üzerine etkileri. GIDA (2021) 46 (6) 1358-1368 doi: 10.15237/gida.GD21107.

### ABSTRACT

The effects of different levels of black pepper (5, 10 or 15 g/kg) and the use of ascorbate (without ascorbate and with ascorbate) on the volatile compounds of sucuk were examined in the study. The volatile compounds of the samples belonging to each group were extracted by solid phase micro-extraction (SPME) and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Ascorbate was not effective on aldehydes, aromatic hydrocarbons, esters, acids and terpenes. While high black pepper level (15 g/kg) decreased the abundance of hexanal, it increased the ethanol abundance.  $\alpha$ -pinene and 3-carene increased as black pepper levels increased. Among the terpenes, D-limonene and caryophyllene were the most abundant compounds and were significantly affected by the black pepper level of 15 g/kg. D-limonene and caryophyllene were the most related compounds for PC1; while allyl mercaptane,  $\gamma$ -terpinene, D-limonene, hexane for PC2.

**Keywords:** Volatile compound, black pepper, ascorbate, fermented sausage, sucuk, principal component analysis (PCA)

### KARABİBER VE SODYUM ASKORBATIN SUCUĞUN UÇUCU BİLEŞİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

#### ÖZ

Araştırmada, farklı seviyelerde karabiber (5, 10 veya 15 g/kg) ve askorbat (askorbatsız ve askorbatlı) kullanımının sucuğun uçucu bileşikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Her gruba ait numunelerin uçucu bileşikleri katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) ile ekstrakte edilmiş ve gaz kromatografi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. Askorbat, aldehitler, aromatik hidrokarbonlar, esterler, asitler ve terpenler üzerinde etkili olmamıştır. Yüksek karabiber düzeyi (15 g/kg) hekzanal seviyesini azaltırken, etanol seviyesini artırmıştır. Karabiber seviyesi arttıkça  $\alpha$ -pinen ve 3-carene artmıştır. Terpenler içerisinde D-limonen ve karyofillen en fazla bulunan bileşikler olup 15 g/kg karabiber seviyesinden önemli ölçüde etkilenmiştir. D-limonen ve karyofillen PC1, allil merkaptan,  $\gamma$ -terpinen, D-limonen ve hekzan ise PC2 için en ilgili bileşiklerdir.

**Anahtar Kelimeler:** Uçucu bileşik, karabiber, askorbat, fermente sosis, sucuk, temel bileşen analizi (PCA)

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: ssallan@bandirma.edu.tr

☎: (+90) 266 606 7529

☎: (+90) 266 714 9304

Selen Sallan; ORCID no: 0000-0001-9806-6937

Güzin Kaban; ORCID no: 0000-0001-6720-7231

Mükerrerem Kaya; ORCID no: 0000-0001-6340-828X

### INTRODUCTION

Flavor is one of the most important quality attributes for meat products and contributes the acceptability of the product by consumer. The biochemical changes during ripening of fermented sausages determine the taste and aroma of the final product. Carbohydrate fermentation, lipolysis, proteolysis, lipid oxidation and amino acid catabolism are important phenomena with regard to the characteristic flavor of dry and semi-dry fermented sausages such as sucuk, salami, Rohwurst, Chorizo, pepperoni (Ordonez et al., 1999; Kaban, 2010; Kaya and Kaban, 2019). In these reactions, external factors such as the initial fermentation temperature, as well as internal factors such as salt, curing agent, sugar and spices, which are involved in the formulation, have become effective. The abundance and balance of volatile and non-volatile compounds formed as a result of the reactions vary depending on the type of product, and thus different products can be obtained in terms of flavor (Kaya and Kaban, 2019). Volatile compounds contribute to the aroma of the product, while non-volatile compounds such as peptides and free amino acids directly affect the flavor of the product (Toldra, 1998).

The spices used in fermented sausages also contribute to the characteristic flavor and aroma of the product. In the formulation, spices are used in proportions varying between 0.5-2% depending on the type of product, and even some products are characterized by the specific spices they contain (Ordonez et al., 1999). Black pepper takes place an important position among the spices and it is called "the king of the spices" (Srinivasan, 2007; Zhang et al., 2021). Black pepper is widely used in fresh meat and processed meat products because of its pungent and characteristic taste (Vignolo et al., 2010). Black pepper is also an important spice for sucuk, a type of dry fermented sausage. However, there is no study of the effect of black pepper on sucuk's volatile profile.

The additives also play an important role on flavor of fermented sausages. Salt and nitrite are

essential additives for these products. Besides, ascorbate can be also added to the formulation. However, the number of studies on the effect of this reducing compound on the volatile compound profile of fermented sausages is rather limited (Stahnke, 1999). The relationship between the volatile compound profile and ascorbate in sucuk has not yet been investigated (Kaban and Kaya, 2009; Ekici et al., 2015; Yalınkılıç et al., 2015). Therefore, it is aimed to determine the effects of different levels of black pepper (5 g/kg, 10 g/kg or 15 g/kg) and the use of ascorbate (with or without sodium ascorbate) on the volatile compound profile of sucuk, a type of dry fermented sausage.

### MATERIAL AND METHOD

#### Material

Beef meat (round) and beef fat were used as a raw material obtained from two carcasses (24 h post-mortem). After raw meat was trimmed of visible fat and connective tissue, it was cut into small pieces. Similarly, beef fat was also cut into small pieces. Then, after vacuum packaging, they were separately stored at -18 °C for a week.

Autochthonous strains (*Lactobacillus plantarum* GM77 + *Staphylococcus xylosus* GM92) were used as starter culture (Kaban and Kaya, 2009). *L. plantarum* GM77 and *S. xylosus* GM92 were grown in MRS (Merck, Darmstadt, Germany) and TSB (Merck, Darmstadt, Germany) broth at 30 °C for 24 h. *L. plantarum* GM77 was inoculated with 10<sup>7</sup> cfu/g, while *S. xylosus* GM92 was inoculated with 10<sup>6</sup> cfu/g into sucuk batters.

#### Sucuk Production

For the sucuk production, 20 g salt, 10 g garlic, 4 g sucrose, 7 g red pepper, 9 g cumin, 2.5 g allspice, 0.15 g sodium nitrite per 1 kg beef meat and beef fat were used. Considering this basic formulation, 6 sucuk batters (with starter culture) were made using different levels of black pepper (5, 10 or 15 g/kg) and sodium ascorbate (0 or 568 mg/kg). Five kg of sucuk batter per each treatment was prepared in laboratory-type bowl cutter (MADO Typ MTK 662, Dornhan / Schwarzwald). For each treatment, two batches were prepared, thus a total of 12 sucuk batches was obtained.



The sucuk batters were stuffed into collagen casings (Naturin Darm, 38 mm) at  $200 \pm 10$  g using a laboratory-type filling machine (MADO Typ MTK 591, Dornhan / Schwarzwald). The sausages were ripened in an automatic climate unit (Reich, Germany), where temperature, relative humidity and air flow can be controlled automatically. The ripening program was carried out in the automatic climate unit for 2 days with a temperature of  $22 \pm 1$  °C, relative humidity of  $90 \pm 2\%$ , and on days 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> with a temperature of  $20 \pm 1$  °C, relative humidity of  $88 \pm 2\%$ . On the following days (5<sup>th</sup>, 6<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> days), the temperature was kept constant at  $18 \pm 1$  °C, and the relative humidity was gradually reduced to  $80 \pm 2\%$ . Air flow was kept at 0.5 m/s in the first 3 days of ripening, and gradually decreased to 0.1 m/s in the following days (Kaban and Kaya, 2009).

### Method

After sucuk production, two random samples were taken from each treatment in each production and they were subjected to pH,  $a_w$  and volatile compounds analyzes.

### Determination of pH and $a_w$

To determinate to pH value of samples, 10 g of sucuk sample was homogenised with 100 mL distilled water using Ultra-Turrax (T25; IKA-Werke GmbH, Staufen, Germany), then it was measured using a pH meter (Orion 420, Thermo, Waltham, MA).

The water activity ( $a_w$ ) value of samples was determined at 25 °C using an  $a_w$  sprint device (Model TH-500; Novasina AG, Lachen, Switzerland). Before the analysis, the instrument was calibrated with 6 different salt solutions.

### Analysis of Volatile Compounds

Five g each of the homogenized samples were weighed into 40 mL vials (Supelco, Bellefonte PA, USA). The vials were kept in a thermal block (Supelco, Bellefonte PA, USA) for one hour at 30 °C for the extraction of volatile compounds and it was ensured that volatile compounds were accumulated in the headspace. Then, CAR/PDMS fiber (Supelco, 75  $\mu$ m, USA) was

placed in vials for adsorption of the compounds and kept for 2 hours. After this step, the fiber was injected into the gas chromatography (GC, Agilent Technologies 6890N) device and the compounds were identified by mass spectrometry (MS, Agilent Technologies 5973). Carrier gas used in the system was helium and DB-624 (60 m x 0.250 mm x 1.40  $\mu$ m, Agilent Tech, USA) was used as column. The oven temperature of the gas chromatography was initially set at 40 °C for 5 min, and then gradually increased to 110 °C with 3 °C/min, 150 °C with 4 °C/min and 210 °C with 10 °C/min, then kept at 210 °C for 12 min. The library of mass spectrometry (NIST, WILEY and FLAVOR) and standard mix (Supelco 44585-U, Bellefonte PA USA) were used for identification (Kaban, 2009).

### Statistical Analysis

The use of sodium ascorbate (without or with sodium ascorbate) and black pepper level (5, 10, 15 g/kg) were evaluated as factors. For each treatment, two batters were prepared. The experiments were performed according to the randomised complete block design with two blocks (two replicates). The data was analyzed with two-way ANOVA using the general linear model. The factors were evaluated as fixed effects and replicates as random effect. The means of significant sources of variation were compared using Duncan's multiple comparison test at the  $P < 0.05$  level. All statistical analyzes were carried out using the SPSS version 24 statistical program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Principal component analysis (PCA) was performed with the aid of The Unscrambler software (CAMO software version 10.1).

## RESULTS AND DISCUSSION

### pH and $a_w$

The overall effect of sodium ascorbate addition and black pepper level on the pH and  $a_w$  of sucuk samples is given Table 1. According to the results, the black pepper level and sodium ascorbate addition did not significantly affect the pH and  $a_w$  values of the samples ( $P > 0.05$ ). In this study, starter culture was used in all treatments. Both  $a_w$  and pH are hurdle effects for fermented sausages. In sucuk samples, pH and  $a_w$  values were below

5.0 and 0.90, respectively (Table 1). Similar results have been reported in previous studies on sucuk made with starter culture (Kaban and Kaya, 2009; Sallan et al., 2019).

Table 1: Mean pH and  $a_w$  values for sucuk samples (Mean  $\pm$  SD)

Treatment	n	pH	$a_w$
<i>Sodium Ascorbate (Asc)</i>			
without Asc	12	4.86 $\pm$ 0.06	0.87 $\pm$ 0.04
with Asc	12	4.89 $\pm$ 0.05	0.89 $\pm$ 0.02
Significance		ns	ns
<i>Black Pepper Level (BP)</i>			
5 g/kg	8	4.90 $\pm$ 0.03	0.88 $\pm$ 0.01
10 g/kg	8	4.86 $\pm$ 0.06	0.89 $\pm$ 0.02
15 g/kg	8	4.86 $\pm$ 0.08	0.87 $\pm$ 0.05
Significance		ns	ns
Asc x BP		ns	ns

ns: not significant,  $P > 0.05$ ; SD: standard deviation.

### Volatile Compounds

The overall effects of black pepper level and sodium ascorbate addition on the volatile compound profile of sucuk are given in Table 2. A total of 47 compounds, including 5 aldehydes, 4 aliphatic hydrocarbons, 1 alcohol, 2 aromatic hydrocarbons, 1 acid, 2 ester, 8 sulfur compounds and 24 terpene compounds, were identified in the sucuk samples (Table 2).

Aroma is one of the most important quality attributes in fermented sausages such as sucuk. Compounds formed by biochemical reactions such as lipolysis, proteolysis, lipid oxidation, amino acid catabolism, strecker degradation during fermentation and drying contribute to the aroma (Kaban, 2010; Xiao et al., 2020). The spices in the formulation can also contribute more or less effectively to the aroma (Ordonez et al., 1999).

The use of sodium ascorbate showed no significant effect on aldehydes ( $P > 0.05$ ), while the black pepper reduced the abundance of hexanal and 2-methyl-3 phenyl propanal in sucuk ( $P < 0.05$ ). In fermented sausages, aldehydes can be formed through strecker degradation, carbohydrate metabolism or lipid oxidation (Ordonez et al., 1999). The fact that high black

pepper levels (15 g/kg) decrease both hexanal and 2-methyl-3 phenyl propanal levels in sucuk samples in the study may be due to black pepper being a good source of flavonoid and phenolic antioxidants (Zarai et al., 2013). Hexanal is an indicator of lipid oxidation. This compound possesses the typical smell of green grass (Sidira et al., 2015). 2-methyl-3 phenyl propanal is the characteristic aldehyde for sucuk (Kaban, 2010). As in the present study, Stahnke (1999) reported that ascorbate had no effect on aldehydes.

Black pepper had no effect on aliphatic hydrocarbons ( $P > 0.05$ ). Sodium ascorbate, on the other hand, was effective only on hexane ( $P < 0.05$ ). Due to the high threshold values of aliphatic hydrocarbons, their effects on the aroma of fermented sausages are very limited (Ruiz et al., 1999; Ramirez and Cava, 2007). Hexane also had the highest abundance among aliphatic hydrocarbons (Table 2).

Black pepper level did not significantly affect the aromatic hydrocarbons ( $P > 0.05$ ). Similarly, sodium ascorbate had no significant effect on these compounds ( $P > 0.05$ ) (Table 2). In addition, 2 aromatic hydrocarbons were determined in sucuk samples. These compounds were previously determined in a study on sucuk conducted by Kaban (2010).

Ethyl alcohol was the only alcohol that was determined in sucuk samples. The use of ascorbate decreased the level of this compound, while 15 g/kg black pepper level increased ethanol formation ( $P < 0.05$ ). However, there was no statistically significant difference between addition of 5 g/kg and 10 g/kg ( $P > 0.05$ ) (Table 2). Alcohols are generated as reaction products of lipid oxidation, carbohydrate metabolism and amino acid catabolism in dry fermented sausages (Mateo and Zumalacarregui, 1996; Ordonez et al., 1999). Ethyl alcohol determined in sucuk samples was found to be lower in the presence of ascorbate (Table 2). On the other hand, Sallan et al. (2022) reported that the use of ascorbate in a semi-dry fermented sausage has no effect on ethyl alcohol. In a study carried out by Stahnke (1999), it was reported that the addition of ascorbate significantly increases ethanol level. On the other

hand, increasing the black pepper level to 15 g/kg increased the ethanol level (Table 2). It is thought that these results are related to the redox potential of the meat fermentation (Huynh et al., 2020). Ordonez et al. (1999) also emphasized that alcohol formation is favored by a greater NADH compared to NAD<sup>+</sup> concentration.

Only acetic acid was determined as acid in sucuk samples (Table 2). Acetic acid is formed through

amino acid catabolism and lipid oxidation as well as activities of homofermentative lactic acid bacteria and staphylococci (Montel et al., 1998). This compound, which gives sour note to the product (Montel et al., 1998), was also identified in previous studies on sucuk (Kaban 2010, Demirok Soncu et al., 2020). However, in our study, neither the black pepper content nor the addition of sodium ascorbate significantly affected the acids ( $P > 0.05$ ) (Table 2).

Table 2. Overall effects of ascorbate addition and black pepper levels on the volatile profile of sucuk (means  $\pm$  SD) (AU x 10<sup>6</sup>)

Compounds	KI	RT	Ascorbate Addition (Asc)		Black Pepper Level (BP)			P	
			Without Asc	With Asc	5 g/kg	10 g/kg	15 g/kg	Asc	BP
Aldehydes									
Pentanal	742	A	0.38 $\pm$ 0.26a	0.37 $\pm$ 0.34a	0.52 $\pm$ 0.32a	0.24 $\pm$ 0.29a	0.35 $\pm$ 0.23a	ns	ns
Hexanal	849	A	1.38 $\pm$ 0.86a	0.94 $\pm$ 0.84a	1.79 $\pm$ 0.91a	1.04 $\pm$ 0.89ab	0.65 $\pm$ 0.25b	ns	*
Octanal	1051	A	0.49 $\pm$ 0.25a	1.01 $\pm$ 1.36a	1.34 $\pm$ 1.58a	0.47 $\pm$ 0.27a	0.43 $\pm$ 0.15a	ns	ns
Nonanal	1143	A	2.52 $\pm$ 1.69a	4.30 $\pm$ 6.06a	5.77 $\pm$ 7.14a	2.18 $\pm$ 1.41a	2.27 $\pm$ 1.53a	ns	ns
2-methyl-3-phenyl- propanal	1344	B	9.76 $\pm$ 2.49a	10.5 $\pm$ 3.16a	11.9 $\pm$ 3.15a	10.3 $\pm$ 2.44ab	8.23 $\pm$ 1.56b	ns	*
Aliphatic Hydrocarbons									
Hexane	600	A	18.2 $\pm$ 8.67a	11.3 $\pm$ 3.75b	16.6 $\pm$ 9.26a	13.70 $\pm$ 7.09a	13.93 $\pm$ 6.26a	*	ns
Undecane	1100	A	0.56 $\pm$ 0.38a	0.62 $\pm$ 0.45a	0.72 $\pm$ 0.49a	0.58 $\pm$ 0.50a	0.47 $\pm$ 0.08a	ns	ns
Dodecane	1200	A	2.33 $\pm$ 1.44a	1.75 $\pm$ 0.79a	1.94 $\pm$ 0.90a	2.27 $\pm$ 1.22a	1.92 $\pm$ 1.44a	ns	ns
Tetradecane	1400	A	2.19 $\pm$ 2.33a	1.58 $\pm$ 1.57a	1.93 $\pm$ 1.87a	2.06 $\pm$ 1.61a	1.66 $\pm$ 2.27a	ns	ns
Alcohol									
Ethanol	505	A	0.82 $\pm$ 0.65a	0.39 $\pm$ 0.31b	0.46 $\pm$ 0.23b	0.39 $\pm$ 0.34b	0.96 $\pm$ 0.76a	*	*
Aromatic Hydrocarbons									
Styrene	935	B	0.16 $\pm$ 0.22a	0.15 $\pm$ 0.13a	0.22 $\pm$ 0.22a	0.15 $\pm$ 0.18a	0.09 $\pm$ 0.09a	ns	ns
1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)- benzene	1434	C	4.94 $\pm$ 1.41a	5.65 $\pm$ 1.51a	4.79 $\pm$ 1.45a	5.65 $\pm$ 1.65a	5.45 $\pm$ 1.37a	ns	ns
Acid									
Acetic acid	710	A	6.46 $\pm$ 2.30a	6.81 $\pm$ 3.73a	7.67 $\pm$ 3.55a	5.56 $\pm$ 2.53a	6.68 $\pm$ 2.94a	ns	ns
Esters									
Methyl acetate	890	C	1.01 $\pm$ 0.43a	0.69 $\pm$ 0.44a	1.09 $\pm$ 0.51a	0.72 $\pm$ 0.43a	0.74 $\pm$ 0.39a	ns	ns
Hexyl butyrate	1215	B	1.43 $\pm$ 1.03a	1.00 $\pm$ 0.50a	1.55 $\pm$ 0.96a	1.41 $\pm$ 0.85ab	0.68 $\pm$ 0.28b	ns	*
Sulfur Compounds									
Allyl mercaptan	574	B	18.6 $\pm$ 8.60a	13.7 $\pm$ 6.99a	19.43 $\pm$ 9.3a	12.26 $\pm$ 5.47a	16.62 $\pm$ 8.18a	ns	ns
Allyl methyl sulfide	730	B	4.21 $\pm$ 2.45a	2.33 $\pm$ 1.56b	4.39 $\pm$ 2.89a	2.54 $\pm$ 1.74a	2.87 $\pm$ 1.64a	*	ns
1-(methylthio)- 1-propene	832	C	0.36 $\pm$ 0.20a	0.36 $\pm$ 0.26a	0.52 $\pm$ 0.21a	0.19 $\pm$ 0.18b	0.36 $\pm$ 0.18ab	ns	*
Dimethyl disulfide	834	B	0.98 $\pm$ 0.43a	0.71 $\pm$ 0.37a	1.15 $\pm$ 0.45a	0.71 $\pm$ 0.38b	0.67 $\pm$ 0.23b	ns	*
3,3'-thiobis-1-propene	888	B	3.01 $\pm$ 1.88a	1.25 $\pm$ 0.77b	2.96 $\pm$ 2.05a	1.78 $\pm$ 1.72a	1.63 $\pm$ 0.87a	**	ns

## Ascorbate and black pepper on the volatile profile of sucuk

Table 2. continue

Compounds	KI	RT	Ascorbate Addition (Asc)		Black Pepper Level (BP)			P	
			Without Asc	With Asc	5 g/kg	10 g/kg	15 g/kg	Asc	BP
Methyl 2-propenyl disulfide	969	C	3.46±1.74a	2.30±1.15b	3.98±2.00a	2.25±1.03b	2.43±0.92b	*	*
Methyl trans-propenyl-disulfide	977	B	0.46±0.24a	0.48±0.23a	0.63±0.22a	0.36±0.26b	0.43±0.11ab	ns	ns
Di-2-propenyl- disulfide	1135	B	10.28±4.1a	7.22±2.29b	11.31±4.8a	7.23±1.96b	7.69±2.11b	*	*
Terpenes									
α-Thujene	944	B	3.15±1.28a	3.35±1.42a	2.51±0.40b	2.50±1.14b	4.73±0.71a	ns	**
α -Pinene	951	C	4.61±1.79a	4.86±2.19a	2.94±0.52c	4.18±1.01b	7.08±1.04a	ns	**
Camphene	970	C	0.38±0.21a	0.48±0.23a	0.49±0.29a	0.41±0.23a	0.38±0.12a	ns	ns
β-Pinene	996	C	25.6±5.99a	26.4±7.26a	27.23±7.8a	24.13±6.38a	27.84±7.89a	ns	ns
α -Phellandrene	1019	C	5.48±2.95a	5.59±3.25a	3.53±0.33b	4.08±2.56b	9.00±1.70a	ns	**
3-Carene	1026	C	5.63±2.13a	5.14±2.04a	3.06±0.45c	5.91±1.64b	7.18±0.91a	ns	**
α-Terpinene	1042	C	2.33±0.65a	2.50±0.71a	2.16±0.48b	2.11±0.70b	2.97±0.46a	ns	*
D-Limonene	1054	A	21.76±7.4a	19.5±10.8a	14.39±3.6b	16.92±5.35b	30.59±7.6a	ns	**
β-Phellandrene	1060	C	4.39±1.61a	4.30±1.96a	3.38±0.70b	3.43±1.34b	6.23±1.32a	ns	**
Cis-Ocimene	1097	C	2.42±0.74a	2.54±0.59a	2.75±0.89a	2.24±0.39a	2.47±0.56a	ns	ns
γ-Terpinene	1099	C	30.20±8.5a	28.16±5.2a	33.2±7.59a	26.36±6.14a	27.95±5.98a	ns	ns
Terpinolene	1104	C	1.77±0.43a	1.17±0.42a	1.11±0.55a	1.02±0.34a	1.38±0.25a	ns	ns
Linalool	1161	A	6.94±2.86a	6.06±1.50a	7.25±2.64a	6.47±2.52a	5.77±1.58a	ns	ns
4-Terpinenol	1235	B	3.25±1.09a	2.87±0.91a	2.82±1.19a	2.83±0.58a	3.53±1.11a	ns	ns
α -Terpineol	1258	C	2.44±1.51a	2.48±0.81a	2.54±0.65a	2.68±1.95a	2.16±0.46a	ns	ns
Delta elemene	1391	C	2.36±0.78a	2.29±0.76a	1.83±0.50a	2.46±0.63ab	2.69±0.88b	ns	ns
2-carene-10-al	1393	C	1.88±1.00a	1.55±0.95a	2.06±0.56a	1.86±1.29a	1.23±0.82a	ns	ns
α -Cubebene	1396	C	0.87±0.57a	0.88±0.28a	0.80±0.18a	0.76±0.56a	1.05±0.48a	ns	ns
Copaene	1433	C	5.76±2.73a	6.19±2.11a	4.44±0.30b	5.27±2.85b	8.22±1.28a	ns	**
Eugenol	1456	B	3.67±1.27a	3.79±1.37a	3.30±0.71a	4.15±1.45a	3.74±1.56a	ns	ns
Trans-Caryophyllene	1468	B	2.02±0.73a	1.64±0.64a	1.56±0.39b	1.49±0.66b	2.43±0.64a	ns	**
α -trans- Bergamotene	1472	C	2.87±1.53a	3.06±1.67a	1.81±0.60b	2.77±1.75b	4.32±0.99a	ns	**
Caryophyllene	1490	B	22.2±12.9a	24.7±13.6a	14.2±3.89b	20.7±14.84b	35.44±7.2a	ns	**
α -Caryophyllene	1504	B	1.97±1.09a	2.26±1.19a	1.30±0.41b	1.99±1.30b	3.04±0.74a	ns	**

P: statistical significance; ns: not significant  $P > 0.05$ ; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ . Results are expressed in Arbitrary Area Units ( $\times 10^6$ ); RI: Reliability of identification; A: mass spectrum and retention time identical with an authentic sample; B: mass spectrum and Kovats index from literature in accordance; C: tentative identification by mass spectrum; KI: Kovats index calculated for DB-624 capillary column (60 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  1.4  $\mu$ m) installed on a gas chromatograph equipped with a mass selective detector. Different letters (a-c) indicate significant differences between the levels in the groups.

Another volatile chemical group identified in sucuk is esters. The esters determined were hexyl butyrate and methyl acetate. None of the compounds were affected by the use of ascorbate. The black pepper level of 15 g/kg showed lower abundance for hexyl butyrate than for 5g/kg ( $P$

$>0.05$ ) (Table 2). Esters have low threshold values and give a fruity note to dry fermented sausages. The presence of alcohols and acids, as well as the esterification activity of staphylococci play an important role in ester formation (Xiao et al., 2020).

Among the sulfur compounds, allyl mercaptan showed a higher abundance in sucuk samples. However, this compound was not influenced by the addition of ascorbate ( $P > 0.05$ ). The use of ascorbate affected the levels of 3,3-thiobis-1-propene, allyl methyl sulfide, methyl-2-propenyl-disulfide, di-2-propenyl-disulfide significantly ( $P < 0.05$ ). The use of ascorbate in sucuk production reduced the abundance of some sulfur compounds (Table 2). Sulfur compounds can be formed by enzymatic reactions (allium types such as onion and garlic or vegetables such as broccoli, cabbage and cauliflower) or by heat treatment applications. Due to their low aroma and taste thresholds, volatile sulfur compounds can exhibit sensory potential at low concentrations (McGorin, 2011). The black pepper level was also significantly effective on 1- (methylthio)-propene, dimethyl disulfide, methyl 2-propenyl-disulfide and di-2-propenyl-disulfide compounds ( $P < 0.05$ ). Increasing the level of black pepper in sucuk production from 5 g/kg to 10 g/kg led to a decrease in the abundance of 1- (methylthio) - 1-propene, dimethyl disulfide, methyl 2-propenyl-disulfide and di-2-propenyl-disulfide compounds. However, increasing the black pepper level to 15 g/kg caused no significant difference ( $P > 0.05$ ).

The use of ascorbate had no significant effect on terpenes in sucuk samples ( $P > 0.05$ ). On the other hand, the black pepper level was effective on 12 of 24 terpenes at the level of  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$  (Table 2). Terpenes play an important role in the volatile profile of sucuk. In addition to black pepper, many spices such as garlic, red pepper, allspice and cumin are used in the sucuk (Kaban, 2010). The main source of terpenes are spices (Flores, 2018). It is reported that the main volatile compounds of black pepper are caryophyllene, D-limonene, 3-carene (Li et al., 2020). In addition, volatile compounds such as alpha-pinene, sabinene, 1-alpha-phellandrene are included in the volatile profile of black pepper (Chi and Wu, 2007; Lilie et al., 2007; Munekata et al., 2020). However, volatile profile of black pepper varies depending on the many factors such as chemotypes, geographic origin, seasonality, and use of

oil extraction methods (Li et al., 2020). In the present study, caryophyllene, D-limonene, and  $\gamma$ -terpinene were the most volatile compounds with the highest abundance among the terpenes in sucuk samples. Of these compounds,  $\gamma$ -Terpinene was not affected by the black pepper level ( $P > 0.05$ ). On the other hand, caryophyllene and D-limonene, which are of the main volatile compounds of black pepper, showed higher abundance at 15 g/kg black pepper level (Table 2). 3-Carene, a bicyclic monoterpene, increased with increasing black pepper level. When the black pepper level was increased from 5 g/kg to 15 g/kg, the abundance of this compound increased approximately 2.5 times (Table 2).  $\alpha$ -pinene also increased significantly as black pepper levels increased. In sucuk samples with 5 g/kg black pepper and sucuk samples with 10 g/kg black pepper, it was found that there were no significant differences in terms of  $\alpha$ -thujene, alpha-phellandrene,  $\alpha$ -terpinene, D-limonene, beta-phellandrene, copaene, trans-caryophyllene, alpha-trans-bergamotene, caryophyllene, alpha-caryophyllene (Table 2). The black pepper content of 15 g/kg showed a higher abundance for these compounds than for 5 and 10 g/kg.

### Principal Component Analysis (PCA)

PCA was performed to evaluate the relationships between factors (ascorbate addition and black pepper level) and volatile compounds. The eigenvalues, variances and their cumulative proportions are shown in Table 3. The eigenvectors of the first three principal components (PC) are given in Table 4. The first three principal components (PC1, PC2 and PC3) were analyzed having eigenvalues greater than 1.0; explaining 78.40, 17.90 and 3.70% of the variance, respectively. The first two principal components explained 96.30% of the total variance (Table 3). It was found that D-limonene and caryophyllene were the most related variable for PC1; allyl mercaptane,  $\gamma$ -terpinene, D-limonene, hexane for PC2 (Table 4).

## Ascorbate and black pepper on the volatile profile of sucuk

Table 3. Eigenvalue scores, variances and their cumulative proportions of first three components

Principal component	Eigenvalue		Explained variance	
	For PC	Cumulative	For PC	Cumulative
PC1	119.00	119.00	78.40	78.40
PC2	27.23	146.23	17.90	96.30
PC3	5.57	151.80	3.70	100.00

Table 4. Eigenvectors of the variance–covariance matrix used for PCA

Variable	PC1	PC2	PC3
Pentanal	-0.004	0.014	0.023
Hexanal	-0.036	0.039	-0.003
Octanal	-0.025	0.011	0.129
Nonanal	-0.093	0.066	0.491
2-methyl-3-phenyl-propanal	-0.116	-0.020	0.159
Hexane	-0.087	0.406	-0.578
Undecane	-0.007	0.001	0.014
Dodecane	-0.004	0.003	-0.101
Tetradecane	-0.012	0.011	-0.093
Ethanol	0.018	0.033	-0.029
Styrene	0.004	0.002	0.003
1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-benzene	0.018	-0.067	0.010
Acetic acid	-0.018	0.092	0.233
Methyl acetate	-0.010	0.028	-0.008
Hexyl butyrate	-0.030	0.007	-0.058
Allyl mercaptan	-0.056	0.578	0.096
Allyl methyl sulfide	-0.044	0.157	-0.068
1-(methylthio) -1-propene	-0.004	0.016	0.030
Dimethyl disulfide	-0.015	0.028	0.002
3,3-thiobis-1-Propene	-0.042	0.116	-0.117
Methyl 2-propenyl-disulfide	-0.044	0.120	0.002
Methyl trans-propenyl-disulfide	-0.005	0.011	0.025
Di-2-propenyl-disulfide	-0.104	0.295	-0.029
$\alpha$ -thujene	0.079	0.042	0.080
$\alpha$ -pinene	0.138	0.006	0.005
Camphene	-0.003	-0.002	0.017
B-pinene	0.042	0.269	0.149
$\alpha$ -phellandrene	0.190	0.084	0.093
3-Carene	0.123	-0.060	-0.247
$\alpha$ -Terpinene	0.029	0.014	0.046
D-Limonene	0.551	0.302	-0.116
$\beta$ -phellandrene	0.100	0.064	0.057
Cis-ocimene	-0.006	0.020	0.058
$\gamma$ -Terpinene	-0.139	0.385	0.336
Terpinolene	0.010	0.012	0.016
Linalool	-0.048	0.052	-0.060
4-Terpinenol	0.025	0.032	-0.029
$\alpha$ -Terpineol	-0.015	-0.019	-0.020

Table 2. continue

Variable	PC1	PC2	PC3
Delta elemene	0.026	-0.016	-0.050
2-carene-10-al	-0.028	0.008	-0.040
$\alpha$ - cubebene	0.009	0.008	0.013
Copaene	0.129	0.015	0.060
Eugenol	0.009	-0.048	-0.062
Trans-caryophyllene	0.030	0.040	-0.017
$\alpha$ -Trans-bergamotene	0.082	-0.011	-0.012
Caryophyllene	0.709	-0.026	0.153
$\alpha$ caryophyllene	0.057	-0.016	0.006

PC1 was positively related with sucuk containing 15 g/kg black pepper and with ascorbate. In addition, PC1 was inversely related with the levels of 5 g/kg black pepper and 10 g/kg black pepper as well as without ascorbate (Fig. 1). At the same time, PC1 separated the groups with ascorbate and without ascorbate well. On the other hand,

sucuk samples with 5 g/kg black pepper, 15 g/kg black pepper and sucuk samples without ascorbate placed on positive side of PC2. PC2 showed that 10 g/kg black pepper correlated more strongly with ascorbate than other black pepper levels, and placed on negative side for PC2 (Fig. 1).

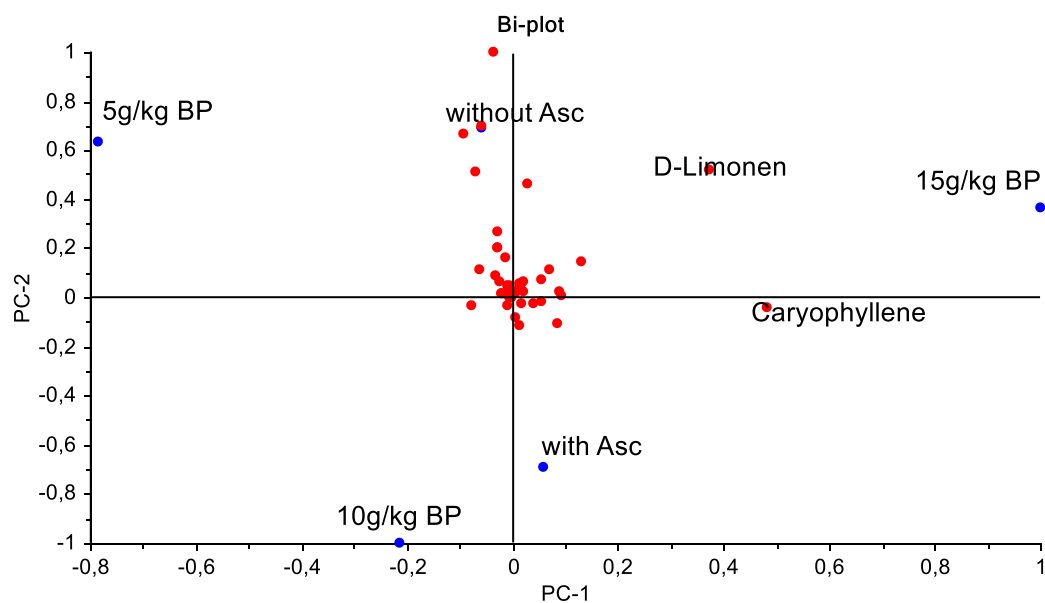


Figure 1: Principal component analysis biplot of the relationships between factors (sodium ascorbate addition and black pepper level) and volatile compounds

## CONCLUSION

It is a notable finding from the study that ascorbate has no effect on aldehydes, which are mainly formed by lipid oxidation. Increasing the level of black pepper also resulted a decrease in the abundance of sulfur compounds. While the black pepper levels reduced hexanal levels, which

is an indicator of lipid oxidation, it raised ethanol levels. Terpenes were the main group, in which black pepper is effective. An increase in the abundance of many terpene compounds has been observed with increasing black pepper level. The group with 15 g/kg black pepper placed on the positive side of PC1, while the groups with 5 and

10 g/kg black pepper placed on the negative side of PC1. The sucuk samples containing 15 g/kg black pepper had a high relationship with D-limonene and caryophyllene. In addition, some volatile compounds were affected by black pepper levels and showed different dimensions. Moreover, the use of ascorbate also affected the dimensions of some volatile compounds.

#### ACKNOWLEDGMENTS

The authors would also like to thank Atatürk University Eastern Anatolia High Technology Application and Research Center (DAYTAM) Directorate.

#### DECLARATION OF COMPETING INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

#### AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Selen SALLAN performed investigation, formal analysis and writing—original draft. Güzin KABAN did methodology, validation and writing. Mükerrerem KAYA was supervisor and administrated the project, performed writing – review & editing.

#### REFERENCES

Chi, S-P., Wu, Y-C. (2007). Spices and Seasonings, Editor: Fidel Toldra, *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, pp. 87-100, Blackwell Publishing, USA

Demirok Soncu, E., Özdemir, N., Arslan, B., Küçükkaya, S., Soyer, A. (2020). Contribution of surface application of chitosan–thyme and chitosan–rosemary essential oils to the volatile composition, microbial profile, and physicochemical and sensory quality of dry-fermented sausages during storage. *Meat Sci*, 166, 108127. doi:10.1016/j.meatsci.2020.108127

Ekici, L., Ozturk, I., Karaman, S., Caliskan, O., Tornuk, F., Sagdic, O., Yetim, H. (2015). Effects of black carrot concentrate on some physicochemical, textural, bioactive, aroma and sensory properties of sucuk, a traditional Turkish dry-fermented sausage. *LWT- Food Sci Technol*, 62(1), 2, 718726. doi:10.1016/j.lwt.2014.12.025

Flores, M. (2018). Understanding the implications of current health trends on the aroma of wet and dry cured meat products. *Meat Sci*, 144, 53-61. doi:10.1016/j.meatsci.2018.04.016

Huynh, D. B. T., Krickmeier, J., Schnaeckel, W. (2020). Effects of treatment temperatures on redox potential and sensory evaluation of different spices and herbs applied to cooked pork sausages. *J Sci Food Agr*, 100, 7, 2898–2904. doi:10.1002/jsfa.10316

Kaban, G. (2009). Changes in composition of volatile compounds and in microbiological and physicochemical parameters during pastırma processing. *Meat Sci*, 82, 1, 17-23. doi:10.1016/j.meatsci.2008.11.017

Kaban, G. (2010). Volatile compounds of traditional turkish dry fermented sausage (Sucuk). *Int J Food Prop*, 13, 3, 525–534. doi:10.1080/10942910802688184

Kaban, G., Kaya, M. (2009). Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosum* on the quality characteristics of dry fermented sausage “sucuk”. *J Food Sci*, 74(1), S58–S63. doi:10.1111/j.1750-3841.2008.01014.x

Kaya, M., Kaban, M. (2019). *Fermente et ürünleri. Gıda Biyoteknolojisi*. Editör Necla ARAN, ss. 157-195, 5. Basım, ISBN: 978-605-133-134-8, Nobel Yayıncılık, İstanbul.

Li, Y-X., Zhanga, C., Shenyan, P., Chena, L., Liua, M., Yanga, K., Zengc, X., Tiana, J. (2020). Analysis of chemical components and biological activities of essential oils from black and white pepper (*Piper nigrum* L.) in five provinces of southern China. *LWT, Food Sci Technol*, 117, 108644. doi:10.1016/j.lwt.2019.108644

Lilie, M., Hein, S., Wilhelm, P., Mueller, U. (2007). Decontamination of spices by combining mechanical and thermal effects – an alternative approach for quality retention. *Int J Food Sci Technol*, 42, 2, 190–193. Doi:10.1111/j.1365-2621.2006.01204.x

Mateo, J., Zumalacarregui, J.M. (1996). Volatile compounds in chorizo and their changes during ripening. *Meat Sci*, 44, 4, 255–273. doi:10.1016/S0309-1740(96)00028-9



- McGorrin, R. J. (2011). The significance of volatile sulfur compounds in food flavors. In: (M. Qian, X. Fan, K. Mahattanatawee (Eds), *Volatile sulfur compounds in food*, (pp.3-31). ACS Symposium Series 1068, ACS Books.
- Montel, M.C., Mason, F. Talon, R. (1998). Bacterial Role in Flavour Development. *Meat Sci*, 49 (1), 111-123. doi:10.1016/S0309-1740(98)90042-0
- Munekata, P. E. S., Rocchetti, G., Pateiro, M., Lucini, L., Dominguez, R., Lorenzo, J. M. (2020). Addition of plant extracts to meat and meat products to extend shelf-life and health-promoting attributes: an overview. *Curr Opin Food Sci*, 31:81–87. doi:10.1016/j.cofs.2020.03.003
- Ordóñez, J. A., Hierro, E. M., Bruna, J. M., de la Hoz, L. (1999). Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 39, 4, 329-367. doi:10.1080/10408699991279204
- Ramirez, R., Cava, R. (2007). Volatile Profiles of Dry-Cured Meat Products From Three Different Iberian x duroc Genotypes. *J Agric Food Chem*, 55: 1923-1931. doi:10.1021/jf062810l
- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Andres, A., Garcia, C. (1999). Volatile Compounds of Dry-Cured Iberian Ham as Affected by the Length of the Curing Process. *Meat Sci*, 52, 1, 19- 27. doi:10.1016/S0309-1740(98)00144-2
- Sallan, S., Kaban, G., Kaya, M. (2019). Nitrosamines in Sucuk: Effects of black pepper, sodium ascorbate and cooking level. *Food Chem*, 288,341–346. doi:10.1016/j.foodchem.2019.02.129
- Sallan, S., Kaban, G., Kaya, M. (2022). The effects of nitrite, sodium ascorbate and starter culture on volatile compounds of a semi-dry fermented sausage. *LWT, Food Sci Technol*, 153, 112540.
- Sidira, M., Kandylis, P., Kanellaki, M., Kourkoutas, Y. (2015). Effect of immobilized *Lactobacillus casei* on volatile compounds of heat treated probiotic dry-fermented sausages. *Food Chem*, 178, 201-207. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.01.068
- Srinivasan, K. (2007). Black Pepper and its Pungent Principle-Piperine: A Review of Diverse Physiological Effects. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 47, 735–748. doi:10.1080/10408390601062054
- Stahnke, L. H. (1999). Volatiles produced by *Staphylococcus xylosum* and *Staphylococcus carnosus* during growth in sausage minces Part II. The influence of growth parameters. *LWT-Food Sci and Technol*, 32, 365-371. doi:10.1006/fstl.1999.0559
- Toldra, F. (1998). Proteolysis and Lipolysis in Flavour Development of Dry-cured Meat Products. *Meat Sci*, 49, 1, S101-S110. doi:10.1016/S0309-1740(98)90041-9
- Vignolo, G., Fontana, C., Fadda, S. (2010). Semidry and Dry Fermented Sausages, Handbook of Meat Processing, Editor: Fidel Toldra, Online ISBN: 9780813820897
- Xiao, Y., Liu, Y., Chen, C., Xie, T., Li, P. (2020). Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosum* on flavour development and bacterial communities in Chinese dry fermented sausages. *Food Res Int*, 135, 109247. doi:10.1016/j.foodres.2020.109247
- Yalınkılıç, B., Kaban, G., Ertekin, Ö., Kaya, M. (2015). Determination of volatile compounds of sucuk with different orange fiber and fat levels. *Kafkas Univ Vet Fak Dergisi*, 21(2), 233-239. doi:10.9775/kvfd.2014.12197
- Zarai, Z., Boujelbene, E., Salem, N. B., Gargouri, Y., Sayari, A. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*. *LWT-Food Sci Technol*, 50, 2, 634–641. doi:10.1016/j.lwt.2012.07.036
- Zhang, C. Zhao, J., Famous, E., Pan, S., Peng, X., Tian, J. (2021). Antioxidant, hepatoprotective and antifungal activities of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. *Food Chem*, 346, 128845. doi:10.1016/j.foodchem.2020.128845



## INVESTIGATION OF SEVERAL FACTORS ON ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SUGAR BEET PULP AND CORN COB: STATISTICAL ANALYSES OF THE EXPERIMENTAL RESULTS

Berna Leyluhan Yurtseven<sup>1</sup>, Sevil Çıkrıkçı Erünsal<sup>2</sup>, Mecit Halil Öztıp<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biotechnology, Middle East Technical University, Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Department of Food Engineering, Konya Food and Agriculture University, Konya, Turkey

<sup>3</sup>Department of Food Engineering, Middle East Technical University, Ankara, Turkey

Received / Geliş: 05.06.2021; Accepted / Kabul: 30.09.2021; Published online / Online baskı: 02.11.2021

Leyluhan-Yurtseven, B., Çıkrıkçı-Eriünsal, S., Öztıp, M.H. (2021). Investigation of several factors on enzymatic hydrolysis of sugar beet pulp and corn cob: Statistical analyses of the experimental results. *GIDA* (2021) 46 (6) 1369-1385 doi: 10.15237/gida.GD21104.

Leyluhan-Yurtseven, B., Çıkrıkçı-Eriünsal, S., Öztıp, M.H. (2021). Şeker pancarı küspesi ve mısır koçanının enzimatik hidrolizinde farklı faktörlerin etkisinin incelenmesi: Deneysel sonuçlarının istatistiksel analizleri. *GIDA* (2021) 46 (6) 1369-1385 doi: 10.15237/gida.GD21104.

### ABSTRACT

In this work, sugar beet pulp (SBP) as a lignin poor biomass and corn cob (CC) as a lignin rich biomass were subjected to enzymatic hydrolysis to see the effects of various variables on reducing sugar yield. In SBP hydrolysis, response surface methodology (RSM) and ANOVA were used to fit sugar yield and to determine significance of the parameters (substrate, pectinase, cellulase and hydrolysis time). The proposed quadratic model gave an adequate approximation indicating the significance of all main effects and some of the interaction effects ( $p < 0.05$ ). The maximum yields within the design space were found approximately as 87 g/L after 18 h of hydrolysis, using 300 µl Cellic Ctec3 and 300 µl Pectinex Ultra SP-L at %20 substrate loading. In CC hydrolysis, the use of nonionic surfactants (Tween 20 and Tween 80) under unpretreated conditions did not necessarily increase the yield of reducing sugar from untreated CC.

**Keywords:** Enzymatic hydrolysis, sugar beet, corn cob, statistical modeling, sugar yield

### ŞEKER PANCARI KÜSPESİ VE MISIR KOÇANININ ENZİMATİK HİDROLİZİNDE FARKLI FAKTÖRLERİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ: DENEY SONUÇLARININ İSTATİSTİKSEL ANALİZLERİ

### ÖZ

Bu çalışmada, lignince düşük bir biyokütle olarak şeker pancarı küspesinin (SBP) ve lignince yüksek bir biyokütle olarak mısır koçanının (CC) enzimatik hidrolizinden elde edilecek indirgen şeker veriminde, çeşitli değişkenlerin göstereceği etkiler araştırılmıştır. SBP hidrolizinde, çeşitli parametrelerin (substrat, pektinaz, selüloz ve hidroliz süresi) şeker verimi modeline önemini belirlemek için tepki yüzeyi metodolojisi (RSM) ve ANOVA kullanılmıştır. Önerilen ikinci dereceden model, tüm ana etkilerin ve bazı etkileşim etkilerinin önemini gösteren yeterli bir yaklaşıklık vermiştir ( $P < 0.05$ ). Tasarım alanı içindeki maksimum verimler, %20 substrat yüklemesinde 300 µl Cellic Ctec3

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: mecit@metu.edu.tr

☎: (+90) 312 210 5634

☎: (+90) 312 210 2767

Berna Leyluhan Yurtseven; ORCID no: 0000-0003-1842-3151

Sevil Çıkrıkçı Erünsal; ORCID no: 0000-0002-0459-4657

Mecit Halil Öztıp; ORCID no: 0000-0001-6414-8942

ve 300 µl Pectinex Ultra SP-L enzimleri kullanılarak 18 saatlik hidrolizden sonra yaklaşık 87 g/L olarak bulunmuştur. Ön işleme tabi tutulmamış CC hidrolizinde ise, iyonik olmayan surfaktanların (Tween 20 ve Tween 80) indirgeyici şeker verimine fark yaratacak şekilde bir artırma etkisi görülmemiştir.

**Anahtar kelimeler:** Enzimatik hidroliz, şeker pancarı, mısır koçanı, istatistiksel model, şeker verimi

## GİRİŞ

Over the last decades, there has been an increasing demand to biofuels produced from lignocellulosic biomass because they act as ecofriendly, renewable and sustainable alternatives to fossil fuels (Sharma et al., 2019). Conversion of lignocellulosic biomass into such kind of valuable products such as bioethanol plays a significant role in reducing cost of energy as well as in decreasing the bad effects of fossil fuels on natural environment. Although it differs according to types of biomass, lignocellulosic biomass is mainly composed of cellulose, hemicellulose and lignin (Adaganti et al., 2014). The production of ethanol from lignocellulosic biomass involves several steps: pretreatment, acid or enzymatic hydrolysis, fermentation of monomeric sugars obtained from the enzymatic treatment of cellulosic and hemicellulosic polymeric chains and finally the separation step (Adaganti et al., 2014). Especially, lignin covers the cellulose / hemicellulose and prevents enzymes to access them for the biochemical conversion. Thus, pretreatment methods could be required as the first step to break down the lignin structure and disrupt the crystalline structure of cellulose for enhancing enzymes accessibility to the cellulose (Zhang, 2008; Manisha and Yadav, 2017).

Sugar beet pulp (SBP) is one of the lignocellulosic biomasses that is an appropriate substrate for enzymatic hydrolysis to obtain reducing sugar which can be used for fermentation purposes afterwards. It is obtained as a by-product during beet processing in sugar factories (Cieciura-Włoch et al., 2020). Its major constituents are composed of 30 wt.% hemicelluloses, 22–24 wt.% cellulose, and 15–25 wt.% pectin, around 5.9 wt.% lignin with small amounts of fat, protein and ash (Berlowska et al., 2018). Since SBP could be classified as a lignin poor biomass, any pretreatment to SBP is not needed prior to enzymatic hydrolysis. The studies are carried on

keeping maximum polysaccharide fraction within the lignocellulosic biomass to obtain higher amount of total sugars (Van Dyk and Pletschke, 2012). Type and amount of hydrolytic enzymes (cellulases, hemicellulases, pectinases, ligninases, etc.), biological pretreatments methods, type of lignocellulosic feedstock, amount of substrate could be given among the factors affecting reducing sugar yields from such biomass (Paulova et al., 2015; Sharma et al., 2019). There are various studies related to use of commercial cellulases, pectinases and their combinations in different concentrations for beet fermentation (Nahar and Pryor, 2012, 2013; Ziemiński and Kowalska-Wentel, 2015; Berlowska et al., 2018) and other pretreatment strategies for high efficiency with low cost (Arenas-Cárdenas et al., 2017; Li et al., 2018; Arumugam et al., 2020). But still, our knowledge is limited regarding the complete use of hydrolases and hereby, appropriate enzyme combinations to maximize the saccharification has not been achieved, yet. At this point, Response surface methodology (RSM) could be proposed as a statistical approach for design of experiments, model building, evaluation of factor effects, optimization of responses and for the reduction of the required number of experiments (Yücel and Göycincik, 2015; Astray et al., 2016).

Corn cob (CC) is another lignocellulosic biomass and it could be considered as a lignin rich biomass due to its high lignin content. Average composition of dried corn cob consists of 36.3 - 41.3 % cellulose, 39.2 - 49.6 % hemicellulose, 9.6 - 14.2 % lignin and others (Pointner et al., 2014), hence pretreatment plays an important role on the reducing sugar yield from CC. It was shown in the past researches that surfactants caused to decrease the adsorption of enzymes to cellulose, to increase the available surface area of cellulose or to remove the lignin part during the hydrolysis. While non-ionic surfactants (Tween 80 and Tween 20) caused an increase in reducing sugar concentration during the hydrolysis of steam-

exploded wood, the effect of anionic surfactants on hydrolysis rate was not as high as non-ionic ones, and cationic surfactant had no effect on the hydrolysis rate (Helle et al., 1993). According to the findings of Qing et al. (Qing et al., 2010), when Tween 80 was added before the pretreatment of corn stover, it was observed that pretreatment efficiency increased; lignin removal became higher, as the time was prolonged. However, there is a lack of studies to investigate the surfactant effect on hydrolysis rate of biomass without pretreatment.

The first objective of this study was to examine the effects of different factors (substrate loading, pectinase and cellulase loading, hydrolysis time) on the optimization of SBP hydrolysis for high sugar yield. Secondly, it was aimed to analyze enzymatic hydrolysis of CC by using different nonionic surfactants (Tween 20 and Tween 80) without need for any pretreatment method and to see their effects on the sugar yields. For these purposes, response surface methodology (RSM) as statistical analysis was evaluated in the first part of the study to optimize parameters of SBP hydrolysis. In the second part of the work, “t” test was conducted to verify the statistical significance of the mean differences between the control group and samples in which surfactants were used.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

SBP having a composition of 20-24 % cellulose, 26-36 % hemicellulose, 20-25 % pectin and 1-2 % lignin was obtained from Kayseri Sugar Plant in Kayseri, Turkey. Prior to experiments, fresh SBP was dried at 105 °C and milled (Kitchen type food processor) to 10 µm-2mm particle size to reduce crystallinity of lignocellulosic biomass. CC having a composition of 44.4 % hemicellulose, 38.8 % cellulose and 11.9 % lignin were obtained from local markets in Ankara, Turkey, dried at 100 °C and ground to particle sizes between 10 µm and 2 mm using a laboratory type mill (Laboratory Mill, Philadelphia, USA). Surfactants Tween 20 and Tween 80 were purchased from Merck (Germany).

Tri-sodium citrate dihydrate and citric acid monohydrate were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). 3-5 Dinitrosalicylic acid, sodium sulfate and phenol were obtained from Sigma-Aldrich (St. Lois, MO, USA). Enzymes Pectinex Ultra SP-L (pectinase obtained from *Aspergillus aculeatus*) and Cellic Ctec3 (cellulase and hemicellulase complex) for SBP hydrolysis and Celluclast 1.5L and Novozyme 188 for CC hydrolysis were kindly provided by Novozymes (Bagsvaerd, Denmark). Pectinex activity is defined as 3,800 units/ml in its specification sheet (Sigma Aldrich, USA). Activity of Novozyme 188, Celluclast 1.5 L were found as 450 CBU/ml and 82 FPU/ml, respectively using the method stated by (Ghose, 1987). They were stored at 4°C when not in use. Activity of the enzymes were confirmed by AVICEL hydrolysis before each hydrolysis set.

### Enzymatic Hydrolysis

#### *Enzymatic Hydrolysis of SBP*

No pretreatment was applied prior to enzymatic hydrolysis due to the low lignin content of SBP. Before enzymatic hydrolysis, reducing sugar content of the SBP was found to be around 1.2 g/L. In design of the experiment, four parameters; substrate loading, two different enzyme loadings and time were determined as independent variables. Regarding to preliminary trials and optimum working conditions, the feasible substrate content for an appropriate experimental setup was chosen as 4, 8, 12, 16 and 20 % solid/liquid ratio on dry basis. Considering previous studies and production cost, the selected enzymes, Pectinex Ultra SP-L and Cellic Ctec3 were combined at varying volumes of 100, 200, 300, 400 and 500 µl. Moreover, considering feasible hydrolysis rate and process conditions, hydrolysis time was particularly chosen as 6, 12, 18, 24 and 30 h.

Enzymatic hydrolysis was conducted in a shaking incubator (Daihan Instruments, Germany) at 50 °C, 150 rpm for 6 to 30 h using 0.05 M sodium citrate buffer solution at pH 4.8. Samples were immersed into boiling water for 5 minutes to terminate the hydrolysis. Following this, samples were centrifuged at 13,000 rpm for 3 minutes. Following the centrifugation, DNS method

(Miller, 1959) was used to determine the reducing sugar content of the supernatant of the samples. Enzymatic hydrolysis was conducted in triplicates.

### **Enzymatic Hydrolysis of CC**

Due to its high lignin content, CC needs pretreatment to obtain high yields of reducing sugar. In this study, costly pretreatment methods were not applied, instead, Tween 20 and Tween 80 were used to see the effect of surfactants when pretreatment step was eliminated. In order to see the effects of surfactants on the structure of cellulose, *Avicel – pure cellulose* - was used and selected as a control sample. Preliminary experiments were conducted both by simultaneous addition of surfactant and enzyme to the mixture and by sequential addition of surfactant and enzyme. Sequential addition comprised stirring of the solution for 24 hours at 450 rpm before incubation. Working conditions of the shaking incubator were set at 50°C, 150 rpm and hydrolysis lasted for 24 hours. Similar to the previous part, 0.05 M sodium citrate buffer solution with a pH of 4.8 was used. Celluclast 1.5L (cellulase enzyme) and Novozyme 188 (mainly composed of cellobiase) were the enzymes used. The volume of each enzyme was kept constant as 150 µl, since this was the optimum volume found in the study of Pocañ et al. (2018) for the same substrate and the enzymes. Four different samples were prepared as follows: a mixture of 40% CC & 60 % *Avicel*, a mixture of 20% CC & 80% *Avicel*, only *Avicel* sample and only CC sample. Enzyme volumes of 75 µl and 300 µl for each enzyme were tested. Experiments were conducted with the surfactant volumes of 135 µl, 250 µl, 400 µl, 500 µl, 600 µl, 1000 µl, 3000 µl and 5000 µl. After 24 h of hydrolysis time, samples were immersed in boiling water for 5 minutes to terminate the hydrolysis process. Finally, samples were centrifuged at 13,000 rpm for 3 minutes. And then reducing sugar content of the supernatant samples were determined by DNS method. The experiments were conducted in triplicates.

### **Determination of Reducing Sugar Content**

The DNS method was applied to determine reducing sugar content of the samples as given in

the study of Miller (Miller, 1959). D - glucose was used as a standard for the DNS analysis. Before the addition of the DNS reagent, supernatant part of the medium from the enzymatic hydrolysis was diluted with distilled water. Ratio of the DNS agent was set as 1:1.5 on a volume basis. After the addition of the DNS reagent, obtained solution was maintained in a 100°C water bath for 5 minutes; then the color change in the solution was observed. A Hitachi U-1800 Optizen Pop Nano Bio spectrophotometer was used to measure absorbance of the samples at 540 nm. Calibration curves were prepared to calculate the concentrations of reducing sugar in the samples.

### **Experimental Design and Analysis**

#### **Response Surface Methodology (RSM) Analysis for Enzymatic Hydrolysis of SBP**

Screening design was firstly carried out to determine which of the several experimental variables and their interactions presented more significant effects. Since it is economical and effective, full fractional two-level factorial design was preferred for screening analysis at first. Then, fold – over mirror image of the original design was also used for screening analysis. Independent variables were selected as % substrate (w/v) ( $X_1$ ), amount of Pectinex Ultra SP-L (µl) ( $X_2$ ), amount of Cellic Ctec3 (µl) ( $X_3$ ) and hydrolysis time (hours) ( $X_4$ ). Response (Y) was determined as the difference between the initial and final amount (g/L) of reducing sugar in SBP. The results of fractional factorial design pointed out that the main effects were significant on sugar yield response. Hereby, as a further study, a response surface model (RSM) was built up with a second-order (quadratic) model, with a 5-point central composite design (CCD). This enabled to study the effects the aforementioned factors.

By using RSM, the experimental responses were analyzed with the following second-order polynomial, Eq. (1):

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

where Y was the response (reducing sugars yield, g L<sup>-1</sup>),  $X_i$  and  $X_j$  were the coded independent variables.  $\beta_0$ ,  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$  and  $\beta_{ij}$  represented intercept,

linear, quadratic and interaction constant coefficients, respectively. The contour plots were constructed using the fitted quadratic polynomial equations obtained from regression analysis.

The four factors were analyzed at 5 levels as given in Table 1a. CCD having 30 experimental runs with different combination of factors was developed using Minitab (ver.16.2.0.0, Minitab Inc., United Kingdom) in order to study the main effects and interactions. In order to provide uniform variance at any given radius from the center of the design mainly, rotatability and

orthogonality, the axial distance,  $\alpha$ , was chosen to be 2. The number of cube points, axial points, and center points in the design are 16, 8 and 6, respectively. To make each run in the design independent of each other, randomization tool of the software was used. The assigned run order was considered during the experiments. Finally, a half-factorial  $2^4$  design using 5 point central composite design (CCD) leading to 3 sets of experiments was used to determine the most significant factors influencing reducing sugar yield of SBP.

Table 1a The coded and actual values of the levels of the independent factors

Independent variables	Symbols	Coded levels				
		-2	-1	0	1	2
		Actual levels				
Substrate loading (w/v %)	X <sub>1</sub>	4	8	12	16	20
Pectinex Ultra SP-L (µl)	X <sub>2</sub>	100	200	300	400	500
Cellic Ctec3 (µl)	X <sub>3</sub>	100	200	300	400	500
Hydrolysis time (h)	X <sub>4</sub>	6	12	18	24	30
Dependent variables						
Sugar yield (g/L)	Y					

For the SBP data, classification and regression tree (CART) method, which is one of the important techniques of data mining was also used. A regression tree model was formed to investigate the effects of substrate content, enzyme amount and hydrolysis time on the reducing sugar amount of sugar beet pulp. 'rpart', a recursive partitioning tool developed by Therneau and Atkinson (2000) for R! statistical package, was used for the classification tree analysis. Moreover, reduced sugar amount was divided into quartiles and a classification tree model was estimated to predict the quartile class based on independent variables described above.

**Statistical Analysis**

Statistical analysis was evaluated in the first part of the study to optimize parameters of SBP hydrolysis. Analysis of variance (ANOVA) was

conducted by using Minitab (ver.16.2.0.0, Minitab Inc., United Kingdom) in order to evaluate statistical significance of the models obtained by RSM and parameters in them. The results reported were the averages of three replicates. In RSM model, the second-order regression coefficients and equations were determined from the analysis of response surface design by using Minitab. According to the results of ANOVA and lack of fit test, only the factors affecting responses significantly were selected. No lack of fit was detected in the model for SBP hydrolysis. For statistical analysis of *Avicel* and CC hydrolysis, student 't' test was conducted to verify the statistical significance of the mean differences between the control group and samples in which surfactants were used.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Determination of independent factors affecting the enzymatic hydrolysis of SBP

The effect of process variables such as temperature, pH, enzyme type, reaction time, etc. on the product yield for biofuel production is a major issue to investigate. Substrate loading and reaction time are among the important factors that have the potential to maximize the reducing sugars but need to be optimized. Donkoh et al. (2012) obtained that pretreated SBP - with dilute sulfuric acid - loadings ranging from 0.66% and 2.34% did not have any significant effect on hydrolysis yield. However, SBP solid loadings, ranging from 2% to 10%, led to the increase in the concentration of reducing sugars as expected. In another study, hydrolysis yield decreased from 45% (at a solid loading of 2%) to 41.5% (at a solid loading of 10%) after 72 hours of incubation (Zheng et al., 2012). The work conducted by Nahar et al. (2014) also revealed that SBP solid loadings from 10% to 16% increased the hydrolysate sugar concentrations, on the other hand, yields decreased at solid loadings above 10%. To obtain high fermentable sugars, it is obvious that high solid loadings are necessary, whereas high solid content may adversely affect the process; mainly end-product inhibition in addition to mixing (Zheng et al., 2012). In that regard, five different substrate amounts (from 4 g/L to 20 g/L) were determined to see the optimum range in this study. In the conversion of biomass to biofuels, the process time is another key factor influencing yield and chemical structure of the product (Siddiqui et al., 2019). Experimental researches show that it changes according to time of pretreated and untreated biomass. Adaganti et al. (2014) found an increase in glucose yield for untreated biomass up to 50 h of hydrolysis time but then a stabilization was observed at 70 h of hydrolysis. On the other hand, the yield showed an increasing trend for pretreated samples even after 50 h. Pryor and Nahar (2015), Pocaň et al. (2018) stated that 24 h of hydrolysis time was more representative time for hydrolysis rate and the need for high reactor productivity would discourage longer reaction times. In the light of all findings, hydrolysis time

to be used in optimization was selected from 6 h to 30 h in SBP hydrolysis.

It was found that both cellulases and pectinases were important enzymes for the hydrolysis of sugar beet pulp. Although  $\beta$ -glucosidase can be used additionally, it was shown that hemicellulase was not needed to improve the effectiveness of hydrolysis (Zheng et al., 2012). The required enzyme dosage and synergistic effect between enzymes are valuable parameters in terms of process efficiency and economy. Arabinose, galacturonic acid, and galactose are the sugars obtained after the hemicellulose and pectin hydrolysis. In addition, glucose is produced at the end of cellulose hydrolysis. Kinnarinen and Häkkinen (2014) reported that doubling enzyme dosage did not lead to duplication of glucose concentration. Multiple interactions occur between enzymes on complex substrates and this still requires investigation (Van Dyk and Pletschke, 2012). As a result, pectinase and cellulase as individual and mutual usage were studied in this design at five levels (from 100  $\mu$ l to 500  $\mu$ l).

### Fitting of The Models and The Results of Experimental Plans in Enzymatic Hydrolysis of SBP

CCD model was mainly performed to optimize the enzymatic hydrolysis factors. As given in Eq. (1), the second order polynomial equations were used to fit the responses after realizing that a first-order approximation was not capable to express the relation (explained in the method section). A full quadratic model, i.e. a model consisting of first and second order polynomials of the predictors in addition to their interaction terms, was estimated.

To include unobserved variance into the model, five blocks were used in which each block represented a different day of the experiment.

To check whether models were adequate to fit, necessary assumptions were checked at each step. The residuals were assumed to be normally distributed with a constant variance and so normal probability curves of standardized

residuals were drawn. An iterative approach was adopted to confirm normality. Observations with absolute standardized residual greater than 2 were removed from the data set and the full quadratic model was estimated again. This process was

continued until the residuals were normally distributed with constant variance. Final experimental setup and responses were assigned based on CCD for the Response Surface Methodology (RSM) analysis (Supp. A.1).

Table 1b Response surface model estimation results

Variable	Coefficient $\beta_i$ or $\beta_{ij}$	Standard Error	t	p
Constant, $\beta_0$	66.329	0.619	107.027	0.000
$X_1$	16.026	0.341	47.047	0.000
$X_2$	1.843	0.347	5.309	0.000
$X_3$	1.369	0.354	3.866	0.001
$X_4$	4.945	0.357	13.837	0.000
$X_1 * X_1$	-1.658	0.383	-4.335	0.000
$X_3 * X_3$	-1.047	0.383	-2.737	0.013
$X_1 * X_2$	0.869	0.384	2.265	0.035
$X_1 * X_3$	2.317	0.406	5.709	0.000
$X_1 * X_4$	1.475	0.432	3.416	0.003
$X_2 * X_3$	2.201	0.396	5.309	0.000
$X_2 * X_4$	1.063	0.443	2.400	0.026
$X_3 * X_4$	-1.512	0.443	-3.411	0.003
$R^2$	99.41%			
Adjusted $R^2$ ( $R^2_{adj}$ )	98.95%			

Following this step, statistical significance of the regression coefficients was scrutinized. Similar to the previous phase, predictors with the lowest absolute  $t$  statistics were discarded from the model one by one. The results based on analysis of variance (ANOVA) for the reduced quadratic model were displayed in Table 1b with adjusted coefficient of determination ( $R^2_{adj}$ ). All factors presented in the model were significant ( $p < 0.05$ ) among which interaction of factors marked as  $X_1 * X_2$  had the highest  $p$  value and thus the lowest impact on the response variable (yield).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{34} X_3 X_4 \quad (2)$$

$$Y = 66.329 + 16.026X_1 + 1.843X_2 + 1.369X_3 + 4.945X_4 - 1.658X_1^2 - 1.047X_3^2 + 0.869X_1X_2 + 2.317X_1X_3 + 1.475X_1X_4 + 2.201X_2X_3 + 1.063X_2X_4 - 1.512X_3X_4 \quad (3)$$

It can be seen from the model equation (3) that sugar yield changed with substrate loading, enzyme loading and hydrolysis time, significantly ( $p < 0.05$ ). As expected, increasing enzyme concentration with more concentrated substrate over a longer period increased the yield. On the other hand, second order effect coefficients for substrate amount ( $X_1^2$ ) and for Ctec 3 ( $X_3^2$ ) content were negative, suggesting optimal operation points might have existed for these variables. Moreover, the interaction term between



Ctec 3 and time also had a negative coefficient. Therefore, it was hypothesized that the optimal values of the substrate amount, Ctec3 concentration and hydrolysis time could be found to optimize the process yield. The interaction term for Ctec3 and Pectinex Ultra SP-L had a positive coefficient, indicating that these enzymes

displayed a synergetic response. Analysis of variance for the final model was given in Supp. A.2. Findings of Nahar and Pryor (Nahar and Pryor, 2013) were consistent with our results by giving positive interaction between cellulase and pectinase addition in statistical model for ethanol production from sugar beets.

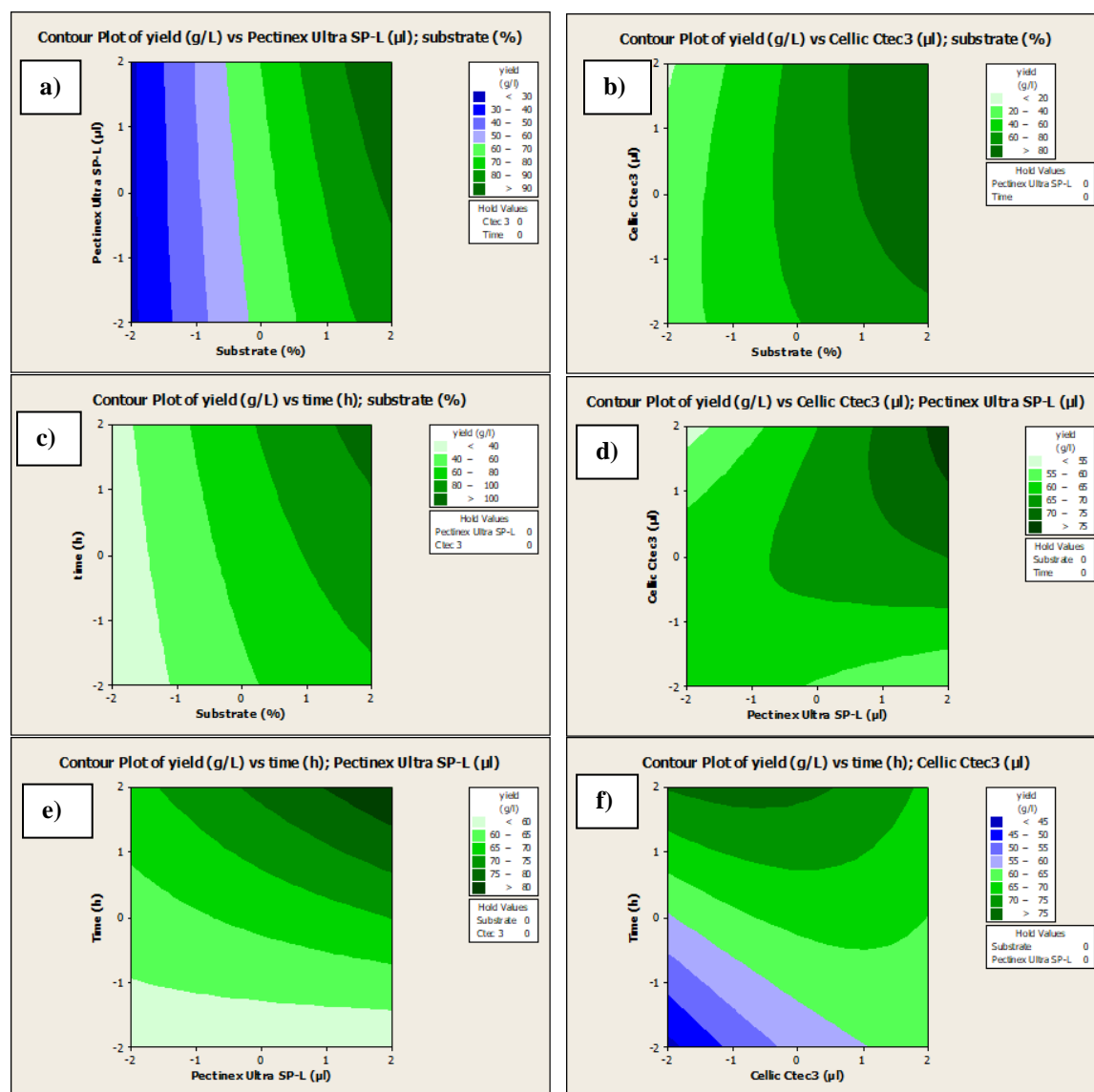


Fig. 1 Contour plot of a) yield vs Pectinex Ultra SP-L; substrate b) yield vs Cellic Ctec3; substrate c) yield vs time, substrate d) yield vs Cellic Ctec3, Pectinex Ultra SP-L e) yield vs time, Pectinex Ultra SP-L f) yield vs time, Cellic Ctec3.

In order to better understand the relationship between the sugar yield and the independent variables, contour plots of predictor variable

couples were formed in Figs. 1a-f. In overall, yield increased with higher amounts of substrate and enzyme concentration. Negative second order

regression coefficient (antagonistic effect) for substrate amount suggested that yield should decline after a certain point, i.e. an optimal substrate amount should exist. However, estimation results also indicated that such an optimal substrate amount was well beyond the experimental range used in this study. Moreover, feasibility of the optimality of a higher substrate amount was equivocal. Difficulties were encountered during the trials while taking 1 ml of supernatant from the samples containing 20% substrate in order to conduct DNS assay. Therefore, it was almost impossible to find any supernatant in the sample above this percentage of substrate.

The plot corresponding to reducing sugars yield versus solids load and Pectinex Ultra SP-L concentration were shown in Fig. 1a. Pectinex Ultra SP-L was used to degrade pectin which is a complex organic polymer found in lignocellulosic biomass. It was seen from Fig. 1a that as the percent of substrate and enzyme volume increased, yield increased. When 20% substrate was used, as the volume of Pectinex Ultra SP-L was increased above 250  $\mu$ l, the yield reached its maximum - above 90 g/L. It was inferred that the variation in substrate was relatively important than the variation in amount of Pectinex Ultra SP-L, since former affected the yield more. In addition, yield was almost constant at constant substrates as increasing enzyme volumes. As another finding given in Fig. 1b, the yield reached its maximum as the percent of substrate increased, even while using lower volumes of Cellic Ctec3 -around 150  $\mu$ l. When Fig. 1b was compared with Fig. 1a, it could be referred that the lower substrate loading and Cellic Ctec3 volume led to slightly higher yields in Fig. 1b than the other. This result was expected since cellulose content was higher in SBP with respect to pectin.

Fig. 1c illustrated the contour plot of the interactive effects between substrate load and reaction time for the yield response. The amount of reducing sugar (g / L) increased with both higher substrate amount and longer reaction time as expected. During the hydrolysis of sugar beet pulp, it was shown in the previous studies that

50% of hydrolysate was composed of galacturonic acid and arabinose after 48 h of incubation period. Sampling was done at the end of 12 h and 24 h incubation and it was observed that 50% and 80% of these monomers have been released at the end of 12 h and 24 h, respectively (Leijdekkers et al., 2013). Another study indicated that 53% arabinose, 57% galactose and 44% rhamnose were released after 8 h of hydrolysis of SBP which were half of the monomers observed 48 h after hydrolysis (Micard et al., 1996).

Analysis results showed that combining Pectinex Ultra SP-L with Cellic Ctec3 created a synergetic response similar to previous studies (Pocan et al., 2018). In the same study (Pocan et al., 2018), total reducing sugar in orange peel hydrolysis did not vary significantly with increase of pectinase loading as cellulase kept constant at 56 FPU/g. However, the increase of cellulase from 56 to 112 FPU/g created significant change in glucose conversion. They also observed in pomegranate peels that if 67 IU/g pectinase was used with other enzyme loading of cellulase, the glucose concentration significantly changed in every significant change. These results also pointed out that the efficiency of enzyme combination could differ regarding to certain amount of enzyme and substrate type (with different cellulose and pectin content). In our study, as presented in Fig. 1d, [1,1] combination (i.e. 400  $\mu$ l Pectinex Ultra SP-L and 400  $\mu$ l Ctec 3) gave a higher yield than [2,0] or [0,2] combinations. Similarly [0,0] combination produced a higher yield than [1, -1], [-1,1], [2, -2] and [-2,2] combinations. As shown in Fig. 1e, obtained findings for the interaction of Pectinex Ultra SP-L and time were conformed with the expected outcome. Time had more effect on the extent of saccharification.

Negative interaction between reaction time and Cellic Ctec3 content was finally presented in Fig. 1f. At longer hours, inhibition was observed at higher volumes of Cellic Ctec3. It could be expected because cellobiose or glucose formation could slow down the rate of hydrolysis by end-product inhibition. At higher substrate loadings, end-product inhibition can similarly be observed,

so it was also estimated that yield would drop beyond the experimental range.

**Classification and Regression Tree Analysis in Enzymatic Hydrolysis of SBP**

Regression tree, which was used to model the effects of substrate content, enzyme amount and hydrolysis time on the reducing sugar amount of SBP was shown in Fig. 2. Regression trees are used in graphically displaying the relationship

between the dependent and independent variables. A heat-map format was evaluated to construct the regression tree, in which red represented the lower values of yield whereas higher values were designated with green. The resulting decision tree displayed the interaction of substrate amount and reaction time and the two different types of enzymes used in the experiments.

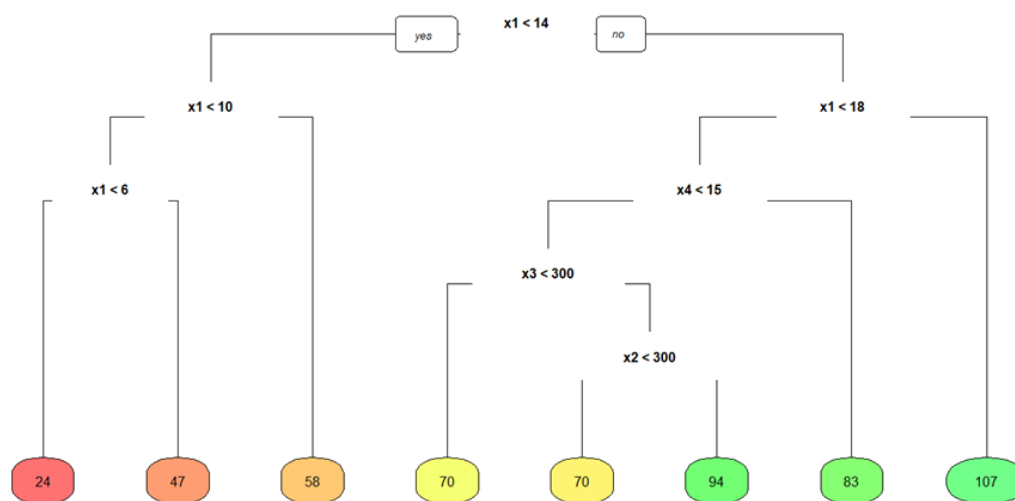


Fig. 2. Regression tree model for reducing sugar yield

Table 2a Rules derived from the regression tree

Rule	Reducing Sugar Yield
%substrate is smaller than 6%	24 g/L
% substrate is between 6% and 10%	47 g/L
% substrate is between 10% and 14%	58 g/L
% substrate is between 14% and 18% and reaction time is smaller than 15 hours and Cellic CTec3 is larger than 300 µl and Pectinex Ultra SP-L is smaller than 300 µl	70 g/L
% substrate is between 14% and 18% and reaction time is smaller than 15 hours and Cellic CTec3 is smaller than 300 µl	70 g/L
% substrate is between 14% and 18% and reaction time is larger than 15 hours	83 g/L
% substrate is between 14% and 18% and reaction time is smaller than 15 hours and Cellic CTec3 is larger than 300 µl and Pectinex Ultra SP-L is larger than 300 µl	94 g/L
%substrate is greater than 18%	107 g/L

Regression trees can be used to deduce rules from the resulting decision tree. In this sense, rules regarding the reduced sugar yield were summarized in Table 2a. On the other hand, classification tree, formed to predict the quartiles

of reducing sugar yield, was also presented in Fig. 3. Substrate amount and reaction time dominated the classification results, hence obtained results confirmed the findings from other models.

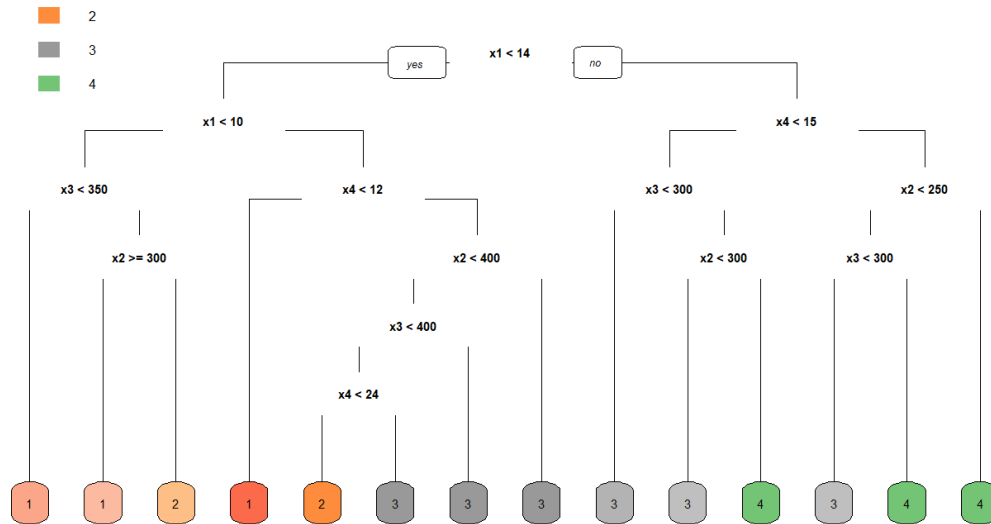


Fig. 3. Classification tree for reducing sugar yield quartiles

Quartile predictions from the classification tree were listed in Table 2b. The diagonal in Table 2b showed the correct predictions by the classification tree. The classification tree model had an accuracy of 80%, which indicated that 44 of the 55 cases were correctly classified. Based on all obtained results and models, it appeared that

our reducing sugar yield was applicable and promising among the literature studies conducted to rapeseed straw (yield: 19 g/L) (Karagöz et al., 2012), palm spent tea waste (yield: 29 g/L) (Yücel and Göycüncük, 2015), reed (yield: 8 g/L) (Li et al., 2009) under varying pretreated conditions with varying enzymes.

Table 2b Classification tree predictions

		Predicted			
		<25 <sup>th</sup> Percentile	>25 <sup>th</sup> Percentile < 50 <sup>th</sup> Percentile	>50 <sup>th</sup> Percentile < 75 <sup>th</sup> Percentile	>75 <sup>th</sup> Percentile
Actual	<25 <sup>th</sup> Percentile	12	2	0	0
	>25 <sup>th</sup> Percentile < 50 <sup>th</sup> Percentile	3	10	0	0
	>50 <sup>th</sup> Percentile < 75 <sup>th</sup> Percentile	2	1	11	0
	>75 <sup>th</sup> Percentile	0	0	3	11

### Effects of Surfactants on Enzymatic Hydrolysis of CC

Pretreatment is a necessary strategy to make cellulose more accessible to enzymatic conversion, to suppress lignocellulosic recalcitrance and to improve hydrolysis rates. Various physical (grinding, milling, etc.), chemical (acid hydrolysis, alkali pretreatment, inorganic salt addition, ammonia steeping, etc.), thermochemical (steam explosion, etc.) and biological pretreatments (the use of microorganisms) are commonly used in biomass conversion (Arumugam et al., 2020). There are several studies about the use of surfactants and increasing the yield of cellulose conversion but most of them did not eliminate the pretreatment steps. A pretreatment strategy for the steam-exploded corncobs was conducted by Zheng et al. (2014) using a modified twin-screw extruder with the addition of Tween 80 during enzymatic hydrolysis. They found out that for the extruded corncobs with 7% xylose removal, Tween 80 did not have a significant impact on the conversion of glucose. On the other hand, for corncobs with 80% xylose removal, an increase in the Tween 80 concentration led to the increase in the glucose conversion when the hydrolysis time was prolonged to 72 h (Zheng et al., 2014). Another old study of Kaar and Holtzapfle (1998) observed

an increase from 50 to 80 mg equivalent glucose/g dry corn stover, on sugar yield when they used Tween 80 on pretreated samples. They also found that Tween 20 was more effective when compared with Tween 80, during the hydrolysis of pretreated corn stover. In addition, at high substrate concentrations, it was seen that the presence of surfactant was effective during the saccharification of pretreated corn stover (Kaar and Holtzapfle, 1998). In another study although, the adsorption of cellulase decreased with the addition of Tween 20 in steam-pretreated spruce (SPS) hydrolysis medium, there was no significant decrease in enzyme adsorption when delignified SPS and *Avicel* used (Eriksson et al., 2002).

In this study, to see the effects of surfactant use under untreated conditions (just milling of the samples) on reducing sugar yield of *Avicel* (cellulose as control sample) and CC, two different types of nonionic surfactants, namely Tween 20 and Tween 80 were incorporated into the hydrolysis reaction. Enzyme amount, pulp content, and hydrolysis time were kept constant at 300  $\mu\text{L}$  (Cellulast 150  $\mu\text{L}$ , Novozyme 150  $\mu\text{L}$ ), 3% (w/v) solution and 24 hours, respectively. Obtained results are presented in Table 2c.

Table 2c Reducing sugar yield of *Avicel* treated with Tween 20 and Tween 80

Group	Observations	Minimum (g/L)	Maximum (g/L)	Mean (g/L)	Standard Deviation	Coefficient of Variation
Control	22	11.36	26.68	21.19	4.36	20.57%
Tween 20	15	17.49	32.06	22.55	3.61	16.00%
Tween 80	15	16.43	28.56	23.32	3.00	12.86%

The mean yield of samples containing surfactants was found to be higher than that of the control group. *t* test (95 % confidence level) was conducted to verify the statistical significance of the mean differences between the control group and samples in which surfactants were used (Supp B). Although the previous studies showed that the inclusion of surfactants Tween 20 and Tween 80 could increase the reducing sugar yield, *t*-test results in this study did not give significant mean difference between treated and control groups ( $p$

$< 0.05$ ). Even trials with lower and higher amounts of surfactants (T20, 135  $\mu\text{L}$  through 500  $\mu\text{L}$ ), higher and lower amounts of enzymes (300  $\mu\text{L}$  + 300  $\mu\text{L}$ , 75  $\mu\text{L}$  + 75  $\mu\text{L}$ ), various substrate compositions (40% CC + 60% *Avicel*, 20% CC + 80% *Avicel*, 100% CC) did not give statistically different results ( $p < 0.05$ ). The reason could be related to the lack of any pretreatment application to the samples. Therefore, it was concluded that surfactant use without any other pretreatment while keeping the other parameters constant (i.e.

enzyme content, substrate amount and hydrolysis time) did not necessarily increase the reducing sugar yield from CC.

Another reason could be related to the impact of surfactants on crystalline structure that is among the factors influencing yield efficiency. During the pretreatment process, the structure of lignin surfaces changes so enzymes are easily adsorbed by the lignin surfaces (Eriksson et al., 2002). When substrates with various lignin composition were hydrolyzed, it was observed that presence of lignin highly affected the adsorption capacity of Tween 20 giving higher value than pure cellulose. On the other hand, since there was no linear relationship between the lignin amount and the adsorption capacity, it was concluded that acidic groups within the substrate or pH of the medium might be effective on adsorption behavior of Tween 20. Structural changes in *Avicel* and the substrate with highest amounts of lignin were not observed. Although structural changes were observed within the other samples having various amount of lignin composition, it was inferred that Tween 20 effect on crystalline structure was not substantial (Seo et al., 2011). Thus, it could be another reason not to obtain a significant difference between control and treated samples.

## CONCLUSION

The present study was carried out to see the effects of different factors on hydrolysis efficiency of lignin rich and lignin poor biomass, separately. SBP as a lignin poor biomass was studied to optimize several enzymatic hydrolysis parameters (substrate amount, enzyme type and amount, hydrolysis time). The results demonstrated that the equation of a second-order-polynomial model fitted well with the experimental data of reducing sugar yield. The maximum yields within the design space were approximately 87 g/L after 18 h of hydrolysis, using 300  $\mu$ l Cellic Ctec3 and 300  $\mu$ l Pectinex Ultra SP-L at %20 substrate loading. In correspondence with the regression models, an increase in cellulase and pectinase loadings results resulted in an increase in sugar release. The results proposed the potential of RSM for determination of optimum hydrolysis conditions of SBP. A

larger range of enzyme concentrations might be needed to be further investigated to observe optimum concentration.

CC as a lignin rich biomass was also analyzed to examine the effect of non-ionic surfactants (Tween 20 and Tween 80) on the reducing sugar yield. The results revealed that surfactants Tween 20 and Tween 80 did not necessarily increase the reducing sugar yield.

Considering the models implemented and the results obtained, it can be concluded that both lignin poor and rich wastes have the potential to obtain high sugar yields by manipulating process conditions.

## FUNDING

The study got funding from Middle East Technical University, Research and Coordination Unit, with the grant # BAP-07-02-2017-004-056

## CONFLICT OF INTEREST

Authors declare no conflict of interest.

## AUTHORS' CONTRIBUTIONS

The study was derived from MSc thesis of Mrs. Yurtseven. She conducted all experiments and analyses and was involved in writing. Dr. Cikrikci Erunsal drafted the manuscript and contributed to the statistical analyses of data. Dr. Oztop was the PI of the study and finalized the manuscript.

## REFERENCES

- Adaganti, S.Y., Yaliwal, V.S., Kulkarni, B.M., Desai, G.P., Banapurmath, N.R. (2014). Factors Affecting Bioethanol Production from Lignocellulosic Biomass (*Calliandra calothyrsus*). *Waste Biomass Valorization*, 5, 963–971.
- Arenas-Cárdenas, P., López-López, A., Moeller-Chávez, G.E., León-Becerril, E. (2017). Current Pretreatments of Lignocellulosic Residues in the Production of Bioethanol. *Waste Biomass Valorization*, 8, 161–181.
- Arumugam, A., Malolan, V.V., Ponnusami, V. (2020). Contemporary Pretreatment Strategies for Bioethanol Production from Corncobs: A Comprehensive Review. *Waste Biomass Valorization*, 12, 577–612.

- Astray, G., Gullón, B., Labidi, J., Gullón, P. (2016). Comparison between developed models using response surface methodology (RSM) and artificial neural networks (ANNs) with the purpose to optimize oligosaccharide mixtures production from sugar beet pulp. *Ind Crops Prod*, 92, 290–299.
- Atkinson, E.J., Therneau, T.M. (2000). Plotting options. In: *An Introduction to Recursive Partitioning Using the RPART Routines*. Mayo Foundation
- Berlowska, J., Binczarski, M., Dziugan, P., Wilkowska, A., Kregiel, D., Witonska, I. (2018). Sugar Beet Pulp as a Source of Valuable Biotechnological Products. *Adv Biotechnol for Food Ind*. Elsevier Inc. 359-392.
- Cieciura-Wloch, W., Borowski, S., Otlewska, A. (2020). Biohydrogen production from fruit and vegetable waste, sugar beet pulp and corn silage via dark fermentation. *Renew Energy*, 153, 1226–1237.
- Donkoh, E., Degenstein, J., Tucker, M., Ji, Y. (2012). Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Dilute Acid Pretreated Sugar Beet Pulp Using Response Surface Design. *J Sugarbeet Res*, 49, 26-37.
- Dyk, J.S. Van., Pletschke, B.I. (2012). A review of lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes-Factors affecting enzymes, conversion and synergy. *Biotechnol Adv*, 30, 1458-1480.
- Eriksson, T., Börjesson, J., Tjerneld, F. (2002). Mechanism of surfactant effect in enzymatic hydrolysis of lignocellulose. *Enzyme Microb Technol*, 31, 353-364.
- Ghose, T.K. (1987). Measurement of cellulase activities. *Pure Appl Chem*, 59, 257-268.
- Helle, S.S., Duff, S.J.B., Cooper, D.G. (1993). Effect of surfactants on cellulose hydrolysis. *Biotechnol Bioeng*, 42, 611-7.
- Kaar, W.E., Holtzapple, M.T. (1998). Benefits from Tween during enzymic hydrolysis of corn stover. *Biotechnol Bioeng*, 59, 419-27.
- Karagöz, P., Rocha, I. V., Özkan, M., Angelidaki, I. (2012). Alkaline peroxide pretreatment of rapeseed straw for enhancing bioethanol production by Same Vessel Saccharification and Co-Fermentation. *Bioresour Technol*, 104, 349-57.
- Kinnarinen, T., Häkkinen, A. (2014). Influence of enzyme loading on enzymatic hydrolysis of cardboard waste and size distribution of the resulting fiber residue. *Bioresour Technol*, 159, 136-142.
- Leijdekkers, A.G.M., Bink, J.P.M., Geutjes, S., Schols, H.A., Gruppen, H. (2013). Enzymatic saccharification of sugar beet pulp for the production of galacturonic acid and arabinose; a study on the impact of the formation of recalcitrant oligosaccharides. *Bioresour Technol*, 128, 518-525.
- Li, G., Sun, Y., Guo, W., Yuan, L. (2018). Comparison of various pretreatment strategies and their effect on chemistry and structure of sugar beet pulp. *J Clean Prod*, 181, 217–223.
- Li, H., Kim, N.J., Jiang, M., Kang, J.W., Chang, H.N. (2009). Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic residues pretreated with phosphoric acid-acetone for bioethanol production. *Bioresour Technol*, 100, 3245-3251.
- Manisha., Yadav, S.K. (2017). Technological advances and applications of hydrolytic enzymes for valorization of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol*, 245, 1727-1739.
- Micard, V., Renard, C.M.G.C., Thibault, J.F. (1996). Enzymatic saccharification of sugar-beet pulp. *Enzyme Microb Technol*, 19, 162-170.
- Miller, G.L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal Chem*, 31, 426–428.
- Nahar, N., Pryor, S.W. (2012). Enzymatic hydrolysis and fermentation of whole sugar beets for ethanol production. In: *Am Soc Agric Biol Eng Annu Int Meet 2012, ASABE 2012*.
- Nahar, N., Pryor, S.W. (2013). Enzymatic hydrolysis and fermentation of crushed whole sugar beets. *Biomass Bioenergy*, 59, 512–519.

- Nahar, N., Rorick, R., Pryor, S.W. (2014). Effects of enzyme and solids loading on sugar beet pulp hydrolysis. *Biol Eng Trans*, 7, 17-26.
- Paulova, L., Patakova, P., Branska, B., Rychtera, M., Melzoch, K. (2015). Lignocellulosic ethanol: Technology design and its impact on process efficiency. *Biotechnol Adv*, 33, 1091-107.
- Pocan, P., Bahcegul, E., Oztop, M.H., Hamamci, H. (2018). Enzymatic Hydrolysis of Fruit Peels and Other Lignocellulosic Biomass as a Source of Sugar. *Waste Biomass Valorization*, 9, 929-937.
- Pointner, M., Kuttner, P., Obrlik, T., Jäger, A., Kahr, H. (2014). Composition of corncobs as a substrate for fermentation of biofuels. *Agron Res*, 12, 391-396.
- Pryor, S.W., Nahar, N. (2015).  $\beta$ -glucosidase supplementation during biomass hydrolysis: How low can we go? *Biomass Bioenergy*, 80, 298-302.
- Qing, Q., Yang, B., Wyman, C.E. (2010). Impact of surfactants on pretreatment of corn stover. *Bioresour Technol*, 101, 5941-51.
- Seo, D.J., Fujita, H., Sakoda, A. (2011). Structural changes of lignocelluloses by a nonionic surfactant, Tween 20, and their effects on cellulase adsorption and saccharification. *Bioresour Technol*, 102, 9605-9612.
- Sharma, H.K., Xu, C., Qin, W. (2019). Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuels and Bioproducts: An Overview. *Waste Biomass Valorization*, 10, 235-251.
- Siddiqui, M.T.H., Nizamuddin, S., Mubarak, N.M., Shirin, K., Aijaz, M., Hussain, M., Baloch, H.A. (2019). Characterization and Process Optimization of Biochar Produced Using Novel Biomass, Waste Pomegranate Peel: A Response Surface Methodology Approach. *Waste Biomass Valorization*, 10, 521-532.
- Yücel, Y., Göycüncük, S. (2015). Optimization and Modelling of Process Conditions Using Response Surface Methodology (RSM) for Enzymatic Saccharification of Spent Tea Waste (STW). *Waste Biomass Valorization*, 6, 1077-1084.
- Zhang, Y.H.P. (2008). Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 35, 367-375.
- Zheng, J., Choo, K., Bradt, C., Lehoux, R., Rehmann, L. (2014). Enzymatic hydrolysis of steam exploded corncob residues after pretreatment in a twin-screw extruder. *Biotechnol Rep*, 3, 99-107.
- Zheng, Y., Cheng, Y.S., Yu, C., Zhang, R., Jenkins, B.M., VanderGheynst, J.S. (2012). Improving the efficiency of enzyme utilization for sugar beet pulp hydrolysis. *Bioprocess Biosyst Eng*, 35, 1531-1539.
- Ziemiński, K., Kowalska-Wentel, M. (2015). Effect of enzymatic pretreatment on anaerobic co-digestion of sugar beet pulp silage and vinasse. *Bioresour Technol*, 180, 274-280.



## Supplementary Materials

Supp. A.1 Final experimental setup for five-level, four-factor response surface design and the experimental data with coded and actual values of variables

Observation	% Substrate (w/v)	Pectinex Ultra SP-L ( $\mu$ l)	Cellic Ctec3 ( $\mu$ l)	Time (h)	Block	Yield (g/L)
	X1	X2	X3	X4		
1	-1	1	1	-1	1	53.56
2	1	1	-1	-1	1	70.78
3	1	-1	1	-1	1	72.52
4	-1	-1	-1	-1	1	50.08
5	1	1	1	1	1	86.87
6	1	-1	-1	1	1	89.64
7	-1	-1	1	1	1	50.83
8	-1	1	-1	1	1	58.42
9	-1	1	-1	-1	2	53.63
10	-1	-1	1	-1	2	56.59
11	1	-1	-1	-1	2	82.29
12	1	1	1	-1	2	94.41
13	-1	1	1	1	2	64.26
14	1	-1	1	1	2	95.41
15	-1	-1	-1	1	2	45.71
16	1	1	-1	1	2	99.77
17	0	0	0	0	3	56.98
18	1	1	1	0	3	85.70
19	-1	1	-1	0	3	45.73
20	0	0	2	0	3	61.45
21	2	0	0	0	3	87.39
22	0	2	0	0	3	66.98
23	0	0	-2	0	3	54.82
24	0	-2	0	0	3	56.82
25	-2	0	0	0	3	23.98
26	0	0	0	0	3	61.68
27	0	0	0	0	4	56.22
28	1	1	1	0	4	84.91
29	0	0	0	0	4	53.17
30	0	0	0	0	4	56.73
31	0	0	0	0	4	57.06
32	0	0	0	-2	4	46.91
33	0	0	0	2	4	67.74
34	-1	1	1	1	4	35.93
35	1	-1	1	1	4	71.68
36	1	-1	-1	1	4	71.24
37	-1	1	1	-1	5	40.33
38	1	1	-1	-1	5	65.34
39	-1	-1	1	1	5	39.77
40	1	-1	1	-1	5	70.30
41	-1	-1	-1	-1	5	42.40
42	-1	1	-1	-1	5	44.13
43	-1	-1	-1	1	5	39.69
44	1	1	-1	1	5	78.80
45	-1	-1	1	-1	5	48.66
46	1	-1	-1	-1	5	64.51

Investigation of several factors on enzymatic hydrolysis of sugar beet pulp and corn cob

Supp. A.2. ANOVA Results for 'yield'

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Blocks	4	1929.8	2089.56	522.39	168.72	0.000
Regression	12	8575.4	8575.41	714.62	230.81	0.000
Linear	4	8155.3	7980.17	1995.04	644.37	0.000
X1	1	7540.5	6853.04	6853.04	2213.42	0.000
X2	1	76.2	87.27	87.27	28.19	0.000
X3	1	65.7	46.29	46.29	14.95	0.001
X4	1	472.9	592.77	592.77	191.45	0.000
Square	2	65.7	63.80	31.90	10.30	0.001
X1*X1	1	42.0	58.17	58.17	18.79	0.000
X3*X3	1	23.7	23.19	23.19	7.49	0.013
Interaction	6	354.3	354.33	59.06	19.07	0.000
X1*X2	1	0.7	15.89	15.89	5.13	0.035
X1*X3	1	81.5	100.90	100.90	32.59	0.000
X1*X4	1	89.9	36.13	36.13	11.67	0.003
X2*X3	1	108.5	87.26	87.26	28.18	0.000
X2*X4	1	37.8	17.83	17.83	5.76	0.026
X3*X4	1	36.0	36.03	36.03	11.64	0.003
Residual Error	20	61.9	61.92	3.10		
Lack-of-Fit	17	52.4	52.36	3.08	0.97	0.598
Pure Error	3	9.6	9.56	3.19		
Total	36	10567.1				

Supp. B.1. Group mean comparison between Tween 20 and Control

Group	Mean Difference	95% Interval	Confidencet value	Degrees of Freedom
Control vs Tween 20	1.35	-1.42	4.12	0.99
H <sub>0</sub> : Difference=0	P( T  >  t )=0.33		Difference in means is not statistically significantly different from zero	
H <sub>a</sub> : Difference>0	P(T>t)=0.16		Difference in means is not statistically significantly different from zero	

Supp. B.2. Group mean comparison between Tween 80 and Control

Group	Mean Difference	95% Interval	Confidencet value	Degrees of Freedom
Control vs Tween 80	2.12	-0.51	4.76	1.64
H <sub>0</sub> : Difference=0	P( T  >  t )=0.11		Difference in means is not statistically significantly different from zero	
H <sub>a</sub> : Difference>0	P(T>t)=0.06		Difference in means is not statistically significantly different from zero	



## EFFECT OF MINERAL SALT REPLACERS ON THE PHYSICOCHEMICAL, MICROBIAL AND SENSORY PROPERTIES OF YOGURT DRINK, AYRAN

Çağım Akbulut Çakır\*, Ayşe Bozkurt

Department of Food Science, Harran University, Şanlıurfa, Turkey

Received / Geliş: 04.05.2021; Accepted / Kabul: 18.10.2021; Published online / Online baskı: 04.11.2021

Akbulut-Çakır, Ç. Bozkurt, A. (2021). Effect of mineral salt replacers on the physicochemical, microbial and sensory properties of yogurt drink, ayran. GIDA (2021) 46 (6) 1386-1396 doi: 10.15237/gida.GD21081.

Akbulut-Çakır, Ç. Bozkurt, A. (2021). Mineral tuz ikame maddelerinin ayranın fizikokimyasal, mikrobiyal ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi. GIDA (2021) 46 (6) 1386-1396 doi: 10.15237/gida.GD21081.

### ABSTRACT

Reducing the salt content of foods often impairs the taste, consumer acceptability and the shelf life. Impact of mineral salt replacers on chemical, microbiological and sensory properties of Ayran samples during 20 days of storage were investigated. Ayran samples having 0.5% salt/salt replacers were produced as follows; A (control): 100% NaCl, B: 100% KCl, C: 70%KCl + 30% NaCl, D: 50% NaCl + 50% KCl, E: 30%KCl + 70% NaCl, F: Pansalt® (57% NaCl+ 28% KCl + 12% MgSO<sub>4</sub> + 2% L-lysine+ 1% Silicon Dioxide). Except for sample F, Ayran samples had similar pH values on day 1 and their pH decreased by day 10. Use of Pansalt® and NaCl:KCl at the ratios of 7:3 and 1:1 resulted in acceptable yogurt drinks. *Lactobacillus bulgaricus* counts of A, D and F decreased on day 10, while *Streptococcus thermophilus* counts of A, C, E and F increased on day 20.

**Keywords:** sodium reduction, ayran, salt replacers

### MİNERAL TUZ İKAME MADDELERİNİN AYRANIN FİZİKOKİMYASAL, MİKROBİYAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

### ÖZ

Gıdalarda tuzun azaltılması genellikle, tat, tüketici kabul edilebilirliği ve raf ömrünü olumsuz etkilemektedir. Bu çalışmada, mineral tuz ikame maddelerinin Ayran örneklerinin 20 günlük depolama süresince kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada %0.5 tuz/tuz ikamesi içeren ayran örnekleri şu şekildedir: A (kontrol): %100 NaCl, B: %100 KCl, C: %70KCl + %30 NaCl, D: %50 NaCl + %50 KCl, E: %30 KCl + %70 NaCl, F: Pansalt® (57% NaCl+ 28% KCl + 12% MgSO<sub>4</sub> + 2% L-lisin+ 1% Silicon Dioxide). Ayran örnekleri, F örneği dışında 1. günde benzer pH değerlerine sahipti ve pH'ları 10. günde azaldı. Sonuçlar, Pansalt® ve 7:3 ve 1:1 oranında NaCl:KCl karışımı kullanımı ile kabul edilebilir Ayran üretilebildiğini göstermiştir. Depolamanın 10. gününde A, D ve F örneklerinde *Lactobacillus bulgaricus* sayılarında azalma meydana gelirken, A, C, E ve F örneklerinde 20. günde *Streptococcus thermophilus* sayıları artış göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** sodyumun azaltılması, ayran, tuz ikame maddeleri

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: cagim@harran.edu.tr

☎: (+90) 414 318 3729

☎: (+90) 414 318 3799

Çağım Akbulut Çakır; ORCID no: 0000-0002-2754-0133

Ayşe Bozkurt; ORCID no: 0000-0001-7977-4516

## INTRODUCTION

The term “salt” refers to the table salt “NaCl” in common use and provides about 90% of the sodium in the diet (Kloss et al., 2015). In recent years, reducing the salt consumption has gained much interest and many efforts have been made to limit the use of salt in processed foods. High sodium intake from consuming salt is linked with high blood pressure and related health problems such as cardiovascular diseases and hypertension (Cook et al., 2007). There is also evidence that overconsumption of the salt can damage the kidneys, heart and aorta and may cause osteoporosis (He and McGregor, 2009). Processed foods comprise around 75 to 80% of the dietary salt intake while 10 to 15% of the salt is added during cooking or at the table, and only 5 to 10% is naturally occurring in the foods (Kloss et al., 2015). Growing concerns on the health risks of excessive salt intake led World Health Organization (WHO) and food legislators around the world to take action for reducing the salt in food products (WHO, 2007). Daily salt intake should be less than 5 grams (<2 g/day sodium) for reducing the high blood pressure according to the WHO. The WHO HEARTS program was established in 2016 to reduce cardiovascular diseases, and one of the targets of the program was a 30% relative reduction in mean population intake of salt/sodium by 2025 (WHO, 2016a). The “SHAKE Technical Package for Salt Reduction” was published by WHO as a guidance for the development, implementation and monitoring of salt reduction strategies in order to achieve a reduction in population salt intake (WHO, 2016b).

Reducing the salt content of foods is a challenge and often impairs the taste and consumer acceptability. Apart from the taste, for many food products salt has vital role in many technological aspects such as structure, preservation and shelf life (Doyle and Glass, 2010). Extensive amount of research has been conducted regarding salt reduction and several approaches developed such as use of salt replacers, salt enhancers, modulation of salt spatial distribution and particle size (Wilson et al., 2012).

Ayran is among the dairy foods that contain salt and is a type of fermented milk drink widely consumed in Turkey. Previous studies showed that certain mineral salt compounds such as KCl and MgSO<sub>4</sub> have a potential to mimic salty taste of NaCl (Cepanec et al., 2017; Cruz et al., 2011). Use of salt replacers containing potassium, magnesium, and calcium have been investigated in various cheeses (Grummer et al., 2012; Akan and Kınık, 2018; Dugat-Bony et al., 2019; Mozuraitye et al., 2019) and butter (de Souza et al., 2013). Potassium chloride is one of the most common mineral salt replacers (Cepanec et al., 2017), and potassium intake may also have a positive effect on health (He and MacGregor, 2001). It was reported that replacement of NaCl with KCl can cause bitter and metallic flavor and soft and pasty body defects in cheese (Cruz et al., 2011). However, several studies have claimed that partial replacement of NaCl with KCl in soft and semi-hard cheeses had no influence on the physicochemical and organoleptic properties of cheese if the substitution was less than 30% (Costa et al., 2019; Grummer et al., 2012; Soares et al., 2016). The unpleasant bitter and metallic aftertaste of mineral salt replacers could be more pronounced at high concentrations and when used solely; however, moderate concentrations could prevent that (Sinopoli and Lawless, 2012). It is necessary to carry out initial studies for food formulations to determine the right concentration of sodium replacers to successfully replace sodium chloride without impairing the sensory properties. No previous study was done to the author’s knowledge on the use of salt replacers in Ayran. This study investigated the impact of mineral salt replacers at different replacement ratios on the physicochemical, microbial and sensory properties of Ayran.

## MATERIAL AND METHODS

### Production of Ayran Samples

Ayran samples were produced at Harran University Pilot Dairy Plant. Milk for Ayran production was prepared by mixing the skim milk powder (Pinar A.S.), cream (35% milk fat) (Pinar A.S.) and water at room temperature to have 6.1% NFD and 1.8% fat. Milk was then homogenized at 144 bar (Hommak F-HM20, İzmir, Turkey)

after heating to 60°C and pasteurized at 90°C for 5 min using heating tank. After cooling down to 45°C, inoculated with direct vat starter culture (YF-L903 50U, Chr Hansen) containing *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* (*L. bulgaricus*) and *Streptococcus thermophilus* (*S. thermophilus*) (1:1) at the prescribed amount (1/5 of the 50U package was used for 100 kg milk). Incubation was ended at pH 4.6, containers were taken out of the incubation room, and 0.5% salt/salt replacers were added directly while they were still at around 45°C, stirred well and cooled down to room temperature in cold water bath. After that, they were filled in 250 ml cups, sealed with foil using Ayran filling machine (Sezmac, İstanbul, Turkey) and cooled down to 4°C at cold store. Ayran samples differed in their salt type as: A (control): 100% NaCl, B: 100% KCl, C: 70%KCl + 30% NaCl, D: 50% NaCl + 50% KCl, E: 30%KCl + 70% NaCl, F: Pansalt (%57 NaCl+ %28 KCl + %12MgSO<sub>4</sub> + %2 L-lysine+ %1 silicon dioxide. Samples were then cold stored at 4°C. Trial was replicated for twice.

#### Composition and pH

Total solids (IDF, 1982), titratable acidity and ash (Oysun, 1996) were determined by gravimetric method. Fat was analyzed by Gerber method (IDF, 1991). Mineral contents (Ca, P, Mg, Na and K) were measured according to method used by Peng et al. (2009) by VARIAN-CCD Simultaneous ICP-AES (Optima 5300 DV PerkinElmer Inc., USA) with 3 repetitions for each replicate. pH was measured at room temperature directly by inserting the probe of the pHmeter (Thermo Scientific Orion, Fort Collins, USA) into samples and measurements were taken on day 1, 10 and 20 with two repetitions. All other composition analyses were done in the first week of the production.

#### Viscosity

Viscosity was measured at day 1, 10 and 20 using Brookfield Viscometer (Brookfield Model RVDV-II+, Brookfield engineering Laboratories. Inc., Middlesbrough, UK.) with spindle no 3 at 100 rpm and 15s (Özer et al., 1997). Sample temperature was 4°C during measurement.

#### Whey Separation

Whey separation was measured at day 1, 10 and 20. 100 ml sample was placed in graduated cylinder and kept at 4°C for 1 day. Whey separation was measured as a percentage of released water to the total volume of the sample (Özünlü, 2005).

#### Sensory Evaluation

Sensory evaluation was done on day 1 and day 20. A total of 18 panelists conducted the sensory panel. Ayran samples were evaluated for overall liking, flavor and consistency using a 9-point hedonic scale (with 1 = extremely dislike, 5 = neither like nor dislike, and 9 = extremely like), and for saltiness, a just-about-right (JAR) 5-point intensity scale was used with 3 being just about right, 1 = not enough salt and 5 = too much salt. Panelists were also asked to rank the samples in order from the most preferred to the least. Samples were evaluated using ranking test model according to Drake (2008).

#### Microbiological analysis

*S. thermophilus* and *L. bulgaricus* counts were determined on day 1, 10 and 20. Ayran samples were diluted using 0.1% sterile peptone water and 1 mL aliquot dilutions were poured onto plates of the selective agars in triplicate. M17 agar was used for the enumeration of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* was incubated at MRS agar anaerobically (Rybka and Kailasaphaty 1996). All plates were incubated at 37 °C for 48 h. Anaerobic conditions were obtained using Anaerocult A sachets (Merck). Enumeration of the yeast and mould was done after incubating sample aliquots (1mL) dispersed on Potato Dextrose Agar at 25 °C for 4-5 days (Taniwaki et al. 2001).

#### Statistical analysis

Statistical analysis was performed by SPSS version 16 (SPSS Inc., Chicago, IL) using One-way ANOVA. Differences between means were evaluated by Tukey multiple comparisons test with 95% confidence level.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Chemical Properties

Chemical properties of the Ayran milk is given in Table 1. Ayran milk used for the production of the Ayran samples contained 6.1% NFD, 1.8% fat, 0.68% ash. Its acidity was 0.18% (lactic acid) and pH was 6.64, and both were in normal range for milk (Metin, 2012). All ayran samples had  $1.75 \pm 0.03\%$  fat and  $7.58 \pm 0.25\%$  NFD. We did not see any significant difference between NFD and fat content between Ayran samples ( $P < 0.05$ ). Except for sample F, Ayran samples had similar pH values on day 1 and their pH decreased by day 10 (Fig. 1). No further significant decrease in pH was observed at day 20 ( $P > 0.05$ ). The lower pH value of sample F could be due to the composition of Pansalt®. Akan and Kınık (2018) also reported a lower pH with the use of Pansalt® in white cheese as compared to control white cheese samples. Fitzgerald and Buckley (1985) observed a lower pH in Cheddar cheeses salted with  $MgCl_2$ . There was no significant difference

between the pH of the Ayran samples at day 10, while at day 20 sample B, C and D exhibited slightly lower pH than others. A decrease in pH with storage has also been reported by other studies (Gülmez and Güven, 2003; Özünlü, 2005), and it was attributed to the growth of the starter bacteria during storage. Mineral content (Na, K, Mg, Ca and P) and total ash of Ayran samples are given in Table 2. Total ash content of the Ayran samples did not differ ( $P < 0.05$ ). No difference was observed between Ca and P contents of the Ayran samples ( $P > 0.05$ ). The difference between Na, K and Mg contents of Ayran samples were proportional to the added mineral salt amounts. The achieved reduction in the Na content of the Ayran samples with the use of salt replacers was 51, 34, 26, 16 and 21% respectively for sample B, C, D, E and F. Mg content of the sample F was significantly higher than the others due to the Mg content of the added Pansalt ( $P < 0.05$ ).

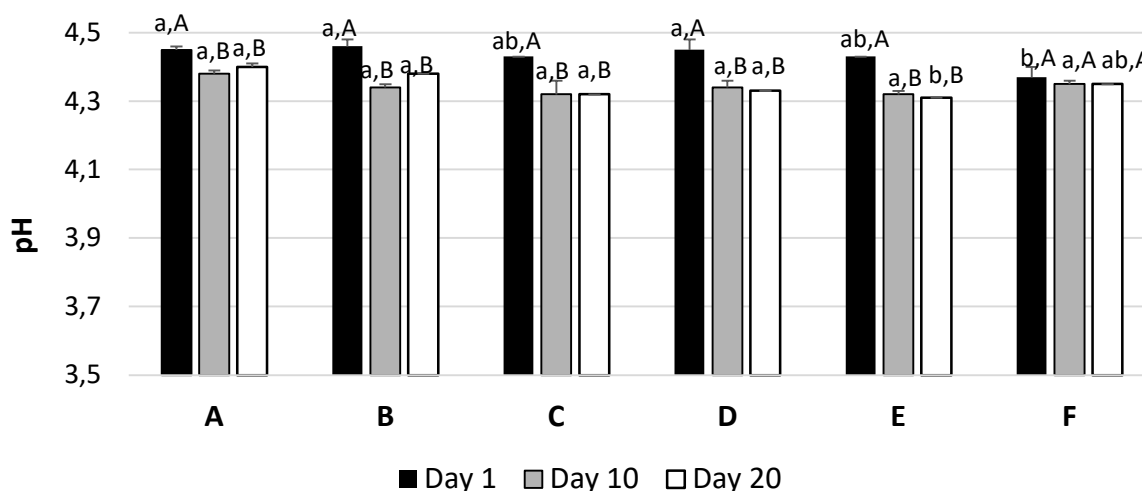


Figure 1. Mean pH values of the Ayran samples during storage

A (control): 100% NaCl, B: 100% KCl, C: 70% KCl + 30% NaCl, D: 50% NaCl + 50% KCl, E: 30% KCl + 70% NaCl, F: Pansalt® (%57 NaCl + %28 KCl + %12  $MgSO_4$  + %2 L-lysine + %1 silicon dioxide

Values with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

a-b Denote for the differences between treatment groups while A-B denote for the differences between storage for each sample.

Table 1. Mean pH, titratable acidity and composition of Ayran milk used for Ayran production

Parameter	Milk
pH	6.64 ± 0.03
Titratable acidity (% lactic acid)	0.178 ± 0.020
NFDM (%)	6.1 ± 0.3
Fat (%)	1.8 ± 0.2
Ash (%)	0.68 ± 0.05

Table 2. Mean total ash, Na, K, Mg, Ca and P content of the Ayran samples

Parameter	Control		Reduced sodium			
	A	B	C	D	E	F
Ash, %	1.02±0.02 <sup>a</sup>	1.02±0.00 <sup>a</sup>	1.06±0.04 <sup>a</sup>	1.03±0.02 <sup>a</sup>	1.04±0.01 <sup>a</sup>	0.98±0.03 <sup>a</sup>
Na, mg/100 ml	345.82±15.32 <sup>a</sup>	169.06±8.30 <sup>d</sup>	229.44±17.30 <sup>c</sup>	257.16± 2.13 <sup>b</sup>	288.66±5.35 <sup>b</sup>	271.65±15.40 <sup>b</sup>
K, mg/100 ml	129.78±9.15 <sup>c</sup>	348.02±9.56 <sup>a</sup>	276.84±9.28 <sup>b</sup>	232.29±2.77 <sup>c</sup>	192.54±8.56 <sup>d</sup>	183.54±10.87 <sup>d</sup>
Mg, mg/100 ml	11.45±0.50 <sup>a</sup>	11.47±0.70 <sup>a</sup>	11.29±0.74 <sup>a</sup>	10.82±0.12 <sup>a</sup>	10.96±0.48 <sup>a</sup>	18.04±0.89 <sup>b</sup>
Ca, mg/100 ml	93.16±4.13 <sup>a</sup>	92.86±3.73 <sup>a</sup>	90.59±1.84 <sup>a</sup>	90.58±0.92 <sup>a</sup>	89.65±3.41 <sup>a</sup>	93.24±4.94 <sup>a</sup>
P, mg/100 ml	68.41±2.87 <sup>a</sup>	69.60±2.46 <sup>a</sup>	68.70±3.01 <sup>a</sup>	68.56±3.55 <sup>a</sup>	66.25±3.21 <sup>a</sup>	67.34±4.84 <sup>a</sup>

<sup>a-e</sup> Values with different superscript letter in the same row are significantly different ( $P<0.05$ )

A (control): 100% NaCl, B: 100% KCl, C: 70% KCl + 30% NaCl, D: 50% NaCl + 50% KCl, E: 30% KCl + 70% NaCl, F: Pansalt® (%57 NaCl + %28 KCl + %12 MgSO<sub>4</sub> + %2 L-lysine + %1 silicon dioxide)

### Physical Properties

Whey separation occurs in Ayran as a phase separation by time due to the sedimentation of destabilized proteins. Occurrence of the whey separation in Ayran is unavoidable at some point during storage; however, a fast whey separation is unwanted, and the length of the time required for the phase separation to occur is a quality criterion of Ayran. Whey separation and viscosity results of the samples are given in Table 3. Use of mineral salt replacers did not influence the whey separation significantly ( $P>0.05$ ). The average whey separation was 10% at day 1. A significant increase was observed at day 10 for all samples, and then stayed stable showing no significant difference at day 20. Increase in serum separation during storage has also been observed by other researchers (Atamer et al., 1999; Özünlü, 2005). It was shown that, higher acidity reduces the whey separation in Ayran (Akbulut and Bozkurt, 2020; Özünlü, 2005; Özdemir and Kılıç, 2004). The stability of Ayran samples in terms of serum separation between day 10 and 20 could be due to the lower pH levels as compared to the initial pH. Use of salt replacers did not influence the

viscosity of the Ayran samples on day 1 ( $P>0.05$ ). There was an increase in the viscosity of the sample A, B, C and E. The increase in the viscosity of those samples during the storage could be due to the decrease in pH as reported in previous studies (Özdemir and Kılıç 2004, Tamucay-Özünlü and Koçak 2010). Viscosity of the sample F was stable during the storage just like its stable pH. Viscosity of the sample F was lower than the other samples at day 10 and 20. The lowest viscosity was observed at sample D at day 20.

### Sensory Properties

Mean 9-point hedonic liking scores for overall liking, flavor and consistency are given in Table 4. Highest overall liking scores belonged to control (A), and sample E and F had the closest scores to sample A ( $P<0.05$ ). Replacing the NaCl completely with KCl resulted in an unfavorable effect on all sensory parameters. Overall liking, flavor, consistency and saltiness scores changed proportional to KCl replacement, and samples having the least amount of KCl replacement (E) received higher scores. Previous studies reported

that replacement of salt with KCl can cause bitter and metallic flavor; however, if the substitution is less than 30% there was no influence on the physicochemical and organoleptic properties of cheese (Cruz et al., 2011; Costa et al., 2018, Costa et al., 2019; Grummer et al., 2012; Soares et al., 2016). Flavor scores of the sample D, E and F were higher, and found to be similar with control ( $P<0.05$ ). Consistency scores were similar for all

samples except for B. It was interesting to see that the least acceptable sample B in terms of saltiness and flavor received low consistency scores as well, even though it wasn't any less viscous than the other samples (Table 3). Storage didn't influence the overall liking and flavor scores, while there was an increase in consistency scores by storage time in general which is in accordance with our viscosity results.

Table 3. Mean whey separation and viscosity of Ayran samples

	Whey separation (%)			Viscosity (cP)		
	Storage time (days)					
	1	10	20	1	10	20
A	11±3 <sup>a,A</sup>	27±0 <sup>a,B</sup>	30±0 <sup>a, B</sup>	129±2 <sup>a,B</sup>	141±10 <sup>a,AB</sup>	160±2 <sup>a,A</sup>
B	11±1 <sup>a,A</sup>	24±5 <sup>a, B</sup>	29±5 <sup>a, B</sup>	139±3 <sup>a,A</sup>	151±6 <sup>a,B</sup>	166±14 <sup>a,B</sup>
C	8±3 <sup>a,A</sup>	23±2 <sup>a, B</sup>	28±2 <sup>a, B</sup>	136±23 <sup>a,A</sup>	144±2 <sup>a,A</sup>	155±8 <sup>ab,A</sup>
D	11±2 <sup>a,A</sup>	25±2 <sup>a, B</sup>	28±1 <sup>a, B</sup>	136±8 <sup>a,A</sup>	136±7 <sup>ab,A</sup>	123±3 <sup>c,A</sup>
E	8±2 <sup>a,A</sup>	21±5 <sup>a, B</sup>	27±1 <sup>a, B</sup>	113±7 <sup>a,B</sup>	154±8 <sup>a,A</sup>	152±7 <sup>ab,A</sup>
F	9±3 <sup>a,A</sup>	24±4 <sup>a, B</sup>	28±2 <sup>a, B</sup>	134±9 <sup>a,A</sup>	112±4 <sup>b,A</sup>	134±5 <sup>bc,A</sup>

<sup>a-c</sup> Values with different superscript letter in the same row are significantly different ( $P<0.05$ )

<sup>A-B</sup> Values with different superscript letter in the same column are significantly different ( $P<0.05$ )

A (control): 100% NaCl, B: 100% KCl, C: 70% KCl + 30% NaCl, D: 50% NaCl + 50% KCl, E: 30% KCl + 70% NaCl, F: Pansalt® (%57 NaCl + %28 KCl + %12 MgSO4 + %2 L-lysine + %1 silicon dioxide)

Table 4. Mean 9-point hedonic liking scores for sensory attributes and ranking for preference results of Ayran samples

Sample	Attribute					
	Overall liking		Flavor		Consistency	
	Day 1	Day 20	Day 1	Day 20	Day 1	Day 20
A	6.0±0.3 <sup>aA</sup>	6.9±0.1 <sup>aA</sup>	5.9±0.0 <sup>aA</sup>	6.6±0.4 <sup>aA</sup>	6.0±0.3 <sup>aB</sup>	7.2±0.1 <sup>aA</sup>
B	2.7±0.8 <sup>cA</sup>	3.4±0.6 <sup>cdA</sup>	2.9±0.9 <sup>cA</sup>	4.4±0.7 <sup>dA</sup>	4.7±0.6 <sup>bb</sup>	6.2±0.1 <sup>cA</sup>
C	3.9±0.9 <sup>bcA</sup>	4.7±0.4 <sup>cA</sup>	4.3±1.2 <sup>ba</sup>	5.3±0.6 <sup>cdA</sup>	5.3±0.5 <sup>abB</sup>	6.5±0.2 <sup>bcA</sup>
D	5.1±0.8 <sup>ba</sup>	6.0±0.2 <sup>ba</sup>	5.4±0.8 <sup>abA</sup>	5.7±0.0 <sup>bcA</sup>	6.0±0.0 <sup>ab</sup>	7.0±0.1 <sup>aA</sup>
E	5.8±0.6 <sup>abA</sup>	6.3±0.2 <sup>abA</sup>	5.8±1.1 <sup>aA</sup>	6.4±0.6 <sup>abA</sup>	6.0±0.1 <sup>ab</sup>	7.0±0.1 <sup>aA</sup>
F	5.6±1.2 <sup>abA</sup>	6.3±0.8 <sup>abA</sup>	5.5±0.8 <sup>abA</sup>	6.4±0.1 <sup>abA</sup>	6.1±0.2 <sup>aA</sup>	6.7±0.6 <sup>abA</sup>

<sup>a</sup> Values with different superscript letter in the same column are significantly different ( $P<0.05$ )

<sup>A-B</sup> Values with different superscript letter in the same row are significantly different ( $P<0.05$ )

A (control): 100% NaCl, B: 100% KCl, C: 70% KCl + 30% NaCl, D: 50% NaCl + 50% KCl, E: 30% KCl + 70% NaCl, F: Pansalt® (%57 NaCl + %28 KCl + %12 MgSO4 + %2 L-lysine + %1 silicon dioxide)

Saltiness scores of the Ayran samples are given in Table 5. Mean JAR scores showed that, samples that do not contain added NaCl (B) were found not enough salty, even though KCl was used as replacement. However, 70% replacement of NaCl with KCl found to be ideal (JAR) by the panelists.

Sample D, E, F and A received higher mean JAR scores. Some of the panelists scored the samples “too much salty” despite the fact that the highest salt (NaCl) concentration was 0.5%. This could be due to different saltiness preferences of people. We could have a better picture of saltiness



evaluation results in Fig. 2, where we can see what percentage of the panelists found the samples JAR, having too much or too low salt. Here we could see that, number of the panelists who found the samples too much salty is low. More than 85% of the panelists found sample B not enough salty (89% on day 1, and 94% on day 20). Saltiness of the control (A) was found ideal (JAR) by 56% of the panelists; around 30% of them found it not enough while 6 to 17% found too salty. The closest sample to control in terms of having ideal saltiness scores (with 39% on day 1 and 44% on

day 20) was sample F, a commercial salt replacer Pansalt having a mixture of KCl, MgSO<sub>4</sub> and L-lysine for 43% NaCl replacement. KCl and MgSO<sub>4</sub> have been applied to replace NaCl in several cheeses and while they cause undesirable after tastes such as bitterness, metallic and sharp taste, at low concentrations no significant differences were observed (Sheibani et al., 2013). In previous studies L-lysine was used as bitter blocking agent (Khetra et al., 2016) and it has been reported that it can also contribute to the salty taste (Zhang et al., 2014).

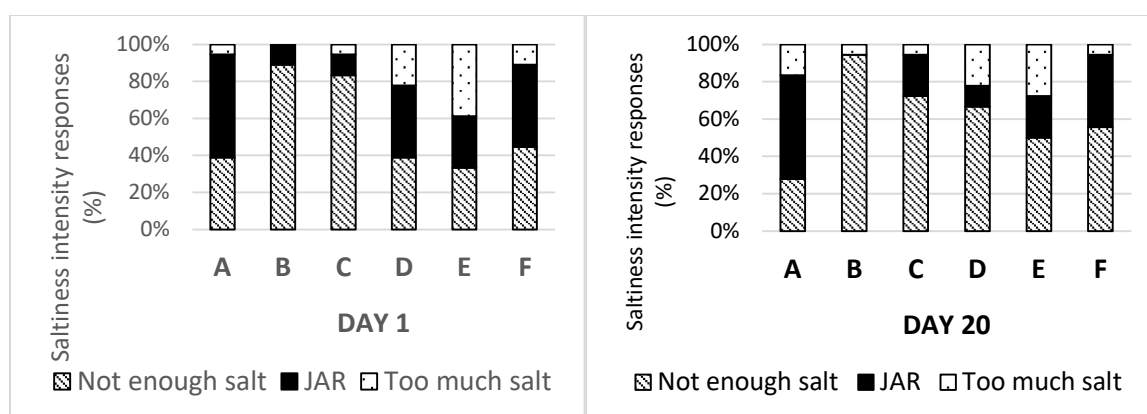


Figure 2. Saltiness intensity responses of Ayran samples

A (control): 100% NaCl, B: 100% KCl, C: 70% KCl + 30% NaCl, D: 50% NaCl + 50% KCl, E: 30% KCl + 70% NaCl, F: Pansalt® (%57 NaCl + %28 KCl + %12 MgSO<sub>4</sub> + %2 L-lysine + %1 silicon dioxide

Table 5. Mean JAR scores for saltiness of Ayran samples

Attribute	Day	Sample					
		A	B	C	D	E	F
Saltiness	1	4.5±0.1 <sup>abA</sup>	2.4±0.9 <sup>cA</sup>	2.9±0.9 <sup>cbA</sup>	4.1±0.6 <sup>abA</sup>	4.9±0.4 <sup>aA</sup>	4.3±0.2 <sup>abA</sup>
	20	4.7±0.1 <sup>aA</sup>	2.3±0.5 <sup>bA</sup>	3.75±0.5 <sup>aA</sup>	4.1±0.1 <sup>aA</sup>	4.8±0.1 <sup>aA</sup>	4.2±0.2 <sup>aA</sup>

<sup>a-b</sup> Values with different superscript letter in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ )

A (control): 100% NaCl, B: 100% KCl, C: 70% KCl + 30% NaCl, D: 50% NaCl + 50% KCl, E: 30% KCl + 70% NaCl, F: Pansalt® (%57 NaCl + %28 KCl + %12 MgSO<sub>4</sub> + %2 L-lysine + %1 silicon dioxide

It is interesting to note that, sample E was found too salty by around 30% of the panelists, which is even higher than the control. Replacing the NaCl with KCl at 50% and below resulted in higher saltiness scores, however there was also a proportional increase in “too much salt” sensation. Storage didn’t influence the JAR scores significantly ( $P > 0.05$ ).

### Microbiological Properties

We did not find any yeast and mould growth in samples during 20d. Starter bacteria counts (*S. thermophilus* and *L. bulgaricus*) are given in Table 6. Use of salt replacers didn’t influence *S. thermophilus* counts at any storage point and counts were stable in first 10 days. At day 20, there was an increase in *S. thermophilus* counts for all samples except for sample B and D. As for the *L.*

*bulgaricus*, we did not observe differences between samples at day 1, however statistically significant differences were observed at day 10 and day 20 ( $P<0.05$ ). Changes in the yogurt bacteria counts during storage show differences in different studies. Tamuçay-Özünlü and Koçak (2010)

didn't see any change in yogurt bacteria counts during 14 days of storage while Avşar et al. (2001) observed an increase after 7 days of storage contrary to Kurultay et al. (1998) and Şimşek et al. (2007), who reported a decrease in the counts after 15 days.

Table 6. Change in the mean *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* counts of Ayran samples

	<i>S. thermophilus</i> count (log cfu/g)			<i>L. bulgaricus</i> count (log cfu/g)		
	Storage time (days)					
	1	10	20	1	10	20
A	8.53±0.01 <sup>a,A</sup>	8.41±0.03 <sup>a,A</sup>	9.02±0.18 <sup>a,B</sup>	4.85±0.00 <sup>a,B</sup>	4.27±0.00 <sup>a,A</sup>	4.60±0.11 <sup>a,B</sup>
B	8.39±0.14 <sup>a,A</sup>	8.51±0.06 <sup>a,A</sup>	8.75±0.02 <sup>a,A</sup>	4.35±0.49 <sup>a,A</sup>	4.51±0.01 <sup>b,A</sup>	4.56±0.07 <sup>a,A</sup>
C	8.51±0.08 <sup>a,A</sup>	8.58±0.03 <sup>a,A</sup>	8.86±0.03 <sup>a,B</sup>	5.02±0.23 <sup>a,A</sup>	4.42±0.10 <sup>ab,A</sup>	4.58±0.02 <sup>a,A</sup>
D	8.35±0.17 <sup>a,A</sup>	8.54±0.11 <sup>a,A</sup>	8.90±0.15 <sup>a,A</sup>	5.04±0.06 <sup>a,B</sup>	4.51±0.04 <sup>b,A</sup>	4.46±0.05 <sup>a,A</sup>
E	8.44±0.18 <sup>a,A</sup>	8.49±0.00 <sup>a,A</sup>	9.06±0.02 <sup>a,B</sup>	4.78±0.25 <sup>a,A</sup>	4.45±0.04 <sup>ab,A</sup>	4.49±0.07 <sup>a,A</sup>
F	8.38±0.01 <sup>a,A</sup>	8.59±0.00 <sup>a,A</sup>	8.97±0.13 <sup>a,B</sup>	4.99±0.13 <sup>a,B</sup>	4.43±0.09 <sup>ab,A</sup>	4.57±0.11 <sup>a,AB</sup>

<sup>a-c</sup> Values with different superscript letter in the same row are significantly different ( $P<0.05$ )

<sup>A-B</sup> Values with different superscript letter in the same column are significantly different ( $P<0.05$ )

A (control): 100% NaCl, B: 100% KCl, C: 70% KCl + 30% NaCl, D: 50% NaCl + 50% KCl, E: 30% KCl + 70% NaCl, F: Pansalt® (%57 NaCl + %28 KCl + %12 MgSO<sub>4</sub> + %2 L-lysine + %1 silicon dioxide)

## CONCLUSION

In this study our results showed that replacement of salt (NaCl) with mineral salt replacers to produce Ayran with acceptable levels of saltiness sensation is possible. According to our results we suggest that, replacement of NaCl with KCl should not exceed 30% and to be able to go above a 30% NaCl replacement, other salt replacers such as MgSO<sub>4</sub> and bitter blocking agents as used in Pansalt® in our study should be considered.

## ACKNOWLEDGEMENT

This study was financially supported by the Research Fund of Harran University (Project no:14025).

## CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

## AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Çağım Akbulut Çakır contributed to the planning and analysis of the experimental study, did the statistical evaluation of the data and wrote the manuscript. Ayşe Bozkurt contributed to the analysis of the experimental study and laboratory

work. All authors read and approved the final manuscript.

## REFERENCES

- Akan, E., Kinik, O. (2018). Effect of mineral salt replacement on properties of turkish white cheese, *Mljekarstvo*, 68(1): 46-56, doi: 10.15567/mljekarstvo.2018.0106
- Akbulut Çakır, Ç., Bozkurt, A. (2020). Impact of pH on the salty taste perception of the yogurt drink, ayran. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri*, 24(3): 301-309, doi: 10.29050/harranziraat.698654
- Atamer, M., Gürsel, A., Tamuçay, B., Gençer, N., Yıldırım, G., Odabaşı, S., Karademir, E., Şenel, E., Kırdar, S. (1999). Dayanıklı Ayran üretiminde pektin kullanım olanakları üzerine bir araştırma. *GIDA*, 24 (2):119-126
- Avşar, Y. K., Karagül-Yüceer, Y., Tamuçay, B., Koçak, C., White, C. H. (2001). A comparative study on the production methods of Ayran, traditional drinking yogurt of Turks. IFT Annual Meeting Technical Program, Book of Abstracts, No: 15C-1. New Orleans, Louisiana, USA
- c, J. (2017). Potassium chloride-based salt

- c, T., & Ranilović
- Cepanec, K., Vugrinec, S., Cvetković
- Cepanec, K., Vugrinec, S., Cvetković, T., Ranilović, J. (2017). Potassium chloride-based salt substitutes: A critical review with a focus on the patent literature. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 16(5): 881–894, doi: 10.1111/1541-4337.12291
- Cook, N. R., J.A. Cutler, E. Obarzanek, J.E. Buring, K.M. Rexrode, S.K. Kumanyika, J. Appel, P.K. Whelton. (2007). Longterm effects of Dietary Sodium Reduction on Cardiovascular Disease Outcomes: Observational Follow-Up Of The Trials Of Hypertension Prevention (TOHP). *Brit. Med. J.* 334:885–888, doi: 10.1136/bmj.39147.604896.55
- Costa, R.G.B., Alves, R.C., da Cruz, A.G., Sobral, D., Teodoro, V.A.M., Costa Junior, L.C. G., Miguel, E.M. (2018). Manufacture of reduced-sodium Coalho cheese by partial replacement of NaCl with KCl. *Int. Dairy J.*, 87:37–43, doi: 10.1016/j.idairyj.2018.07.012
- Costa, R.G.B., Caiafa Junior, A., Gomes da Cruz, A., Sobral, D., Gonçalves Costa Júnior, L. C., Jacinto de Paula, J. C., Martins Teodoro, V. A. (2019). Effect of partial replacement of sodium chloride with potassium chloride on the characteristics of Minas Padrão cheese. *Int. Dairy J.*, 91:48–54, doi: 10.1016/j.idairyj.2018.12.002
- Cruz, A.G., Faria, J.A.F., Pollonio, M.A.R., Bolini, H.M.A., Celeghini, R.M.S., Granato, D., Shah, N. (2011). Cheeses with reduced sodium content: effects on functionality, public health benefits and sensory properties. *Trends Food Sci. Technol.*, 22: 276–291, doi:10.1016/j.tifs.2011.02.003
- De Souza, V., Freire, T., Saraiva, C., De Deus Souza Carneiro, J., Pinheiro, A., Nunes, C. (2013). Salt equivalence and temporal dominance of sensations of different sodium chloride substitutes in butter. *J. of Dairy Res.*, 80(3):319-325, doi: 10.1017/S0022029913000204
- Doyle, M.E., K.A. Glass. (2010). Sodium reduction and its effect on food safety, food quality, and human health. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 9 (1):44-56. doi: 10.1111/j.1541-4337.2009.00096.x
- Drake M.A. (2008). Modern Sensory Practices. Pages 505-530 in: *The Sensory Evaluation of Dairy Products*. S., Clark, M., Costello, M., Drake, F., Bodyfelt, eds. Springer, New York, NY, doi: 10.1007/978-0-387-77408-4\_17
- Dugat-Bony, E., Bonnarme, P., Fraud, S., Catellote, J., Sarthou, A.S., Loux, V., Rué, O., Bel, N., Chuzeville, S., Helinck, S. (2019). Effect of sodium chloride reduction or partial substitution with potassium chloride on the microbiological, biochemical and sensory characteristics of semi-hard and soft cheeses. *Food Res. Int.* 125:1–11. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108643.
- Fitzgerald, E., Buckley, J. (1985). Effect of total and partial substitution of sodium chloride on the quality of Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* 68:3127–3134.
- Food Science and Food Safety, 16(5), 881–894
- Grummer, J., Karalus, M., Zhang, K., Vickers, Z., Schoenfuss, T. C. (2012). Manufacture of reduced-sodium Cheddar-style cheese with mineral salt replacers. *J. Dairy Sci.*, 95(6): 2830–2839, doi: 10.3168/jds.2011-4851
- Gülmez, M., Güven, A. (2003). Survival of Escherichia coli O157:H7, Listeria monocytogenes 4b and Yersinia enterocolitica O3 in Ayran and modified kefir as pre- and postfermentation contaminant. *Vet Med.- Czech*, 48(5): 126-132, doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02016.x.
- He, F.J., MacGregor, G.A. (2009). A comprehensive review on salt and health and current experience of worldwide salt reduction programmes. *J Hum Hypertens.* 23:363-84. doi: 10.1038/jhh.2008.144
- IDF, (1982). Determination of the Total Solid Content (Cheese and Processed Cheese). IDF Standard 4A, Brussels, Belgium
- IDF, (1991). International Provisional IDF Standard 152, Milk and Milk Products. Determination of Fat Content. General Guidance on the Use of Butyrometric Methods, Brussels, Belgium
- Khetra Y., Kanawjia S.K., Puri R. (2016). Selection and optimization of salt replacer,

- flavour enhancer and bitter blocker for manufacturing low sodium Cheddar cheese using response surface methodology. *LWT - Food Sci. Tech.*, 72:99-106, doi: 10.1016/j.lwt.2016.04.035
- Kloss, L., Meyer, J.D., Graeve, L., Vetter, W. (2015). Sodium intake and its reduction by food reformulation in the European Union - A review, *NFS J.*, pp. 9-19, doi: 10.1016/j.nfs.2015.03.001
- Kurultay, Ş., Öksüz, Ö., Gümüş, T. (1998). Yağlı ve yağsız sütlerden şeker ilavesiyle ve şekerli yapılan yoğurtların inkübasyon ve depolama süresine bağlı olarak bazı fiziksel-kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişiklikler. *Hasad, Aylık Gıda Tarım ve Hayvancılık*, 14 (163): 50-53.
- Metin, M. (2012). Süt teknolojisi sütün bileşimi ve işlenmesi. Ege Üniversitesi, Bornova, İzmir.
- Mozuraityte, R., Berget, I., Mahdalova, M., Grønsberg, A., Øye, E.R., Greiff, K. 2019. Sodium reduction in processed cheese spreads and the effect on physicochemical properties, *Int. Dairy J.*, 90:45-55, doi:10.1016/j.idairyj.2018.10.008
- Oysun, G. (1996). Süt ürünlerinde analiz yöntemleri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 504. Ofset Basımevi. Genişletilmiş II. Baskı, İzmir.
- Özdemir, H., Kilic, M. (2004). Influence of fermentation conditions on rheological properties and serum separation of ayran, *J. Texture Stud.*, 35:415-428, doi: 10.1111/j.1745-4603.2004.tb00604.x
- Özer, B., Robinson, R.K., Grandison, A.S., Bell, A.E. (1997). Comparison of techniques for measuring the rheological properties of labneh (Concentrated Yoghurt). *Int. J. Dairy Technol.* 50: 129-133, doi: 10.1111/j.1471-0307.1997.tb01753.x
- Özünü, B. (2005). Ayran kalitesinde bazı parametreler üzerin araştırmalar. Ankara Üniversitesi Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.
- Peng, Y., Horne, D.S., Lucey, J.A. (2009). Impact of preacidification of milk and fermentation time on the properties of yogurt, *J. of Dairy Sci.*, 92:2977- 2990, doi: 10.3168/jds.2008-1221
- Rybka S., Kailasaphaty K. (1996). Media for Enumeration of Yogurt Bacteria. *Int. Dairy J.* 6: 839-850, doi: 10.1016/0958-6946(96)00017-9
- Sheibani, A., Mishra, V., Stojanovska, L. and Ayyash, M. (2013). Salt in cheese: Health issues, reduction, replacement and release. Handbook on Cheese: Production, Chemistry and Sensory Properties. 397-418.
- Simsek, B, Sagdic O, Ozcelik S. (2007). Survival of Escherichia coli O157:H7 during the storage of Ayran produced with different spices. *J. Food Eng.* 78(2):676-680, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.11.005.
- Sinopoli, D.A., Lawless, H.T. (2012). Taste Properties of Potassium Chloride Alone and in Mixtures with Sodium Chloride Using a Check-All-That-Apply Method. *J. Food Sci.*, 77: S319-S322, doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02862.x
- Soares, C., Fernando, A. L., Alvarenga, N., Martins, A. P. L. (2016). Substitution of sodium chloride by potassium chloride in São João cheese of Pico Island. *Dairy Sci. & Tech.*, 96(5): 637-655, doi: 10.1007/s13594-016-0293-2
- substitutes: A critical review with a focus on the patent literature. *Comprehensive Reviews in*
- Tamucay-Özünü, B., Kocak, C. (2010). The effect of different heat treatments of milk on quality of ayran. *Gıda*, 35(1), 355 - 362
- Taniwaki M. H., da Silva N., Banhe A. A., Iamanaka B. T. (2001). Comparison of culture media, simplate, and petrifilm for enumeration of yeasts and molds in food. *J Food Prot.* 64 (10): 1592-1596, doi: 10.4315/0362-028x-64.10.1592.
- WHO. (2007). Reducing Salt Intake in Populations, Report of a WHO Forum and Technical meeting 5-7 October 2006, Paris, France; WHO Press Geneva, Switzerland.
- WHO. (2016a). WHO HEARTS: technical package for cardiovascular disease management in primary health care, Geneva, Switzerland.
- WHO. (2016b). SHAKE the salt habit—technical package for salt reduction, Geneva, Switzerland.

Wilson, R., E. Komitopoulou, M. Incles. (2012). Evaluation of Technological Approaches to Salt Reduction. Food and Drink Federation (FDF) and British Retail Consortium (BRC)

Zhang, Y., Cheng, Q., Yao, Y., Guo, X., Wang, R., Peng, Z. (2014). A preliminary study: Saltiness

and sodium content of aqueous extracts from plants and marine animal shell. *Eur. Food Res. Technol.*, 238, 565–571, doi: 10.1007/s00217-013-2136-1

## YUMURTA İKAMESİ OLARAK KULLANILAN ÇİYA VE KETEN TOHUMU JELİNİN PANKEK HAMURU REOLOJİSİ VE ÜRÜN ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Selen Erkoç<sup>1</sup>, İpek Özcan<sup>1</sup>, Esra Özyiğit<sup>2</sup>, Seher Kumcuoğlu<sup>1</sup>, Şebnem Tavman<sup>1\*</sup>

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

<sup>2</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa, Türkiye

Geliş / Received: 30.03.2021; Kabul / Accepted: 06.09.2021; Online baskı / Published online: 06.11.2021

Erkoç, S., Özcan, İ., Özyiğit, E., Kumcuoğlu, S., Tavman, Ş. (2021). *Yumurta ikamesi olarak kullanılan çiya ve keten tohumu jelinin pancake hamuru reolojisi ve ürün özellikleri üzerine etkisinin incelenmesi*. GIDA (2021) 46 (6) 1397-1414 doi: 10.15237/gida.GD21098.

Erkoç, S., Özcan, İ., Özyiğit, E., Kumcuoğlu, S., Tavman, Ş. (2021). *Investigation of the effects of chia and flaxseed gel used egg replacers on pancake batter rheology and product properties*. GIDA (2021) 46 (6) 1397-1414 doi: 10.15237/gida.GD21098.

### ÖZ

Bu çalışmada, yumurta beyazı ikamesi olarak çiya ve keten tohumu jeli ilavesinin pancake hamurunun reolojik özellikleri ve pancake örneklerinin bazı kalite özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çiya ve keten tohumu jeli yumurta beyazı ikamesi olarak iki farklı oranda (%50, %100) kullanılmıştır. Pancake hamurlarının akış davranışlarının üssel model ile açıklanabildiği ( $R^2=0.987-0.998$ ) ve örneklerin kayma ile incelen davranış gösterdiği saptanmıştır. Çiya ve keten tohumu jelinin kullanımıyla elastik ( $G'$ ) ve viskoz modül ( $G''$ ) değerlerinin arttığı görülmüştür. Çiya ve keten tohumu jeli oranının artmasıyla örneklerin protein içeriğinin azaldığı ( $P < 0.05$ ) belirlenmiştir. Taramalı elektron mikroskopu görüntülerinden formülasyondaki çiya ve keten tohumu jeli oranlarının artmasıyla örneklerdeki gözenekliliğin azaldığı ve çiya tohumu jelinin artmasıyla örneklerin daha katmanlı ve kırılğan bir yapı gösterdiği gözlemlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Yumurta ikameleri, bitkisel yumurta ikameleri, çiya tohumu, keten tohumu, reoloji

## INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CHIA AND FLAXSEED GEL USED EGG REPLACERS ON PANCAKE BATTER RHEOLOGY AND PRODUCT PROPERTIES

### ABSTRACT

In this study, the effects of the addition of chia and flaxseed gel as egg white replacers on the rheological properties of pancake batter and some quality properties of pancake samples were investigated. Chia and flaxseed gel were used in two different proportions (50%, 100%) as egg white replacers. It has been revealed that the flow behavior properties of pancake batters can be explained by the power law model ( $R^2=0.987-0.998$ ) and the samples exhibited shear-thinning behavior. The use of chia and flaxseed gel increased the elastic ( $G'$ ) and viscous modulus ( $G''$ ) values. It was

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: sebnem.tavman@ege.edu.tr

☎: (+90) 232 311 3016

☎: (+90) 232 311 4831

Selen Erkoç; ORCID no: 0000-0003-2188-4119

İpek Özcan; ORCID no: 0000-0003-2923-2772

Esra Özyiğit; ORCID no: 0000-0003-2579-2828

Seher Kumcuoğlu; ORCID no: 0000-0002-3663-2881

Şebnem Tavman; ORCID no: 0000-0002-6042-7482

determined that the protein content decreased with increased ratio of chia and flaxseed gel ( $P < 0.05$ ). By examining the scanning electron microscope images, porosity of the samples decreased with the increase of chia and flaxseed gel, and the samples showed a more layered and fragile structure with the increase of chia seed gel.

**Keywords:** Egg replacers, plant based egg replacers, chia seed, flaxseed, rheology

## GİRİŞ

Yumurta, yüksek protein içeriğine sahip olmasının yanı sıra, jel oluşturma, köpük oluşturma, kıvam arttırma, emülsifiye etme, renklendirme gibi çeşitli fonksiyonel özellikleri nedeniyle de gıda uygulamalarında sıkça kullanılan temel bileşenlerden biridir (Uysal vd., 2019). Ancak, yumurta tüketimi ile ilişkili çeşitli sağlık riskleri (kalp-damar hastalıkları, yumurta alerjisi) veya tüketicilerin vegan beslenmeye yönelik tercihleri yumurta yerine kullanılabilir alternatif kaynakların araştırılmasına neden olmaktadır (Agrahar-Murugkar vd., 2016; Shi vd., 2011). Bu nedenle çeşitli bitkisel proteinler (bezelye proteini, soya proteini), hayvansal proteinler (kolajen, hidrolizatlar, jelatin, peynir altı suyu konsantresi vb.), buğday nişastası, hidrokolloidler ve emülgatörlerin yumurta yerine kullanımıyla ilgili çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Kohrs vd., 2010; Tan vd., 2015).

Bitkisel proteinler, nispeten ucuz bir alternatif olmakla birlikte hayvansal proteinlerle karşılaştırılabilir derecede besleyici ve fonksiyonel özelliklere sahip olmalarından dolayı gıda endüstrisinin ilgisini çekmektedir (Sharif vd., 2018). Aynı zamanda bu ilgi, modern tüketicilerin sürdürülebilirlik ve sağlık konusunda farkındalığının artması ile de desteklenmektedir (Boye vd., 2010; McClements vd., 2017; Sharif vd., 2018). Genellikle ticari olarak kullanılan bitkisel protein kaynakları yağlı tohumlar, tahıllar ve baklagillerdir (Çetiner ve Ersus Bilek, 2018). Zengin besin içeriği dolayısıyla önemli bitkisel protein kaynaklarından olan keten ve çiya tohumları da su ile karıştırıldıklarında jel oluşturma yeteneğine sahiptir. Bu özelliğiyle, keten ve çiya tohumlarından elde edilen jeller yumurta ikamesi olarak kullanıma uygun gıdalar arasında yer almaktadır (Chen vd., 2006).

Çiya; zengin besin ögesi içeriği ve su tutma özelliği nedeniyle gıda endüstrisinde bütün halde, öğütülerek, su içinde jel halinde veya kuru halde

kıvam arttırıcı, emülgatör ve stabilizatör olarak kullanılmaktadır (Zettel ve Hitzman, 2018; Hrcic vd., 2020). Çiya tohumu kendi ağırlığından daha fazla su tutma ve su ile karıştırıldığında hızlıca jel oluşturma özelliğine sahiptir (Özbek vd., 2018; Yurt ve Gezer, 2018). Çiya jeli, sağladığı reolojik ve duysal özelliklerle beraber mükemmel stabilite ve emülsifiye edici etki göstermesi nedeniyle potansiyel bir yumurta ikamesi olarak görülmektedir (Agrahar-Murugkar vd., 2016; Gallo vd., 2020).

Keten (*Linum usitatissimum* L.) önemli bir yağlı tohum mahsulüdür ve lignanlar, fenolikler, tokoferoller, karotenoidler, yüksek kaliteli çoklu doymamış yağ asitleri (omega-3), diyet lifleri ve antioksidanlar açısından zengindir (Mannucci vd., 2019). Keten tohumunun fonksiyonel özelliklerinde en büyük rolü içerdiği proteinler üstlenmektedir. Keten tohumu proteinleri emülsifiye etme, jel oluşturma, köpük oluşturma ve stabil etme gibi fonksiyonel özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde etkili bir kıvam arttırıcı, stabilizatör ve emülgatör olarak kullanılabilir (Rabetafika vd., 2011; Safdar vd., 2019). Günlük diyetle keten tohumu direkt tohum halinde tüketilebildiği gibi gıda sektöründe tohumu veya yağı çeşitli ürünlerin içinde fonksiyonel bir gıda bileşeni olarak kullanılmaktadır. Mükemmel bir Omega-3 ve diyet lifi kaynağı olan keten tohumu, kaynatıldığında viskoz bir jel oluşturmaktadır (Rabetafika vd., 2011; Kajla vd., 2015). Gıda sektöründe yumurta ikamesi olarak kullanılmasının en önemli nedenlerinden birisi nötral polisakaritlerden oluşan müsülij içeriğidir (Tirgar vd., 2017). Keten tohumunun kuru ağırlığının %8'ini müsülij oluşturmada ve suda çözünerek düşük konsantrasyonlarda jel oluşturabilmektedir (İşleroğlu ve Yıldırım, 2005).

Yumurta ikamesi olarak keklerde çiya tohumu kullanımı (Borneo vd., 2010; Gallo vd., 2020; Agrahar-Murugkar vd., 2016) ve keten tohumu

kullanımı (Nugraheni vd., 2019) üzerine gerçekleştirilen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Borneo vd. (2010) tarafından kek örneklerinde yumurta ikamesi olarak farklı oranlarda çiya jeli kullanımının keklerin fonksiyonel, besinsel ve duyuşal özelliklerine olan etkisi incelenmiştir. Çiya jelinin çikolatalı keklerde yumurta ikamesi olarak kullanıldığı diğere bir çalışmada ise ikame kullanımının duyuşal özelliklerde olumsuz etki yaratmadığı tespit edilmiştir (Gallo vd., 2018). Nugraheni vd. (2019) çalışmasında, glutensiz ve yumurta içermeyen kurabiye geliştirilmesinde yumurta ikamesi olarak keten tohumu jeli kullanımının fiziksel, besinsel ve duyuşal özellikler üzerine etkisini incelemiştir. Ancak, pankek örneklerinde yumurta ikamesi olarak çiya ve keten tohumu jellerinin kullanımına daha az dikkat çekilmiştir.

Pankek, un, yumurta, tuz, yağ, şeker kullanılarak hazırlanan kahvaltılık veya tatlı olarak tüketilen, genellikle ince, yuvarlak, yassı bir kektir (Finnie vd., 2006; Incoronato vd., 2020). Farklı ülkelerde farklı tariflerle bilinmekle birlikte, Fransa ve Japonya'da krep, Kore'de gözleme, ülkemizde ise akıtma, kaşık dökmesi ve tava keki olarak tüketilmektedir. Sulu bir hamur yapısına sahip olan pankekte pişirilirken hafif ve kabarık bir doku gözlenmektedir (Cho vd., 2019). Yumurta ikamesi olarak çiya ve keten tohumu jeli kullanımı hamur yapısında değişikliklere neden olarak son üründe etkili olmaktadır. Gıda sistemlerinde unların ve tohumların suyu absorplama ve şişme özelliklerini tanımlayan, ürünlerin kıvamı ile yapısı hakkında bilgi veren su absorplama indeksi (WAI), yapıda meydana gelen değişimlerin belirlenmesinde değerlendirilmektedir (Choi vd., 2012). Hamurların viskoelastik özelliklerinin tanımlanmasında, elastik modül ( $G'$ ) değerleri ve viskoz modül ( $G''$ ) değerleri incelenerek yapıda baskın karakterin belirlenmesi sağlanmaktadır. Akış davranış özellikleri ise akış davranış indeksi ( $n$ ) ve kıvam indeksi ( $K$ ) değerleri incelenerek belirlenmektedir.  $n$  değeri akış davranışı hakkında bilgi vermekte ve  $n=1$ ,  $n<1$ ,  $n>1$  olacak şekilde sırasıyla Newton tipi akış, kayma ile incelme ve kayma ile kalınlaşma özelliklerini tanımlamaktadır (Singh ve Heldman, 2014).  $K$  ise gıdalarda viskoz

davranışın bir göstergesi olmaktadır (Koocheki et al. 2009).

Çalışma kapsamında yumurta beyazı ikamesi olarak çiya ve keten tohumu jeli kullanılarak çeşitli nedenlerle yumurta tüketmeyen bireylerin tüketimine uygun pankek geliştirilmesi, çiya ve keten tohumu jelinin yumurta ikamesi olarak kullanımının hamur reolojisi ve pankek kalitesi üzerine olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Çiya ve keten tohumu jellerinin üretiminde çiya ve keten tohumu (Yayla Agro Gıda San. ve Nak. A.Ş., Ankara) kullanılmıştır. Pankek örneklerinin üretiminde buğday unu (Söke, Aydın), yumurta beyazı, şeker, tuz, su, vanilya, kabartma tozu (Dr-Oetker Gıda San. ve Tic. A.Ş., İzmir) ve farklı oranlarda çiya tohumu ve keten tohumu jelleri kullanılmıştır.

### YÖNTEM

#### Çiya ve Keten Tohumu Jelinin Hazırlanması

Çiya jeli, Borneo vd. (2010) tarafından belirtilen yöntem kullanılarak hazırlanmıştır. Buna göre çiya tohumları, çiya tohumu:su oranı 1:9 (g/g) olacak şekilde 30 dakika suda bekletilmiştir. Keten tohumu jeli El-Sayed vd. (2014) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek hazırlanmıştır. Keten tohumu, keten tohumu:su oranı 1:20 (g/ml) olacak şekilde 100 °C'de 30 dakika boyunca suyla karıştırılarak 8 saat oda sıcaklığında bekletilmiş, daha sonra keten tohumları ayrılarak jel elde edilmiştir.

#### Pankek Örneklerinin Üretimi

Pankek örneklerinin hazırlanmasında Shih vd. (2006) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilmiştir. Çiya (%50, 100) ve keten tohumu (%50, 100) jelleri formülasyona ayrı ayrı olacak şekilde yumurta beyazı ile yer değiştirilerek ilave edilmiştir. Sadece yumurta beyazı içeren örnek kontrol (K) olarak adlandırılmıştır. Pankek örneklerinin formülasyonları Çizelge 1'de belirtilmiştir.



Pankek hamurunun hazırlanması amacıyla kuru malzemelerin tümü karıştırılmıştır. Çiya tohumu jeli/keten tohumu jeli ve su ayrı bir kaptaki karıştırıldıktan sonra kuru malzemeler sıvı malzemelere eklenerek, 45 saniye boyunca spatula

yardımıyla karıştırılmıştır. Karıştırma işleminden sonra 40 g hamur önceden yağlanmış ve ısıtılmış bir tavada 3 dakika pişirildikten sonra diğer yüzü çevrilip 3 dakika pişirilmiştir.

Çizelge 1. Farklı oranlarda yumurta ikamesi olarak çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli ile oluşturulan pankek örneklerinin formülasyonu (g)

Malzemeler (Ingredients)	K (C)	%50 C (50% C)	%100 C (100% C)	%50 KT (50% FS)	%100 KT (100% FS)
Buğday unu ( <i>wheat flour</i> )	100	100	100	100	100
Yumurta beyazı ( <i>egg white</i> )	40	20	0	20	0
Keten tohumu jeli/Çiya tohumu jeli ( <i>Flaxseed gel/ Chia seed gel</i> )	0	20	40	20	40
Şeker ( <i>Sugar</i> )	20	20	20	20	20
Tuz ( <i>Salt</i> )	2	2	2	2	2
Kabartma tozu ( <i>Baking powder</i> )	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
Su ( <i>Water</i> )	108.5	108.5	108.5	108.5	108.5

K: Kontrol örneği (K: Control sample)

%50 C: %50 çiya tohumu jeli içeren pankek örneği (50% C: Pancake sample containing 50% chia seed gel)

%100 C: %100 çiya tohumu jeli içeren pankek örneği (100% C: Pancake sample containing 100% chia seed gel)

%50 KT: %50 keten tohumu jeli içeren pankek örneği (50% FS: Pancake sample containing 50% flaxseed gel)

%100 KT: %100 keten tohumu jeli içeren pankek örneği (100% FS: Pancake sample containing 100% flaxseed gel)

### Çiya ve Keten Tohumunda Gerçekleştirilen Analizler

#### Çiya ve Keten Tohumunun Su Absorplama İndeksinin Belirlenmesi

Çiya ve keten tohumlarının su absorplama indeksi (WAI) değerleri, Choi vd. (2012)'de verilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. 3 g keten tohumu veya çiya tohumu 30 ml distile su ile karıştırılıp su banyosunda 60°C'de 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra örnek Universal 320R santrifüj kullanılarak (Hettich Zentrifugen, Tuttingen, Almanya) 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve elde edilen çökelti tartılmıştır. Örneklerin su absorplama indeksi Eşitlik (1) ile hesaplanmıştır.

$$WAI (g/g) = \frac{\text{Katı faz ağırlığı}}{\text{Örnek ağırlığı}} \quad (1)$$

#### Çiya ve Keten Tohumu Jelinin Protein Miktarının Belirlenmesi

Yumurta akı, çiya tohumu jeli ve keten tohumu jelinin protein içeriği FP-528 Nitrogen/Protein Analizörü (Leco, St. Joseph, ABD) kullanılarak

belirlenmiştir. Analiz öncesinde örnekler Alpha 1-2 LD plus liyofilizatör (Martin Christ, Göttingen, Almanya) ile -56°C'de 48 saat kurutulmuştur.

### Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi

Çiya tohumu jeli ve keten tohumu jelinin yapılarının analiz edilmesi amacıyla Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi kullanılmıştır. Çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli örneklerinin kızılötesi spektrumları, Spectrum Two Zayıflatılmış Toplam Yansıma (ATR)- FTIR cihazı (Perkin Elmer, Waltham, ABD) kullanılarak 4000-600 cm<sup>-1</sup> dalga boyunda ölçülmüştür (Rosas-Mendoza vd., 2017).

### Pankek Hamurunda Gerçekleştirilen Analizler

#### Yoğunluk

Pankek hamurlarında yoğunluk ölçümü 100 ml hacme sahip Elcometer 1800 piknometre (Elcometer, Manchester, İngiltere) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Piknometre analiz öncesinde

boş olarak tartılmış ve daha sonrasında hamur örnekleri piknometreye doldurulmuştur. Fazla örnek temizlendikten sonra tartım alınıp elde edilen değer kaydedilmiştir. Yoğunluk değerleri örneklerin kütlelerinin hacimlerine bölünmesiyle elde edilmiştir (Gularte vd., 2012).

### Reolojik Özellikler

Kek hamurlarında reolojik özelliklerin belirlenmesi amacıyla DHR-3 reometre (TA Instruments Inc., New Castle, ABD) kullanılmıştır. Hazırlanan hamur örnekleri bekletilmeden analiz edilmişlerdir. Analizler  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 'de, plakalar arası boşluk 1 mm olacak şekilde 40 mm çaplı paralel plaka kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin doğrusal viskoelastik özellik gösterdiği bölgenin tespit edilmesi amacıyla, 10 rad/s sabit frekansta ve  $10^{-2}$ -100 gerinim aralığında gerinim tarama testi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda belirlenen sabit gerinim değerinde 0.01-10 Hz aralığında frekans tarama testi gerçekleştirilmiştir. Frekans tarama testi ile hamurun elastik modül ( $G'$ ), viskoz modül ( $G''$ ),  $\tan\delta$  değerlerinin frekans ile değişimi incelenmiştir. Örneklerin akış davranışlarını belirlemek amacıyla, kayma hızı 0.01-100  $\text{s}^{-1}$  aralığında lineer olarak arttırılarak gerçekleştirilen analiz sonucunda, kayma gerilimi ve görünür viskozitenin kayma hızı ile değişimi değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere Üssel (Power Law) model (2) uygulanarak akış davranışı belirlenmiştir (Ronda vd., 2011).

$$\sigma = K_{cp} \cdot \dot{\gamma}^n \quad (2)$$

Eşitliklerde verilen  $\sigma$ ; kayma gerilimini (Pa),  $\dot{\gamma}$ ; kayma hızını ( $1/\text{s}$ ),  $K_{cp}$ ; kıvam indeksini ( $\text{Pa} \cdot \text{s}^n$ ) ve  $n$  akış davranışı indeksini göstermektedir. Analizler 2 paralel, 3 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması verilmiştir.

### Pankek Örneklerinde Gerçekleştirilen Analizler

#### Bileşim

Örneklerin bileşimlerini belirlemek amacıyla nem, kül, ham yağ ve protein analizleri gerçekleştirilmiştir. Buna göre analizler, nem değerleri metot AACC (2000) 44-15A, kül miktarı AACC (2000) metot 08-01, ham yağ miktarı

AACC (2000) metot 30-25 ve protein değerleri AACC (2000) metot 46-30'a göre gerçekleştirilmiştir.

#### Doku Profil Analizi

Örneklerin doku profili analizi, pişirme işleminden 24 saat sonra TA-XT2i Tekstür analizörü (StableMicrosystems, Surrey, İngiltere) cihazı ile Fajardo ve Ross (2015) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Analiz, 25 mm çaplı alüminyum silindirik prob ile 2 mm/s test hızında, trigger kuvveti 50 g ve %50 gerilim ile gerçekleştirilmiştir.

#### Renk

CM-400d Minolta Colour Reader (Konica Minolta, Osaka, Japonya) kullanılarak örneklerin yüzey ve iç rengi belirlenmiştir. Farklı örneklerde, farklı oranlarda çiya tohumu jeli veya keten tohumu jeli kullanımının etkisi  $L^*$  (parlaklık),  $a^*$  (+ kırmızı, - yeşil),  $b^*$  (+ sarı, - mavi) renk değerleri ölçülerek belirlenmiştir (Bozdoğan vd., 2019).

### Duyusal değerlendirme

Farklı oranlarda yumurta beyazı ikamesi olarak çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli ile oluşturulan pankek örneklerinin duysal değerlendirmesi Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümündeki öğretim elemanı ve lisansüstü öğrencilerinden yarı eğitilmiş 10 panelistin katılımıyla gerçekleştirilmiştir. Örneklerin duysal değerlendirmesinde hedonik skala testi kullanılarak panelistlerin 5 farklı pankek örneklerini görünüş, renk, doku, lezzet ve genel beğeni kategorilerinde puanlamaları istenmiştir. Duyusal değerlendirme için kullanılan hedonik skala "Çok Kötü": 1, "Kötü": 2, "Orta": 3, "İyi": 4 ve "Çok İyi": 5 olmak üzere puanlandırılmıştır (Altuğ Onoğur ve Elmacı, 2015).

### Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

Üretilen örneklerin mikro-yapısının belirlenmesi amacıyla taramalı elektron mikroskopisi kullanılmıştır. Pişirilen örnekler, iç kısımlarından  $1 \text{ cm}^3$  hacminde küpler kesilerek Alpha 1-2 LD plus liyofilizatör (Martin Christ, Göttingen, Almanya) ile  $-56^\circ\text{C}$ 'de 24 saat kurutulmuş ve altın

ile kaplanmıştır. SEM analizi, Apreo S taramalı elektron mikroskobu (Thermo Scientific, Waltham, ABD) ile gerçekleştirilmiştir. Görüntüler 1000x büyütme oranında alınmıştır.

### İstatistiksel analiz

Deneysel veriler farklı formülasyonlar arasında önemli fark ( $P < 0.05$ ) bulunup bulunmadığını belirlemek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Önemli düzeyde fark bulunduğu karşılaştırma için Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

## SONUÇ ve TARTIŞMA

### Çiye ve Keten Tohumu Özellikleri

#### Çiye ve Keten Tohumunun Su Absorplama İndeksi

Keten tohumu ve çiye tohumunun öğütülmüş halinde belirlenen WAI değerlerinin sırasıyla, 3.55 ve 5.83 g/g olduğu saptanmıştır (Çizelge 2). Literatürde çiye tohumu ve keten tohumunun su absorplama indeksleri (WAI) sırasıyla 5.1 ve 3.77 g/g olarak tespit edilmiştir (Hatamian vd., 2020; Kumar vd., 2019). Pankek formülasyonunda keten tohumu ve çiye tohumu jellerinin kullanımının örneklerin su absorplama indekslerini etkileyerek yapıda değişikliğe neden olduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada da çiye tohumu jelinin protein içeriğinden dolayı iyi bir su absorplama kapasitesine sahip olduğu ortaya konmuştur (Olivos-Lugo vd., 2010).

Çizelge 2. Çiye ve keten tohumlarının su absorplama indeksleri

Table 2. Water absorption indexes of chia and flaxseed

Örnek (Sample)	WAI (g/g)
Çiye Tohumu (chia seed)	5.83±0.12 <sup>b</sup>
Keten Tohumu (flaxseed)	3.55±0.08 <sup>a</sup>

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan fark olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

Different letters in the same column (a, b) indicate a statistically significant difference ( $P < 0.05$ )

### Çiye ve Keten Tohumu Jellerinin Protein Miktarının Belirlenmesi

Yumurta akı, çiye tohumu jeli ve keten tohumu jelinin protein içeriği Çizelge 3'te verilmiştir. %72.75 ile en yüksek protein içeriğine sahip örneğin yumurta beyazı olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Çiye tohumu jeli ve keten tohumu jelinin

protein içeriği sırasıyla %4.50 ve %4.9 olarak tespit edilmiştir. Keten tohumu jelinin protein içeriği çiye tohumu jelinden biraz daha yüksek olsa da aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $P > 0.05$ ). Yumurta beyazı yaş temelde yaklaşık %9.7-%10.6 proteine sahipken çiye tohumu jelinin ise kuru temelde %3.5 proteine sahip olduğu bildirmiştir (Mine, 1995; Coorey vd., 2014). Bu çalışmada da literatür ile uyumlu şekilde, yumurta beyazının protein içeriği keten ve çiye tohumu jelinden daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 3. Yumurta akı, çiye tohumu jeli ve keten tohumu jelinin protein miktarı değerleri

Table 3. Protein content of egg white, chia seed gel and flaxseed gel

Örnek (Sample)	Protein miktarı* (Protein content)
Yumurta beyazı (Egg white)	72.75±0.27 <sup>b</sup>
Çiye tohumu jeli (chia seed gel)	4.50±0.18 <sup>a</sup>
Keten tohumu jeli (flaxseed gel)	4.90±0.96 <sup>a</sup>

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan fark olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

Different letters in the same column (a, b) indicate a statistically significant difference ( $P < 0.05$ )

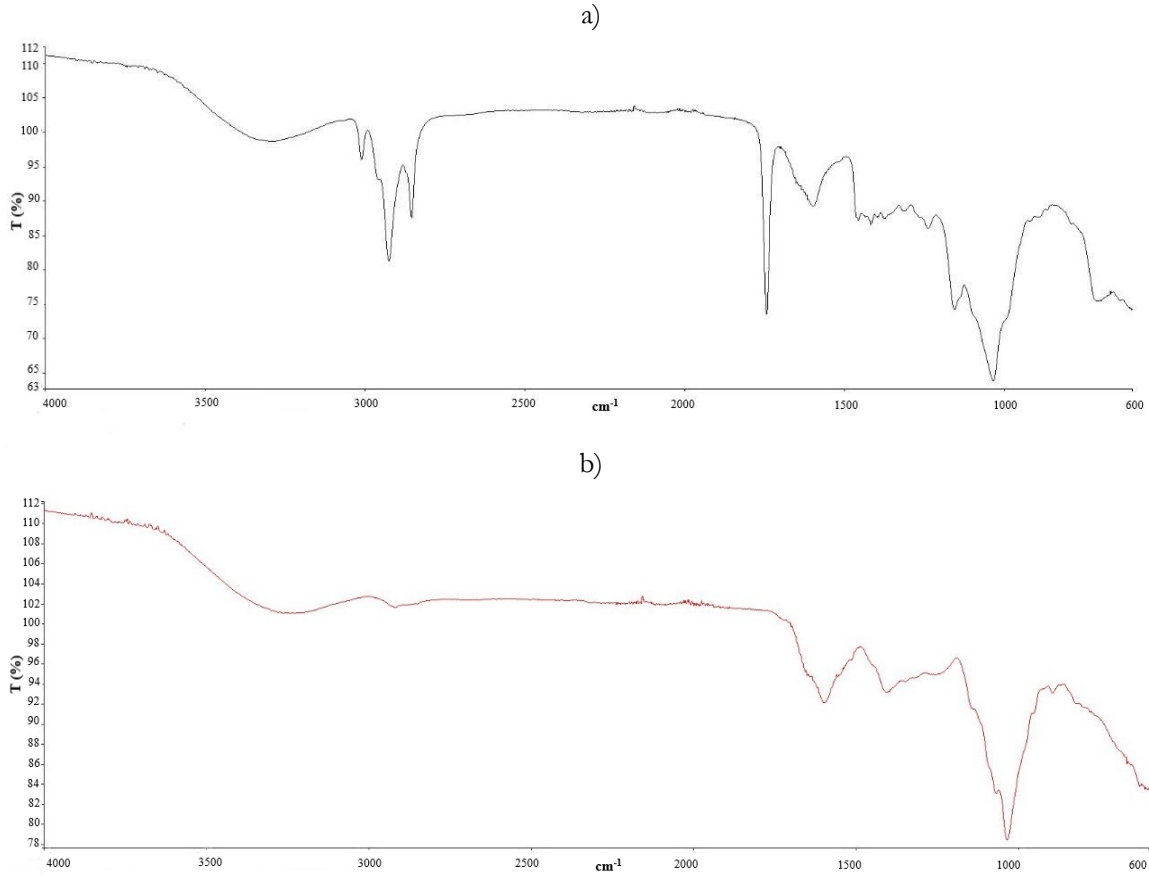
\*Kuru temelde \* Dry basis

### FTIR analizi

Çiye tohumu jeli ve keten tohumu jeli örneklerinin kimyasal bileşimlerini karakterize etmek amacıyla FTIR spektroskopisinden yararlanılmıştır. Çiye tohumu jeli ve keten tohumu jelinin FTIR spektrumu Şekil 1'de verilmiştir. Çiye tohumu jeli örnekleri için 3100-3700  $\text{cm}^{-1}$  aralığındaki bantlar, protein içeriğinin (N-H) gerilmesini temsil etmektedir. Ayrıca 1700-1550  $\text{cm}^{-1}$  ve 1600-1980  $\text{cm}^{-1}$  bölgesi, proteini karakterize eden Amid I gruplarının varlığını göstermektedir. Çiye tohumu jeli durumunda 1500-1900  $\text{cm}^{-1}$ , 1550  $\text{cm}^{-1}$ , 1400  $\text{cm}^{-1}$  bantları, saptanan üronik asit varlığına katılmış olan üronik asitlerin karboksil grubunun (-COO-) göstergesidir. Çiye tohumu ve jeli için 1654  $\text{cm}^{-1}$  ve 1618  $\text{cm}^{-1}$  'deki iletim bantları mannoz halkasını temsil etmektedir. Ek olarak, çiye tohumu için 1750  $\text{cm}^{-1}$  ve 1200  $\text{cm}^{-1}$ , piranoz halkasında bulunan C = O ve C-O-C'yi temsil etmektedir. 1080  $\text{cm}^{-1}$  'de bant, 1 → 4 glikosidik bağ halkası titreşimi ve C-OH bükülmesinin C-O-C'sini göstermekte ve polisakkaritlerin özelliği

olarak kabul edilmektedir (Darwish vd., 2018). Keten tohumu jeli için  $1600\text{ cm}^{-1}$  C = O asimetric germe titreşimi, keten tohumu jelindeki bağılı suyun varlığını gösteren karboksil grubuna bağılıdır. Karboksil grubu iyonlar için bir bağlanma yeri görevi görmesi nedeniyle jelleşme ve reolojik özellikler üzerinde büyük bir etkiye sahiptir.  $1400\text{ cm}^{-1}$ 'deki emilim, C – O germe titreşimi olarak adlandırılmakla birlikte üronik asitlerin varlığını göstermektedir.  $800\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$  arasındaki alan karbonhidratlar için parmak izi bölgesi olarak kabul edilmektedir.  $1100\text{ cm}^{-1}$  de gözlenen pik glikozidik bağlarının  $\text{YC-O-C}$  ve C-

OH varlığını göstermektedir. Ayrıca,  $1020\text{ cm}^{-1}$  'deki emilim, glukoz birimlerinin varlığı hakkında bilgi vermektedir.  $3100\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen geniş ve güçlü bir tepe, hidroksil grubunun (OH) gerilme titreşiminin varlığını göstermektedir (Fang vd., 2020). Çiya tohumu ve keten tohumundan elde edilen jellerin literatürdeki diğer çiya ve keten tohumu jel örnekleri ile benzer FTIR spektrumları sergilediği görülmüştür (Deng vd., 2020; Muñoz-González vd., 2019; Safdar vd., 2020; Safdar vd., 2019; Darwish vd., 2018; Fang vd., 2020).



Şekil 1. Çiya tohumu ve keten tohumu jelinin FTIR spektrumu. a) çiya tohumu jeli; b) keten tohumu jeli

Figure 1. FTIR spectrum of chia seed gel and flaxseed gel. a) chia seed gel; b) flaxseed gel

### Pankek Hamur Özellikleri

#### Yoğunluk

Farklı oranlarda yumurta ikamesi kullanılarak elde edilen hamurların yoğunluk değerleri  $1.086\text{-}1.132$  (g/ml) arasında değişiklik göstermekte olup, çiya

ve keten tohumu kullanımının örneklerin yoğunluk değerlerinde artışa neden olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 4). Hamurların yoğunluk değeri, hamur içerisinde tutulan hava miktarının bir göstergesi olarak kabul

edilmektedir. Hamur içerisinde bulunan hava miktarı arttıkça, yoğunluk değeri düşerek yüksek hacimli ürün elde edilmektedir (Gómez et al., 2007).

Çizelge 4. Farklı oranlarda çiya ve keten tohumu jeli içeren örnekler için yoğunluk değerleri  
Table 4. Density of samples containing different proportions of chia and flaxseed gel.

Örnek (Sample)	Yoğunluk (g/ml) (Density g/ml)
Kontrol (Control)	1.086±0.01 <sup>a</sup>
%50 KT (50% FS)	1.115±0.009 <sup>b</sup>
%100 KT (100% FS)	1.268±0.002 <sup>c</sup>
%50 C (50% C)	1.16±0.007 <sup>d</sup>
%100 C (100% C)	1.135±0.008 <sup>c</sup>

Aynı sütunda bulunan değerler arasında farklı harf içeren örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ( $P < 0.05$ ).

Different letters in the same column (a, b, c, d, e) indicate significant differences between means ( $P < 0.05$ ).

#### Reolojik Özellikler

##### Akış davranışı

Yumurta ikamesi olarak çiya ve keten tohumu jeli kullanımının hamurların akış davranış özelliklerine olan etkisi 0.01-100 s<sup>-1</sup> kayma hızı aralığında incelenmiştir (Şekil 2). Kayma hızı arttıkça keten tohumu jeli içeren örneklerde kayma gerilimi değerleri artış gösterirken, çiya tohumu jeli içeren örneklerde, %50 çiya tohumu jeli içeren örneklerde azalma, %100 çiya tohumu jeli içeren örneklerde ise artış olduğu belirlenmiştir. Kayma hızına karşılık kayma gerilimi grafiğinden elde edilen deneysel verilere en iyi uyumun üssel model ile elde edildiği gözlemlenmiştir ( $R^2=0.987-0.998$ ). Üssel model uygulanarak belirlenen kıvam katsayısı ( $K$ ) ve akış davranış indeksi ( $n$ ) Çizelge 5'te belirtilmektedir. Elde edilen  $n$  değerleri 0.352-0.490 aralığında değişmekte ve kayma ile incelen özellik göstermektedir ( $P < 0.05$ ).  $K$  değerleri, 18.332-33.997 Pa.s<sup>n</sup> aralığında değişmekte ve keten tohumu içeriği arttıkça kıvam indeksi değerleri artış göstermekte; en yüksek  $K$  değeri ise %100 çiya tohumu jeli içeren örnek olarak bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Yumurta ikamesi olarak farklı tohum jeli kullanımı sonucunda örneklerin viskozite değerlerinde, %50 çiya tohumu jeli içeren örnek dışında viskozite değerlerinde artış olduğu belirlenmiştir. Hamur örneklerinde yüksek su absorplama kapasitesine sahip bileşenlerin kullanımı, partiküllerin serbest su içerisindeki hareketliliğini azaltarak, görünür viskozite değerlerini arttırmaktadır (Ronda vd., 2011). Çiya ve keten tohumu jeli ile hazırlanan örneklerin de yüksek su absorplama kapasitelerine bağlı olarak hamurların görünür viskozite değerlerini arttırdığı görülmektedir. Tüm örneklerde kayma hızı arttıkça görünür viskozite değerlerinde azalma gözlemlenerek, kayma ile incelen (psödoplastik) yapı görülmektedir. Yumurta ikamesi olarak çiya tohumu kullanılan bir çalışmada örneklerin akış davranışının, Casson model ve Herschel Bulkley modele uyumluluğu incelenmiştir. Buna göre çiya tohumu ile hazırlanan örneklerde Casson ve Herschel Bulkley modellere uyumun oldukça düşük olduğu ve elde edilen  $r^2$  değerlerinin sırasıyla 0.46 ve 0.52 olduğu belirtilmiştir (Agrahar-Murugkar vd., 2016). Benzer şekilde kek örneklerinde yumurta ikamesi olarak peynir altı suyu proteinin kullanıldığı bir çalışmada hamurların akış davranış özelliklerinin Power Law modele uyumluluğu incelenmiş ve peynir altı suyu proteini kullanımı ile  $n$  değerlerinin yumurta içeren örneklerle kıyasla artış gösterdiği (0.2-0.5); kıvam indeksi değerlerinde ( $k$ ) ise azalma olduğu (0-160 Pa.s<sup>n</sup>) belirlenmiştir (Tan vd., 2015).

Reolojik özellikler doğrusal bölgede gerilim ve gerinime bağlı olmamakta ve belli bir gerinim değerinden sonra modül değerleri azalarak doğrusal olmayan bölgeye geçiş yapılmaktadır. Bu nedenle frekans tarama testlerinden önce örneklerin doğrusal bölgede olduğu aralık belirlenmektedir (Steffe, 1996). Tüm pankek hamur örneklerinin elastik modül ( $G'$ ) değerleri, viskoz modül ( $G''$ ) değerlerinden daha yüksektir ve hamurun yapısında elastik karakter baskın olmaktadır (Şekil 3). %50 çiya tohumu jeli içeren örnek hariç pankek hamur formülasyonunda tohum jeli kullanım oranı arttıkça elde edilen elastik ve viskoz modül değerleri de artış göstermektedir. Su absorplama kapasitesi yüksek çiya ve keten tohumu jeli kullanımı ile partiküllerin

hareketliliğinin azalması sonucu viskoelastikliğin de artış gösterdiği düşünülmektedir. Benzer şekilde, glutensiz muffin hamurlarında farklı su absorplama kapasitesine sahip protein kaynaklarının kullanımında, WAI değerinin artmasına bağlı olarak elastik ve viskoz modül değerlerinin de arttığı belirtilmiştir (Shevkani vd. 2015).

Örneklerin viskoelastik davranışları gerilim tarama testi sonucunda belirlenen sabit gerinim değerinde, gerinim oranının uygulanmasıyla hamurların viskoz ve elastik davranışlarındaki değişim kaydedilerek belirlenmektedir (Steffe, 1996). Frekans tarama testi ile elde edilen sonuçlara göre jel içeriği arttıkça örneklerin elastik modül değerlerinin artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Viskoz modül değerleri incelendiğinde ise tohum jeli ile hazırlanan örneklerde kontrol grubuna karşılık artış olduğu görülmektedir (Şekil 4). Elastik modül değerleri, tüm örnek grupları için viskoz modül değerlerinden daha yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla kayıp tanjant değerleri ( $\tan\delta$ ) değerleri 1'den küçük olmakta ve örnekler katı elastik benzeri yapı göstermektedir (Weipert, 1990). Çiya tohumu jelinin yüksek su absorplama kapasitesine sahip olması hamurların elastikiyetini arttırması ile ilişkilendirilebilmektedir (Moreira vd., 2013). Lee vd. (2004), çalışmalarında yulaf kepeği ve keten tohumunu pastacılık yağı ikamesi olarak kek örneklerinde kullanmış ve hamur örneklerinin  $G'$  ve  $G''$  değerlerinin frekansla değişimini incelemişlerdir. Buna göre  $10^{-2}$  ve  $10^2$  Hz aralığında, örneklerde yağ ikamesi olarak keten tohumu içeriğinin arttırılmasıyla  $G'$  ve  $G''$  modül değerlerinin  $10^2$ - $10^4$  aralığında frekansa bağlı olarak artış gösterdiği belirtilmiştir.

### Pankek Örneklerinin Özellikleri

#### Bileşim

Çizelge 6'da yumurta beyazı ikamesi olarak çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli kullanımının pankek örneklerinin nem, kül, yağ ve protein değerleri üzerine olan etkisi verilmektedir. Örneklerin nem içeriğinin %45.94 ve %49.85 aralığında değiştiği, çiya tohumu jeli kullanılarak hazırlanan örneklerin en yüksek nem içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Hargreaves

ve Zandonadi (2018) tarafından yapılan çalışmada da glutensiz kek örneklerinde formülasyona çiya tohumu jeli eklenmesi ile nem içeriğinin arttığı gözlemlenmiştir. Çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli içeren örneklerin daha yüksek nem içeriğine sahip olması, çiya ve keten tohumunun su absorplama, jel oluşturma ve protein ağıyla interaksiyona girebilme özellikleri ile açıklanabilmektedir (Hargreaves ve Zandonadi, 2018; Zettel ve Hitzman, 2018; Rabetafika vd., 2011). Örneklerin protein içeriğinin %7.48 ile %4.4 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. En yüksek protein içeriğine sahip örneğin kontrol örneği, en düşük protein içeriğine sahip örneğin ise %100 çiya tohumu jeli içeren örnek olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Jel örneklerinin protein içeriği incelendiğinde (Çizelge 3), keten tohumu jeli ile çiya tohumu jeli arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmese de değerler arasında az bir farkla keten tohumu jelinin protein içeriğinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu doğrultuda, aynı oranda çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli içeren pankek örneklerine bakıldığında keten tohumu jeli içeren örneklerin daha yüksek protein içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Bu çalışmada elde edilen bulgulara benzer şekilde, Hargreaves ve Zandonadi (2018), çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli kullanarak hazırladığı keklerin protein içeriğinin %5.92 ile 5.69 arasında değiştiğini bildirmiştir. Örneklerin kül ve yağ değerlerinde çiya tohumu jeli ve keten tohumu jelinin kullanımı ile anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ( $P > 0.05$ ).

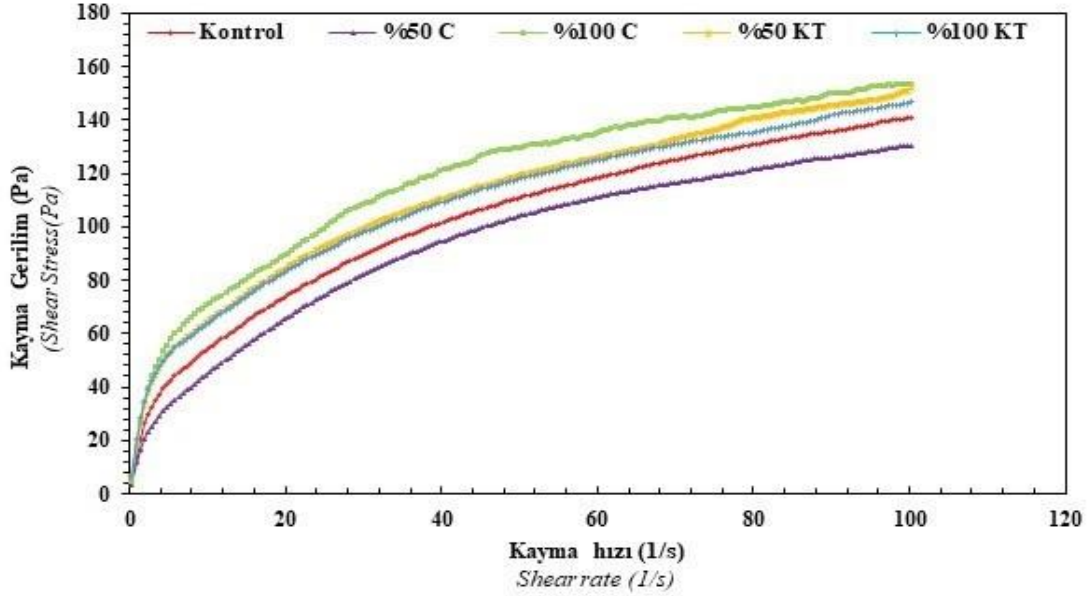
#### Doku Profil Analizi

Farklı formülasyonlar kullanılarak hazırlanan pankek örnekleri; sertlik, esneklik, yapışkanlık, sakızimsılık, çiğnenebilirlik ve elastiklik açısından incelenmiş; sonuçlar Çizelge 7'de verilmiştir. Kullanılan yumurta ikamesi tipi ve oranı örneklerin sertlik değerlerinde anlamlı bir fark oluşturmuştur ( $P < 0.05$ ). %100 keten tohumu jeli içeren pankek en sert örnek olurken %100 çiya tohumu jeli içeren pankek örneği ise en yumuşak örnek olmuştur. En yüksek yoğunluğa sahip hamurun %100 keten tohumu jeli içeren hamur olduğu tespit edilmiştir. Hamur yoğunluğunun artması sonucunda hamurda tutulan hava kabarcıkları azalmakta ve daha sert yapıda ürün

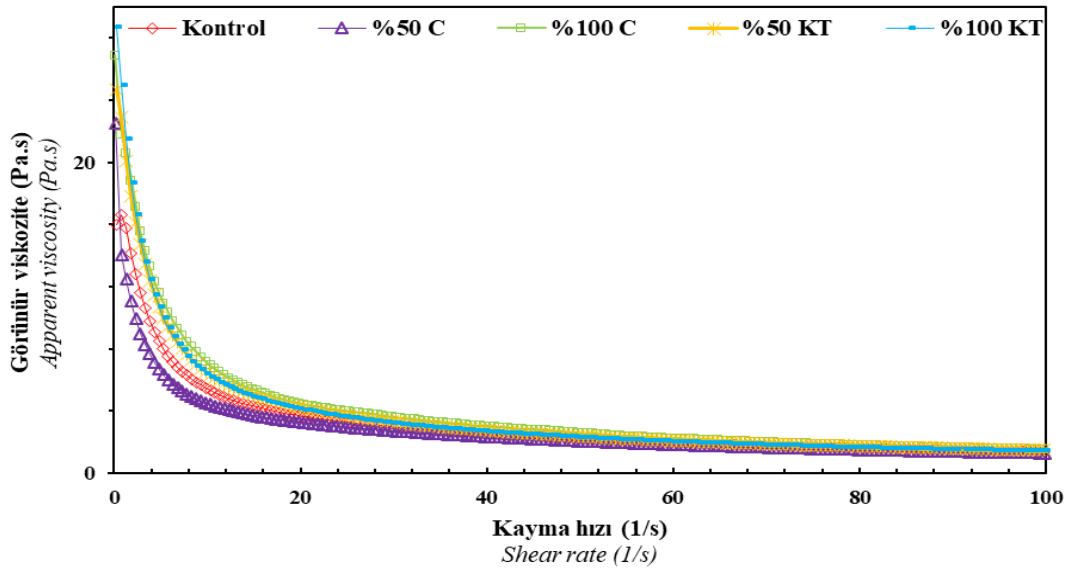
oluşmaktadır. Levent vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada keten tohumu içeren keklerin kontrol örneğinden daha sert olduğu, Agrahar-Murugkar vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada

ise çiya tohumu içeren örneklerin kontrol örneğinden daha yumuşak olduğu tespit edilmiştir.

a)

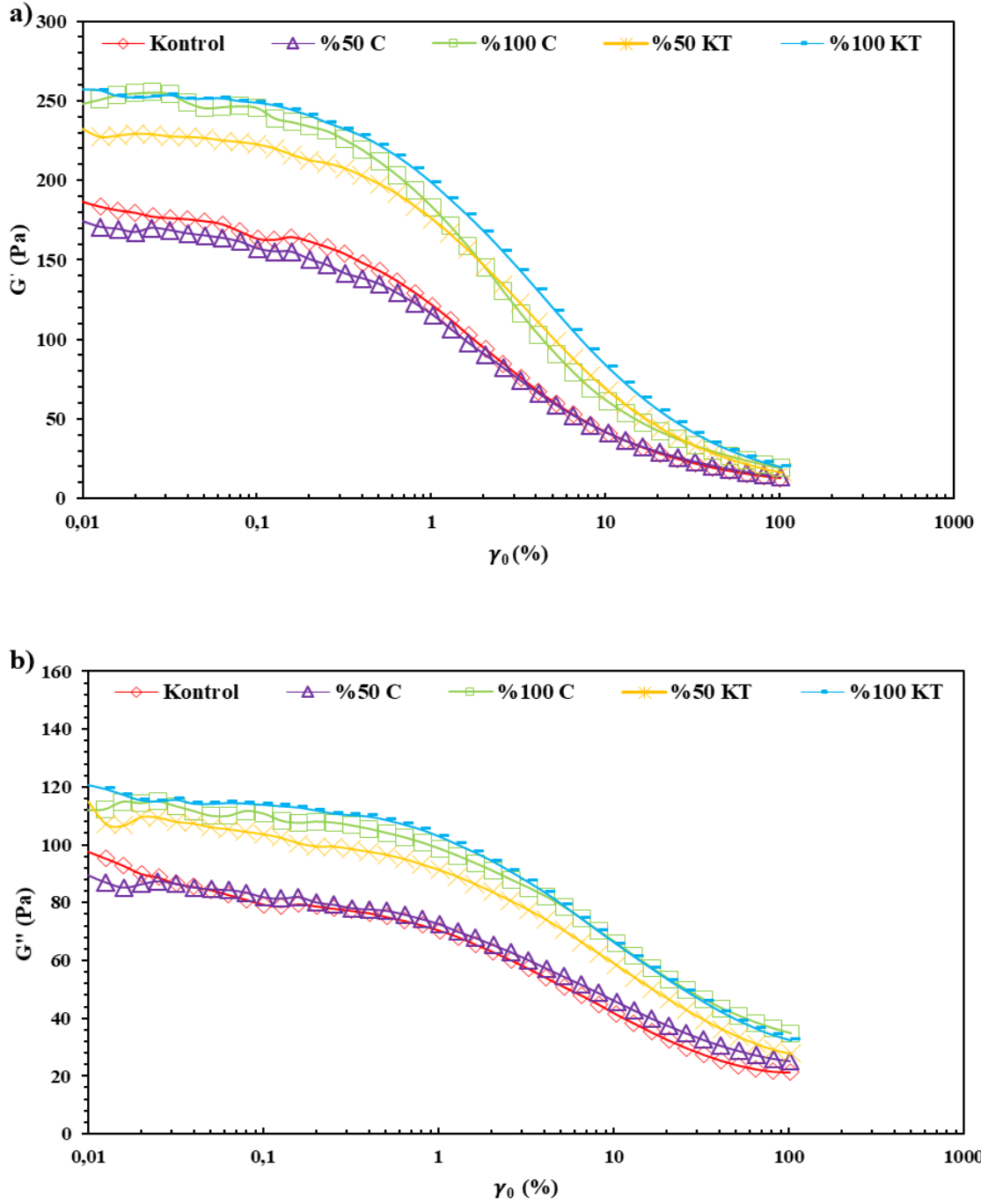


b)



Şekil 2. Farklı oranlarda yumurta ikamesi içeren örneklere ait akış davranış eğrileri. a) Kayma gerilimi (Pa), b) Görünür viskozite (Pa.s)

Figure 2. Flow ramp analysis curves of pancake samples prepared in different formulations. a) Shear stress (Pa); b) Apparent viscosity (Pa.s)



Şekil 3. Farklı oranlarda yumurta ikamesi içeren örneklere ait salınım genliği analizi sonucunda elde edilen viskoelastik modül değerleri. a)  $G'$ , b)  $G''$  (10 rad/s)

Figure 3. Oscillation amplitude analysis results of pancake batters for different seed gels concentrations at 10 rad/s. a)  $G'$ , b)  $G''$



Çizelge 5. Hamurların reolojik karakterizasyonu, üssel model ile elde edilen akış özellikleri  
 Table 5. Rheological characterization of batters, results of power law model

Örnek (Sample)	Kıvam indeksi (Consistency index) (Pa.s <sup>n</sup> )	Akış davranış indeksi (Flow behavior index) (-)	R <sup>2</sup>
Kontrol (Control)	22.4±0.22 <sup>ab</sup>	0.41±0.002 <sup>ab</sup>	0.996
%50 KT (50% FS)	28.77±0.22 <sup>bc</sup>	0.36±0.002 <sup>bc</sup>	0.998
%100 KT (100% FS)	29.25±0.23 <sup>bc</sup>	0.35±0.002 <sup>c</sup>	0.997
%50 C (50% C)	18.33±0.31 <sup>a</sup>	0.44±0.004 <sup>a</sup>	0.990
%100 C (100% C)	33.1±1.29 <sup>c</sup>	0.49±0.002 <sup>c</sup>	0.987

Aynı sütundaki ortalamalar arasında farklı harfli değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ( $P < 0.05$ ).  
 Different letters in the same column (a, b, c) indicate significant differences between means ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 6. Keten tohumu ve çiya tohumu jelinin yumurta ikamesi olarak kullanımının örneklerin bileşimi üzerine etkisi

Table 6. The effect of using flaxseed and chia seed gel as egg replacers on the composition of the samples

Örnek (Sample)	Nem (%) (Moisture %)	Kül (%) (Ash %)	Protein (%) <sup>*</sup> (Protein %)	Ham Yağ (%) <sup>*</sup> (Crude Fat %)
Kontrol (Control)	45.95±0.44 <sup>a</sup>	1.88±0.08 <sup>a</sup>	7.48±0.46 <sup>c</sup>	9.84±0.22 <sup>b</sup>
%50 KT (50% FS)	47.63±0.03 <sup>b</sup>	1.94±0.06 <sup>a</sup>	6.1±0.07 <sup>b</sup>	9.11±2.02 <sup>ab</sup>
%100 KT (100% FS)	48.15±0.13 <sup>c</sup>	1.96±0.05 <sup>a</sup>	5.41±0.82 <sup>ab</sup>	9.37±1.01 <sup>b</sup>
%50 C (50% C)	49.54±0.09 <sup>d</sup>	1.99±0.03 <sup>a</sup>	5.47±0.18 <sup>ab</sup>	8.31±1.62 <sup>ab</sup>
%100 C (100% C)	49.85±0.24 <sup>d</sup>	1.98±0.02 <sup>a</sup>	4.4±0.26 <sup>a</sup>	6.85±0.31 <sup>a</sup>

Aynı sütunda bulunan değerler arasında farklı harf içeren örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ( $P < 0.05$ ).

Different letters in the same column (a, b, c, d) indicate significant differences between means ( $P < 0.05$ ).

\*Kuru temelde \* Dry basis

Çizelge 7. Pankek örneklerinin doku profili sonuçları

Table 7. Texture profile results of pancake samples

Örnek (Sample)	Sertlik (g) (Hardness)	Esneklik (Springiness)	Yapışkanlık (Cohesiveness)	Sakızimsılık (Gumminess)	Çiğnenebilirlik (g) (Chewiness)	Elastiklik (Resilience)
Kontrol (Control)	2766.94±94 <sup>c</sup>	0.99±0.05 <sup>a</sup>	0.73±0.05 <sup>c</sup>	1786.55±283.66 <sup>ab</sup>	1768.68±277.46 <sup>ab</sup>	0.39±0.06 <sup>a</sup>
%50 KT (50% FS)	1917.3±220.64 <sup>ab</sup>	1.04±0.11 <sup>a</sup>	0.71±0.05 <sup>ab</sup>	1372.76±224.58 <sup>ab</sup>	1441.45±373.03 <sup>ab</sup>	0.36±0.04 <sup>a</sup>
%100 KT (100% FS)	3028.69±223.46 <sup>c</sup>	1.02±0.04 <sup>a</sup>	0.73±0.01 <sup>c</sup>	1929.83±384.90 <sup>b</sup>	1972.64±408.81 <sup>b</sup>	0.35±0.03 <sup>a</sup>
%50 C (50% C)	2128.01±94.52 <sup>b</sup>	0.95±0.02 <sup>a</sup>	0.7±0.04 <sup>ab</sup>	1451.43±518.85 <sup>ab</sup>	1386.91±516.81 <sup>ab</sup>	0.34±0.02 <sup>a</sup>
%100 C (100% C)	1495.08±208.93 <sup>a</sup>	0.92±0.04 <sup>a</sup>	0.63±0.05 <sup>a</sup>	1188.05±258.37 <sup>a</sup>	1095.396±202.97 <sup>a</sup>	0.30±0.05 <sup>a</sup>

Aynı sütunda bulunan değerler arasında farklı harf içeren örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ( $P < 0.05$ ).

Different letters in the same column (a, b, c) indicate significant differences between means ( $P < 0.05$ ).

### Renk

Pankek örneklerinin iç ve dış renk karakteristiklerini ifade eden  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri Çizelge 8'de verilmiştir. Örneklerin parlaklığını ifade eden  $L^*$  değerleri, iç ve dış kısım için en yüksek %50 çiya tohumu jeli içeren örneğe ait olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Örneklerin kırmızılığını ifade eden  $a^*$  değerleri incelendiğinde iç kısımda en çok %100 çiya tohumu jeli içeren örneğe ait olduğu belirlenmiş olup; bu durumun formülasyon içerisinde bırakılan çiya tohumlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde Fernandes ve Salas-Mellado

(2017), kek örneklerinde yağ ikamesi olarak çiya jeli kullanımı sonucunda örneklerde çiya jeli oranı arttıkça kabuk  $L^*$  ve  $a^*$  değerlerinde artış eğilimi,  $b^*$  değerinde ise anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir. Kek örneklerinin iç rengi ise çiya jeli oranı arttıkça  $L^*$  değerinde artış,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Kabuk renk değerlerinde ise çalışmalarda, keten tohumu içeren keklerin kontrol örneği ile kıyaslandığında  $L^*$  değerinde azalma gözlemlendiği,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinde ise artış gözlemlendiği belirtilmektedir (Korus vd., 2015; Levent vd., 2020).

Çizelge 8. Farklı formülasyonlarda hazırlanan pankek örneklerinin iç ve dış renk değerleri

Table 8. Pancake crumb and crust color values of pancake samples prepared in different formulations

Örnek (Sample)	İÇ (Crumb)			DIŞ (Crust)		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$
Kontrol (Control)	68.69±1.52 <sup>bc</sup>	-0.85±0.19 <sup>ab</sup>	16.19±0.94 <sup>ab</sup>	44.06±3.01 <sup>a</sup>	10.85±1.14 <sup>c</sup>	28.34±3.17 <sup>a</sup>
%50 KT (50% FS)	66.78±0.93 <sup>b</sup>	-0.91±0.71 <sup>ab</sup>	17.01±1.83 <sup>c</sup>	51.42±1.96 <sup>b</sup>	8.20±0.36 <sup>bc</sup>	29.01±2.59 <sup>a</sup>
%100 KT (100% FS)	68.16±2.45 <sup>bc</sup>	-1.71±0.29 <sup>a</sup>	15.33±1.41 <sup>bc</sup>	61.87±3.33 <sup>c</sup>	4.45±2.61 <sup>a</sup>	27.26±5.24 <sup>a</sup>
%50 C (50% C)	72.74±1.96 <sup>c</sup>	-1.46±0.04 <sup>a</sup>	14.23±0.43 <sup>ab</sup>	62.32±0.82 <sup>c</sup>	6.05±1.00 <sup>ab</sup>	29.64±2.25 <sup>a</sup>
%100 C (100% C)	58.18±4.08 <sup>a</sup>	-0.26±0.59 <sup>b</sup>	13.05±0.23 <sup>a</sup>	48.61±3.46 <sup>ab</sup>	9.72±1.86 <sup>c</sup>	30.19±0.82 <sup>a</sup>

Aynı sütunda bulunan değerler arasında farklı harf içeren örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ( $P < 0.05$ ).

Different letters in the same column (a, b, c) indicate significant differences between means ( $P < 0.05$ ).

### Duyusal Özellikler

Pankek örneklerinin duyuşsal karakteristikleri olan, renk, doku, görünüş, lezzet ve genel beğeni sonuçları Çizelge 9'da verilmektedir. Sonuçlar, çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli kullanımının örneklerin renk ve doku özellikleri üzerine anlamlı bir etkisi olmadığını ortaya koymuştur ( $P > 0.05$ ). %100 C örneği lezzet açısından panelistler tarafından en az puan alan örnek olmuştur ( $P < 0.05$ ). Pankek formülasyonuna çiya ve keten tohumu jellerinin artan oranlarda ilavesi ile genel beğenin azaldığı saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Genel beğeni skalasında en beğenilen örnek kontrol örneği olmakla birlikte, %50 keten tohumu jeli içeren örnekle arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Benzer şekilde kek örneklerinde yumurta ikamesi olarak çiya tohumu (Borneo vd., 2010) ve keten tohumunun

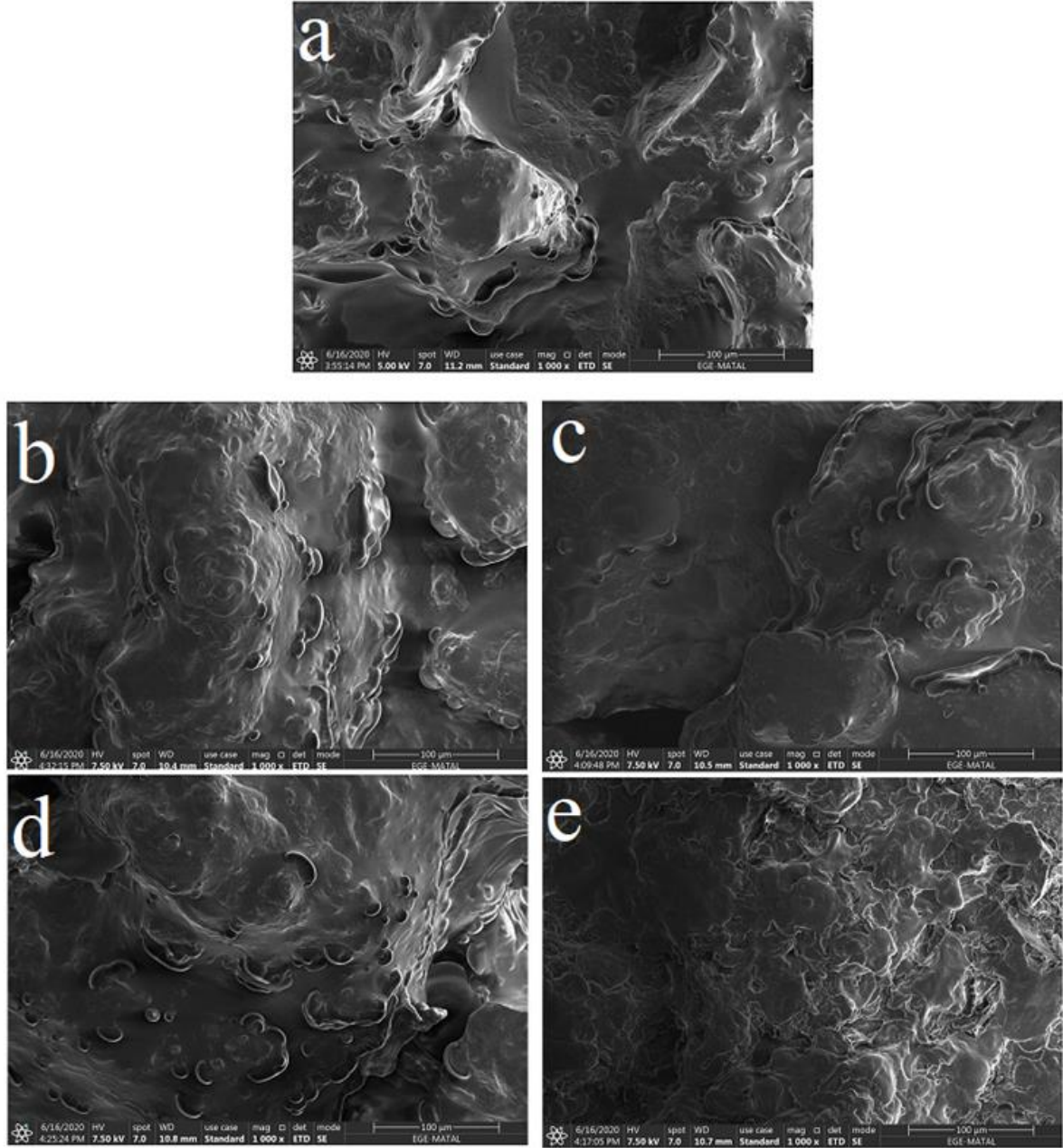
(Nugraheni vd., 2019) kullanılmasıyla genel beğeni değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir.

### SEM

Yumurta içeren ve içermeyen pankek örneklerinin makro ve mikro yapısının belirlenmesi amacıyla taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. Farklı oranlarda kullanılan çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli ile üretilen pankek örneklerinin x1000 büyütme oranı ile mikrografları Şekil 5'te verilmiştir. Pankek örneklerinin mikrografları incelendiğinde, çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli oranının artmasıyla, gözenekliliğin azaldığı görülmektedir. Formülasyondaki çiya tohumu jelinin artması ile örneğin daha katmanlı ve kırılğan bir yapı gösterdiği gözlemlenmiştir. %100 çiya tohumu jeli içeren örneğin diğer örnekler göre daha kırılğan olduğu görülmektedir. %100 keten tohumu jeli ile hazırlanan örnek ile %100

çiya tohumu ile hazırlanan örnek karşılaştırıldığında, %100 keten tohumu jeli içeren örneğin kontrol örneğine daha benzer olduğu gözlemlenmiştir. Paraskevopoulou vd. (2015)

tarafından yapılan çalışmada kek örneklerinde peynir altı suyu izolatu kullanılarak yumurta oranının azaltılması ile örneklerde gözenekliliğin azaldığı belirtilmiştir.



Şekil 5. Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri a) K, b) %50 KT, c) %50 C, d) %100 KT, e) %100 C

Figure 5. Scanning electron microscope images a) K, b) %50 FS, c) %50 C, d) %100 FS, e) %100 C

Çizelge 9. Farklı oranlarda çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli içeren pankeklere ait duyuşsal analiz sonuçları

Table 9. Sensory properties of pancakes containing different proportions of chia seed gel and flaxseed gel

Örnek (Sample)	Görünüş (Appearance)	Renk (Color)	Doku (Texture)	Lezzet (Taste)	Genel Beğeni (Overall acceptance)
Kontrol (Control)	4.56±0.43 <sup>c</sup>	4.22±0.28 <sup>a</sup>	4.18±0.28 <sup>a</sup>	4.6±0.21 <sup>b</sup>	4.63±0.21 <sup>b</sup>
%50 KT (50% FS)	4.09±0.19 <sup>a</sup>	4.28±0.29 <sup>a</sup>	4.25±0.26 <sup>a</sup>	4.54±0.16 <sup>b</sup>	4.60±0.20 <sup>b</sup>
%100 KT (100% FS)	4.25±0.26 <sup>ab</sup>	4.31±0.26 <sup>a</sup>	4.18±0.28 <sup>a</sup>	4.43±0.33 <sup>b</sup>	4.02±0.30 <sup>a</sup>
%50 C (50% C)	4.4±0.21 <sup>bc</sup>	4.26±0.27 <sup>a</sup>	4.30±0.25 <sup>a</sup>	4.39±0.20 <sup>b</sup>	3.98±0.06 <sup>a</sup>
%100 C (100% C)	4.12±0.25 <sup>a</sup>	4.23±0.26 <sup>a</sup>	4.27±0.28 <sup>a</sup>	3.97±0.09 <sup>a</sup>	3.86±0.22 <sup>a</sup>

Aynı sütunda bulunan değerler arasında farklı harf içeren örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ( $P < 0.05$ ).

Different letters in the same column (a, b, c) indicate significant differences between means ( $P < 0.05$ ).

## SONUÇ

Hayvansal protein kullanımına alternatif olarak bitkisel proteinlerden çiya tohumu jeli ve keten tohumu jelinin pankek örneklerinde yumurta beyazına alternatif olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Sonuçlar, üssel model kullanılarak örneklerin akış davranış özelliklerinin başarılı bir şekilde tanımlandığını ve örneklerin kayma ile incelen yapı gösterdiğini ortaya koymuştur. Tohum jellerinin yüksek su absorplama indeksine sahip olmasından dolayı pankek hamurlarının viskozite değerlerinde genel bir artış gözlemlenmiştir. Aynı zamanda tohum jellerinin yüksek su absorplama kapasitesine bağlı olarak pankek örneklerinin nem içeriklerinde kontrol grubu ile kıyaslandığında artış görülmektedir ( $P < 0.05$ ). Duyusal değerlendirme sonucunda örneklerin genel kabul edilebilirliğinin yüksek olduğu belirlenmiş ve panelistler tarafından örnekler arasında renk ve doku açısından fark bulunamamıştır ( $P > 0.05$ ). Yumurta ikamesi olarak çiya ve keten tohumu jeli kullanımı hamur örneklerinin reolojik özelliklerini geliştirmekte ve yumurta alerjisi, vegan diyet tercihleri gibi nedenlerle yumurta tüketmeyen bireylerin tüketimine uygun, tamamen bitkisel kaynaklı yumurta ikamesi içeren pankek üretimi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak çalışma, yumurta beyazı ikamesi olarak çiya tohumu jeli ve keten tohumu jeli kullanımının yumurta ile benzer fonksiyonel özellikler gösterebileceğini ve pankek örneklerinde kullanımı için uygun ve ucuz bir alternatif olduğunu ortaya koymuştur. Son yıllarda fonksiyonel özellikleriyle ilgi çekmeye başlayan

bitkisel proteinlerden çiya ve keten tohumu ile yapılan çalışmalara yenilikçi bir çalışmayla katkı sağlanmıştır.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların makale ile ilgili başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## YAZAR KATKILARI

Şebnem TAVMAN ve Seher KUMCUOĞLU çalışma konusu belirleme, yöntem, makalenin yazımı ve danışmanlık kısımlarında katkı sağlamışlardır. Selen ERKOÇ, İpek ÖZCAN ve Esra ÖZYİĞİT analizlerin gerçekleştirilmesi, sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi, yorumlanması ve makalenin yazım aşamalarında görev almışlardır. Tüm yazarlar tarafından makalenin son hali okunmuş ve onaylanmıştır.

## KAYNAKLAR

- Agrahar-Murugkar, D., Zaidi, A., Kotwaliwale, N., Gupta, C. (2016). Effect of egg-replacer and composite flour on physical properties, color, texture and rheology. nutritional and sensory profile of cakes. *J Food Qual*, 39(5): 425–435, doi: 10.1111/jfq.12224.
- Altuğ Onoğur, T., Elmacı, Y. (2015). *Gıdalarda Duyusal Değerlendirme*. Sidas Medya, İzmir, Türkiye, 135s. ISBN:978-9944-5660-8-7.
- Borneo, R., Aguirre, A., León, A. E. (2010). Chia (*Salvia hispanica* L.) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations. *J the Am Diet Assoc*, 110(6): 946–949, doi: 10.1016/j.jada.2010.03.011.

- Boye, J. I., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E., Rajamohamed, S. H. (2010). Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Res Int*, 43(2): 537–54, doi: 10.1016/j.foodres.2009.07.021.
- Bozdogan, N., Kumcuoglu, S., Tavman, S. (2019). Investigation of the effects of using quinoa flour on gluten-free cake batters and cake properties. *J Food Sci Technol* 56, 683–694, doi: 10.1007/s13197-018-3523-1.
- Chen, H. H., Xu, S. Y., Wang, Z. (2006). Gelation properties of flaxseed gum. *J Food Eng*, 77(2): 295–303, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.06.033.
- Cho, E., Kim, J. E., Baik, B. K., Chun, J. B., Ko, H., Park, C., Cho, S. W. (2019). Influence of physicochemical characteristics of flour on pancake quality attributes. *J Food Sci Technol*, 56(3): 1349–1359, doi: 10.1007/s13197-019-03607-x.
- Choi, I., Han, O. K., Chun J., Kang, C. S., Kim, K. H., Kim, Y. K., Cheong, Y. K., Park, T. I., Choi, J. S., Kim, K. J. (2012). Hydration and pasting properties of oat (*avena sativa*) flour. *Prev Nutr Food Sci*, 17(1): 87–91, doi: 10.3746/pnf.2012.17.1.087.
- Coorey, R., Tjoe, A., Jayasena, V. (2014). Gelling properties of chia seed and flour. *J. Food Sci*, 79(5): e859–e866, doi: 10.1111/1750-3841.12444.
- Çetiner, M., Ersus-Bilek, S. (2018). Bitkisel protein kaynakları. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 33(2): 111–126.
- Darwish, A., Khalifa, R. E., El-Sohaimy, S. A. (2018). Functional properties of chia seed mucilage supplemented in low fat yoghurt. *Alex Sci Exch J*, 39(3): 450–459, doi: 10.21608/asejaiqsae.2018.13882.
- Deng, Y., Chen, J., Huang, J., Yang, X., Zhang, X., Yuan, S., Liao, W. (2020). Preparation and characterization of cellulose/flaxseed gum composite hydrogel and its hemostatic and wound healing functions evaluation. *Cellulose*, 27: 3971–3988, doi: 10.1007/s10570-020-03055-3.
- El-Sayed, M. A., Shaltout, O. E., El-Difrawy, E. A. (2014). Production and evaluation of low fat cake containing flaxseed and okra gums as a fat replacer. *Alex J Food Sci Technol*, 11(1): 53–60, doi: 10.12816/0025350.
- Fajardo, C.A., Ross, A.S. (2015). Exploring relationships between pancake quality and grain and flour functionality in soft wheats. *Cereal Chem*, 92: 378–383, doi: 10.1094/CCHEM-08-14-0173-R.
- Fang, S., Qiu, W., Mei, J., Xie, J. (2020). Effect of sonication on the properties of flaxseed gum films incorporated with carvacrol. *Int J Mol Sci Artic*, (21): 1637, doi: 10.3390/ijms21051637.
- Fernandes, S., S., Salas-Mellado, M. (2017). Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. *Food Chem*, 227 (2017): 237–244, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.01.075.
- Finnie, S. M., Bettge, A. D., Morris, C. F. (2006). Influence of flour chlorination and ingredient formulation on the quality attributes of pancakes. *Cereal Chem*, 83(6): 684–691, doi: 10.1094/CC-83-0684.
- Gallo, L. R. D. R., Assunção Botelho, R. B., Ginani, V. C., de Lacerda de Oliveira, L., Riquette, R. F. R. ve Leandro, E. D. S. (2020). Chia (*Sabia hispanica L.*) gel as egg replacer in chocolate cakes: applicability and microbial and sensory qualities after storage. *J Culinary Sci Technol*, 18(1): 29–39, doi: 10.1080/15428052.2018.1502111.
- Gómez, M., Ronda, F., Caba11ero, P. A., Blanco, C. A., Rosell, C. M. (2007). Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cakes. *Food Hydrocoll*, 21: 167–173, doi: 10.1016/j.foodhyd.2006.03.012.
- Gularte, A. G., de la Hera, E., Gómez, M., Rosell, C. M. (2012). Effect of different fibers on batter and gluten-free layer cake properties. *LWT-J Food Sci Technol*, 48(2012): 209–214, doi: 10.1016/j.lwt.2012.03.015
- Hargreaves, S. M., Zandonadi, R. P. (2018). Flaxseed and chia seed gel on characteristics of gluten-free cake. *J Culinary Sci Technol*, 16(4): 378–388, doi: 10.1080/15428052.2017.1394951.
- Hatamian, M., Noshad, M., Abdanan-Mehdizadeh, S., Barzegar, H. (2020). Effect of roasting treatment on functional and antioxidant

- properties of chia seed flours. *NFS J*, 21: 1-8. doi: 10.1016/j.nfs.2020.07.004
- Hrncic, M. K., Ivanovski, M., Cör, D., Knez, Z. (2020). Chia seeds (*Salvia Hispanica L.*): An overview-phytochemical profile, isolation methods and application. *Mol*, 25(1): 11, doi: 10.3390/molecules25010011.
- Incoronato, A. L., Cedola A., Conte, A., Del Nobile, M. A. (2020). Juice and by-products from pomegranate to enrich pancake: characterization and shelf-life evaluation. *Inst Food Scie Technol*, 56(6): 2886-2894, doi: 10.1111/ijfs.14926.
- İşleroglu, H. ve Yıldırım, Z. Y. M. (2005). Fonksiyonel Bir Gıda Olarak Keten Tohumu. *Gaziösmenpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2): 23-30.
- Kajla, P. Sharma, A., Sood D.R. (2015). Flaxseed-a potential functional food source. *J Food Sci Technol*, 52(4): 1857-1871, doi: 10.1007/s13197-014-1293-y.
- Kohrs, D. Heralds, T.J., Armanouni, F.M. Abu Ghoush, M. (2010). Evaluation of egg-replacers in a yellow cake system. *J Food Agric*, 22, 340–352.
- Koocheki, A., Mortazavia, S.A., Shahidia, F., Razavia, S.M.A., Taherian, A.R. (2009). Rheological properties of mucilage extracted from *Abyssum homolocarpum* seed as a new source of thickening agent. *J Food Eng*, 91(3): 490–496, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2008.09.028.
- Korus, J., Witczak, T., Ziobro R., Juszcak L. (2015). Linseed (*Linum usitatissimum L.*) mucilage as a novel structure forming agent in gluten-free bread. *LWT-J Food Sci Technol*, 62(2015): 257-264, doi: 10.1016/j.lwt.2015.01.040.
- Kumar, R. K., Bejkar, M., Du, S., Serventi, L. (2019). Flax and wattle seed powders enhance volume and softness of gluten-free bread. *Food Sci Technol Int*, 25(1): 66-75, doi: 10.1177/1082013218795808.
- Lee, S., Inglett, G. E., Carriere, C. J. (2004). Effect of nutrim oat bran and flaxseed on rheological properties of cakes. *Cereal Chem*, 81(5): 637-642, doi: 10.1094/CCHEM.2004.81.5.637.
- Levent, H., Sayaslan, A., Yeşil, S. (2020). Physicochemical and sensory quality of gluten-free cakes supplemented with grape seed, pomegranate seed, poppy seed, flaxseed and turmeric. *J Food Process Preserv*, 45(2): e15148, doi:10.1111/jfpp.15148.
- Mannucci, A., Castagna, A., Santin, M., Serra, A., Mele, M., Ranieri, A. (2019). Quality of flaxseed oil cake under different storage conditions. *LWT-J Food Sci Technol*, 104(2019): 84–90, doi: 10.1016/j.lwt.2019.01.035.
- McClements, D. J., Bai, L., Chung, C. (2017). Recent advances in the utilization of natural emulsifiers to form and stabilize emulsions. *Ann Rev Food Sci Technol*, 8: 205–236, doi: 10.1146/annurev-food-030216-030154.
- Mine, Y. (1995). Recent advances in the understanding of egg white protein functionality. *Trends Food Sci Technol*, 6(7): 225-231, doi: 10.1016/S0924-2244(00)89083-4
- Moreira, R., Chenlo, F., Torres, M. D. (2013). Effect of chia (*Sativa hispanica L.*) and hydrocolloids on the rheology of gluten-free doughs based on chestnut flour. *LWT-J Food Sci Technol*, 50(1): 160-166, doi: 10.1016/j.lwt.2012.06.008.
- Muñoz-González, I., Merino-Álvarez, E., Salvador, M., Pintado, T., Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero, F., Herrero, A. M. (2019). Chia (*Salvia hispanica L.*) a promising alternative for conventional and gelled emulsions: technological and lipid structural characteristics. *Gels*, 5(2): 19, doi: 10.3390/gels5020019.
- Nugraheni, M., Sutopo-Purwanti, S., Handayani, T. H. W. (2019). Nutritional, physical and sensory properties of high protein gluten and egg-free cookies made with resistant starch type 3 *Maranta arundinaceae* flour and flaxseed. *Food Res*, 3(6): 658-663, doi: 10.26656/fr.2019.
- Olivos-Lugo, B.L., Valdivia-López, M.Á., Tecante A. (2010). Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica L.*). *Food Sci Technol Int*, 16(1): 89-96, doi: 10.1177/1082013209353087.
- Özbek, T., Yeşilçubuk, N. Ş. (2018) Süper Besin: Chia Tohumu (*Salvia Hispanica L.*). *Beslenme ve*

- Diyet Dergisi*, 46(1): 90-96, doi: 10.33076/2018.BDD.292.
- Paraskevopoulou, A., Donsouzi, S., Nikiforidis, C. V., Kiosseoglou, V. (2015) Quality characteristics of egg-reduced pound cakes following WPI and emulsifier incorporation. *Food Res Int*, 69: 72–79, doi: j.foodres.2014.12.018.
- Rabetafika, H. N., Van Remoortel, V., Danthine, S., Paquot, M., Blecker, C. (2011). Flaxseed proteins: food uses and health benefits. *Int J Food Sci Technol*, 46(2): 221-228, doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02477.x.
- Ronda, F., Oliete, B., Gómez, M., Caballero, P.A., Pando, V. (2011). Rheological study of layer cake batters made with soybean protein isolate and different starch sources. *J Food Eng*, 102(3): 272-277, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2010.09.001.
- Rosas-Mendoza, M. E., Coria-Hernández, J., Meléndez-Pérez, R., Arjona-Román, J. L. (2017). characteristics of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil extracted by ultrasound assistance. *J Mex Chem Soc*, 61(4): 326-335.
- Safdar, B., Pang, Z., Liu, X., Jatoi, M. A., Mehmood, A., Rashid, M. T., Ali, N., Naveed, M. (2019). Flaxseed gum: Extraction, bioactive composition, structural characterization, and its potential antioxidant activity. *J Food Biochem*, 43: e13014, doi: 10.1111/jfbc.13014.
- Safdar, B., Pang, Z., Liu, X., Rashid, M.T., Jatoi, M.A. (2020). Structural and functional properties of raw and defatted flaxseed flour and degradation of cynogenic contents using different processing methods. *J Food Process Eng*, 43: e13406, doi: 10.1111/jfpe.13406.
- Sharif, H. R., Williams, P. A., Sharif, M. K., Abbas, S., Majeed, H., Masamba, K. G., Zhong, F. (2018). Current progress in the utilization of nati and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants – A review. *Food Hydrocoll*, 76(Nomber 2017): 2–16, doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.01.002.
- Shevkani, K., Kaur, A., Kumar, S., Singh, N. (2015). Cowpea protein isolates: Functional properties and application in gluten-free rice muffins. *LWT-J Food Sci Technol*, 63(2): 927-933, doi: 10.1016/j.lwt.2015.04.058.
- Shi, Z., Yuan, B., Zhang, C., Zhou, M., Holmboe-Ottesen, G. (2011). Egg consumption and the risk of diabetes in adults, Jiangsu, China. *Nutr*, 27(2): 194–198. doi: 10.1016/j.nut.2010.01.012.
- Shih, F. F., Truong, V. D., Daigle, K. W. (2006). Physicochemical properties of Gluten-free pancakes from rice and sweet potato flours. *J Food Qual*, 29(1): 97–107, doi: 10.1111/j.1745-4557.2005.00059.x.
- Singh, R.P., Heldman, D.R. (2014). *Introduction to food engineering*, 4th Edition, Academic Press, Amsterdam, Netherlands, 155-160p. ISBN: 978-0-12-398530-9.
- Steffe J.F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*, 2nd Edition. Freeman Press, East Lansing, USA, 294-348p.
- Tan, M.C., Chin, N.L., Yusof, Y.A., Tap, F.S., Abdullah, J. (2015). Improvement of eggless cake structure using ultrasonically treated whey protein. *Food Bioprocess Technol*. 8: 605, doi: 10.1007/s11947-014-1428-1.
- Tirgar, M., Silcock, P., Carne, A., Birch, E.J. (2017). Effect of extraction method on functional properties of flaxseed protein concentrates. *Food Chem*, 215: 417–424, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.002.
- Uysal, R., Boyacı, İ. H., Sumnu, G. (2019). Determination of pasteurization treatment of liquid whole egg by measuring physical and rheological properties of cake cream. *J Food Process Eng*, 42: e13167, doi: 10.1111/jfpe.13167.
- Weipert, D. (1990). The benefits of basic rheometry in studying dough rheology. *Cereal Chem*. 67(4): 311–317.
- Yurt, M., Gezer, C. (2018). Chia tohumunun (*salvia hispanica*) fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri. *Gıda*, 43(3): 446-460, doi: 10.15237/gıda.GD17093.
- Zettel, V. Hitzmann, B. (2018). Applications of chia (*Salvia hispanica* L.) in food products. *Trends Food Sci Technol*, 80: 43-50, doi: 10.1016/j.tifs.2018.07.011



## QUALITY OF BLACK SCORPIONFISH (*Scorpaena porcus*, Linnaeus 1758) MEAT COOKED IN DIFFERENT COOKING MATERIALS

Bengünur Çorapçı\*

Sinop University, Faculty of Fishery, Department of Fish Processing Technology,  
Sinop, Turkey

Received / Geliş: 12.08.2021; Accepted / Kabul: 12.11.2021; Published online / Online baskı: 16.11.2021

Çorapçı, B. (2021). *Quality of black scorpionfish (Scorpaena porcus, Linnaeus 1758) meat cooked in different cooking materials. GIDA (2021) 46 (6) 1415-1424 doi: 10.15237/gida.GD21115.*

Çorapçı, B. (2021). Farklı pişirme materyalleri içinde pişirilen iskorpit balığı (*Scorpaena porcus*, Linnaeus 1758) etinin kalitesi. *GIDA (2021) 46 (6) 1415-1424 doi: 10.15237/gida.GD21115.*

### ABSTRACT

This study aimed to investigate the effect of different cooking materials on some physical, nutritional, and sensory characteristics of black scorpionfish (*Scorpaena porcus*) meat. To achieve this aim, scorpion fish fillets were divided into four groups as open-roasted (control), oven bag cooked (Group A), baking paper wrapped (Group B) and aluminum foil wrapped (Group C). All fillets were cooked in an electrical oven. The nutritional and amino acid composition, water activity and color measurements were carried out in all samples including raw fish. Sensorial properties of all cooked samples were also evaluated. On comparing the raw and cooked groups it was found that cooking materials had a considerable effect on the nutritional and amino acid composition. The protein and total amino acid contents of the Control group were higher than that of the other groups due to water loss. It was also determined that the aromatic amino acid content of the control group was higher than the other groups. The cooking losses varied according to the type of cooking material. The method of cooking in the baking paper can be said to be the most preferable method for this fish according to the sensory analysis results.

**Keywords:** Scorpionfish, amino acids, aluminum foil, baking paper, oven bag

## FARKLI PİŞİRME MATERYALLERİ İÇİNDE PİŞİRİLEN İSKORPİT BALIĞI (*Scorpaena porcus*, Linnaeus 1758) ETİNİN KALİTESİ

### ÖZ

Bu çalışmanın amacı farklı pişirme materyallerinin iskorpit balığı eti üzerindeki bazı fiziksel, besinsel ve duyusal özelliklerine etkisini araştırmaktır. Bu amaçla iskorpit balığı filetoları üzeri açık pişirme (kontrol), fırın poşetinde pişirme (A), yağlı kâğıtta pişirme (B), alüminyum folyoda pişirme (C) şeklinde dört gruba ayrılmıştır. Bütün filetolar elektrikli fırında pişirilmiştir. Besin ve aminoasit kompozisyonu, su aktivitesi ve renk ölçümleri çiğ balığı da içeren tüm örneklerde gerçekleştirilmiştir. Pişirilen tüm örneklerde duyusal özellikler de değerlendirilmiştir. Çiğ ve pişmiş gruplar karşılaştırıldığında pişirme materyallerinin besin kompozisyonu ve aminoasit kompozisyonunu önemli ölçüde etkilediği bulunmuştur. Kontrol grubunun protein ve toplam aminoasit içeriği su kaybı nedeniyle diğer gruplardan yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, kontrol grubunun amino asit içeriği incelendiğinde aromatik amino asitlerin diğer gruplardan yüksek olduğu belirlenmiştir. Pişirme kaybı

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: benguncorapci@hotmail.com

☎: (+90) 368 287 6265/3213

☎: (+90) 368 287 6268

Bengünur Çorapçı; ORCID no: 0000-0002-1005-5406



pişirme materyalinin çeşidine göre değişiklik göstermiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre yağlı kâğıtta pişirme metodunun bu balık için en çok tercih edilen yöntem olduğu söylenebilir.

**Anahtar kelimeler:** İskorpit balığı, amino asit, alüminyum folyo, yağlı kâğıt, fırın poşeti

## INTRODUCTION

Scorpionfish (*Scorpaena porcus* L. 1758) is a demersal fish species belonging to the *Scorpaenidae* family. It is generally observed at rocky habitats and also seen at muddy and sandy sea bottoms, spending most of its time waiting for prey (Love et al., 1987). It is economically important for its delicious meat (Turk Culha, et al., 2016). According to TUIK, an average of 250.1 tons per annum of scorpionfish was reported to be caught on between 2008 and 2017 (TUIK, 2019). The blackscorpion fish is caught in the Black Sea in almost every fishing season (Kaya and Kocatepe, 2014).

Foods such as red meat and fish become more eatable and more digestible when they are subjected to cooking. However, cooking can lead to unacceptable changes, such as the loss of the nutritional value of foods, mainly due to lipid deterioration, and changes in some constituents of the protein (Uran ve Gokoglu, 2014). The basic function of protein in nutrition is to provide sufficient amounts of required amino acids. The protein quality is associated with amino acids components, the ratios of essential amino acids, and the physiological utilization of amino acids after digestion, assimilation, and oxidization (Friedman, 1996). The E/NE ratio is an indicator of high-quality protein. The essential amino acids of raw scorpionfish constitute approximately 52% of the total amino acids. The ratio of essential/non-essential amino acids (E/NE) has been reported as 1.08 (Kaya and Kocatepe, 2014).

Usually, cooking methods are divided into three sections. These methods can be listed as dry-heat, moist-heat, and combination-heat. Dry-heat methods cook the foods using hot air or fat. Examples of these methods are frying (pan or deep), grilling, roasting, and baking. The moist-heat cooking methods cook the food with a liquid, usually water. For example, poaching, boiling and steaming, etc. The combination cooking methods use a combination of dry- and moist-heat methods (Moradi et al., 2011). When the studies

on fish cooking methods are examined, it is usually seen that grilling, baking, frying (Tokur, 2007; Cheung et al., 2016) were used. The objective of this study was to investigate the effect of different cooking materials on some of the physicochemical, nutritional, and sensory properties of black scorpionfish meat.

## MATERIALS AND METHODS

### Raw material

Black scorpionfish (*Scorpaena porcus*) were purchased (as fish fillet) from a fisherman in the region of Sinop-Middle Black Sea. In total, 2.5kg of scorpionfish fillets (skinless) were used in this study. They were transferred to the laboratory and were washed in iced water a few times.

### Methods

#### Grouping and Cooking Methods

The scorpionfish fillets were split into four groups ( $413.20 \pm 5.19$  g weight). Raw fish analyzes were carried out on fresh fish meat without cooking. The procedure for the four experimental groups were described below:

**Open roasting (control):** The fillets are randomly arranged on the baking tray. No packaging material was used at this stage. The fish was cooked without any material.

**Oven bag (Group A):** The fillets were first placed in an oven bag (Koroplast, 25x38 cm) and the bag was closed. The bag was then placed on the baking tray, and several holes were drilled in the oven bag with the help of a toothpick.

**Baking paper (Group B):** The fillets were first placed on an approximately 37x50 cm sheet of baking paper. The opposite ends of the baking paper are then brought together, and the ends are bent (like a boat). In the meantime, the upper part of the baking paper was pulled together so that the fish were completely covered.

**Aluminum foil (Group C):** The fillets were packed in the same manner as the baking paper

group using an approximately 30X50 cm sheet of aluminum foil. The top of the aluminum foil was closed to cover the fish completely.

All the groups were then cooked in an electrical oven at 180 °C for 20 min.

### **Nutritional composition analysis**

After cooking, samples of each group were homogenized in a blender. The crude protein was determined using the Kjeldahl method (AOAC, 1961). Lipids were extracted using the method employed by Bligh and Dyer (1959). The moisture content and crude ash content were determined according to the methods used by Ludorf and Meyer (1973) and AOAC (1984) respectively. Energy value was estimated by the Atwater method (Falch et al., 2010). All measurements were carried out in triplicate.

### **Amino acid analyses**

The fish sample was weighed (0.1-1 g), placed in 50 ml flask and 20 ml of HCl was added. The samples were hydrolyzed at 110 °C for 24 h (Blackburn, 1968). Following hydrolysis, the hydrolysate was filtered through a filter paper. 0.2 ml filtrate was evaporated with nitrogen gas at 50 °C. 0.5 ml filtrate and ACN: MeOH:TEA mixture were derivatization by derivatization solution at 40 °C for 30 min. The filtrate was evaporated with nitrogen gas at 40 °C and 5 ml ammonium acetate (0.02 M) was added. The sample was filtered through a filter paper (0.45 $\mu$ ) and then injected into the UFLC. Amino acids were separated by SPD-20A, UFLC (Shimadzu, Japan) using a 4x6x150 mm, Agilent, Eclipse X08-C18 column. The detection wavelength was set at UV 254 nm. The amino acids were measured by using available standard amino acid data.

### **Physical parameters**

Water activity and color analyses were conducted according to AOAC (1980) and Schubring (2003), respectively. The Novasina Lab Swift water activity measurement device and Konica Minolta/CR-A 33a color measuring device was used for water activity and color measurements. Cooking loss was determined according to Barbanti and Pasquini (2005). All measurements were carried out in triplicate.

### **Sensory Analysis**

Sensory analyzes were performed by 5 experienced academic staff working at the Faculty of Fisheries of Sinop University. Panelists were informed about the subject before sensory analysis. Scorpionfish is a species of fish that can be obtained during the fishing season in Sinop, Turkey. There are no restrictions on fishing.

The scorpionfish samples were cooked in an electrical oven at 180 °C for 20 min. The sensory attributes of the control group, the oven bag group, the baking paper group, and the aluminum foil group were evaluated following the cooking process. Fish samples from the different treatments were individually served (20 g) in dishes to each panelist. A hedonic scale was used for evaluation of the appearance, odor, flavor, texture, color, and overall acceptability (Altug and Elmacı, 2005). Sensory analyses were carried out as 2 replications and 2 parallel.

### **Statistical analysis**

Using the Minitab 17 program experimental data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA). For data analysis, mean and standard error were used. The significance level was defined at  $P < 0.05$ . Statistical calculations for the sensory analyses were carried out using a non-parametric Friedman's test.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Nutritional and amino acid compositions of scorpionfish meats**

The results of the nutritional composition analysis of the groups are shown in Table 1.

The contents of the scorpionfish used in this study showed 16.61 % crude protein, 0.20% crude fat, 80.62% moisture, 1.92% crude ash, and 70.84 Kcal energy. The nutritional composition of the raw fillets is similar to earlier reports on scorpionfish (Ozden and Erkan, 2011; Kaya and Kocatepe, 2014). Significantly higher protein content ( $26.18 \pm 0.12$ ) was recorded in the control group, followed by ( $25.67 \pm 0.06$ ) the fish cooked in baking paper, compared with the fish prepared with the other cooking methods ( $P < 0.05$ ). The oven bag group had the lowest protein content, possibly due to its high moisture content ( $P <$

0.05). It was found that the moisture content of cooked scorpionfish (except for the control group) was not significantly affected by the cooking methods ( $P > 0.05$ ). Tokur (2007) reported that the aluminum foil that was used to cover the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during baking prevented moisture loss. In contrast, the moisture contents in present study were as follows: oven bag group > baking paper group > aluminum foil group > open roasting

(control) group, respectively. Open roasting (control group) may have led to rapid drying of the inner and external layers of the fish meat, resulting in much of the water leaving the fish meat as cooking progressed. This might have been the case because the fish fillets were not too thick. Scorpionfish is known as a lean fish. The fat content of the scorpionfish was increased in all cooking methods in the present study. ( $P < 0.05$ ).

Table 1. Nutritional composition of the scorpionfish that cooked with different cooking materials

	Raw	Control	A	B	C
Crude protein (%)	16.61±0.03 <sup>d</sup>	26.18±0.12 <sup>a</sup>	23.44±0.15 <sup>c</sup>	25.67±0.06 <sup>a</sup>	24.40±0.29 <sup>b</sup>
Crude fat (%)	0.20±0.01 <sup>d</sup>	1.57±0.00 <sup>b</sup>	1.31±0.08 <sup>bc</sup>	1.17±0.12 <sup>c</sup>	2.20±0.01 <sup>a</sup>
Moisture (%)	80.62±0.00 <sup>a</sup>	68.43±0.10 <sup>c</sup>	71.59±0.53 <sup>b</sup>	70.79±0.41 <sup>b</sup>	70.41±0.14 <sup>b</sup>
Crude ash (%)	1.92±0.01 <sup>b</sup>	2.47±0.12 <sup>a</sup>	2.13±0.01 <sup>ab</sup>	1.19±0.11 <sup>c</sup>	1.74±0.04 <sup>b</sup>
Carbohydrate (%)	0.66±0.01 <sup>a</sup>	1.35±0.10 <sup>a</sup>	1.54±0.47 <sup>a</sup>	1.20±0.24 <sup>a</sup>	1.27±0.45 <sup>a</sup>
Energy (kcal/100g)	70.84±0.00 <sup>c</sup>	124.25±0.08 <sup>a</sup>	111.65±1.79 <sup>b</sup>	117.97±1.80 <sup>ab</sup>	122.40±0.72 <sup>a</sup>

n=3

Values are shown as mean ± standard error.

Different letters between groups are statistically significant in the same row ( $p < 0.05$ ) (→)

(Control: open roasting, Group A: oven bag, Group B: baking paper, Group C: aluminum foil)

In addition, the amount of crude ash was found to be higher in the control and oven bag groups than in the baking paper and aluminum foil groups. It can be said that the proportional increase was due to water loss. Hoffman and Tlhong (2012) investigated the nutritional composition of guinea fowl (*Numida meleagris*) meat cooked according to three different methods (baking bag, foil wrap, open roasting). They also found that the open roasting method (control) resulted in a higher protein and ash content compared with the other cooking methods. A total of nineteen kinds of amino acids were identified in the groups. The amino acid compositions of scorpionfish meat that was cooked using different cooking methods are shown in Table 2.

The results show that the main amino acids of raw scorpionfish were glutamic acid, aspartic acid and lysine. The essential amino acids (Arginine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, valine) of raw scorpionfish constituted approximately 53.15%

of the total amino acids. In this study, the ratio of essential/non-essential amino acids (E/NE) was observed to be 1.20 in raw scorpionfish meat, and there was no statistical change according to the cooking process. The aspartic acid content decreased with cooking in all groups. On the other hand, the glutamic acid, leucine, lysine, and phenylalanine contents of raw meat increased with cooking, and they were statistically different from the raw meat content. The total amino acid and essential amino acid contents of the control group were the highest. In present study, it is clear that cooking in different packaging changes the essential amino acid content. The World Health Organization (2007) reported the adult daily intake of essential amino acids, leucine, isoleucine, threonine, and methionine should be 0.83g/kg, 5.9g/100g, 4.5 g/100g, 3 g/100g, 2.3 g/100g, and 1.6 g/100g, respectively. In present study, it was determined that about 40-49% of leucine, 76-96% of lysine, 40-51 % of isoleucine, 64-72% of threonine, and 61-79% of methionine content which should be taken daily was provided in 100g of different cooked scorpionfish meat.

Table 2. Amino acid composition of the scorpionfish that cooked with different cooking materials (g/100g)

	Raw	Control	A	B	C
Alanine	1.18±0.00 <sup>d</sup>	2.20±0.00 <sup>a</sup>	1.81±0.02 <sup>c</sup>	1.75±0.01 <sup>c</sup>	1.97±0.02 <sup>b</sup>
Arginine	1.35±0.06 <sup>d</sup>	2.44±0.01 <sup>a</sup>	1.98±0.01 <sup>c</sup>	2.01±0.01 <sup>c</sup>	2.23±0.01 <sup>b</sup>
Aspartic Acid	2.73±2.45 <sup>a</sup>	0.58±0.02 <sup>b</sup>	0.47±0.00 <sup>b</sup>	0.47±0.01 <sup>b</sup>	0.57±0.02 <sup>b</sup>
Cysteine	0.23±0.01 <sup>a</sup>	0.27±0.00 <sup>a</sup>	0.29±0.01 <sup>a</sup>	0.19±0.06 <sup>a</sup>	0.31±0.03 <sup>a</sup>
Glutamic Acid	2.66±0.02 <sup>c</sup>	4.15±0.02 <sup>a</sup>	3.63±0.00 <sup>b</sup>	3.75±0.03 <sup>b</sup>	4.02±0.06 <sup>a</sup>
Glycine	0.96±0.12 <sup>b</sup>	1.59±0.09 <sup>a</sup>	1.48±0.03 <sup>a</sup>	1.50±0.05 <sup>a</sup>	1.60±0.09 <sup>a</sup>
Histidine	0.45±0.04 <sup>c</sup>	0.96±0.02 <sup>a</sup>	0.75±0.02 <sup>b</sup>	0.76±0.01 <sup>b</sup>	0.91±0.02 <sup>a</sup>
Isoleucine	0.87±0.03 <sup>c</sup>	1.53±0.00 <sup>a</sup>	1.22±0.02 <sup>b</sup>	1.21±0.03 <sup>b</sup>	1.42±0.03 <sup>a</sup>
Leucine	1.62±0.00 <sup>d</sup>	2.91±0.03 <sup>a</sup>	2.44±0.05 <sup>bc</sup>	2.37±0.08 <sup>c</sup>	2.66±0.00 <sup>b</sup>
Lysine	2.34±0.06 <sup>d</sup>	4.34±0.07 <sup>a</sup>	3.40±0.05 <sup>c</sup>	3.48±0.04 <sup>c</sup>	3.91±0.04 <sup>b</sup>
Methionine	0.66±0.01 <sup>c</sup>	1.26±0.02 <sup>a</sup>	1.04±0.06 <sup>b</sup>	0.97±0.02 <sup>b</sup>	1.13±0.02 <sup>ab</sup>
Ornithine	0.04±0.00 <sup>a</sup>	0.05±0.01 <sup>a</sup>	0.05±0.01 <sup>a</sup>	0.06±0.01 <sup>a</sup>	0.05±0.00 <sup>a</sup>
Phenylalanine	0.93±0.01 <sup>d</sup>	1.59±0.03 <sup>a</sup>	1.29±0.02 <sup>c</sup>	1.27±0.02 <sup>c</sup>	1.45±0.01 <sup>b</sup>
Proline	0.78±0.00 <sup>d</sup>	1.35±0.00 <sup>a</sup>	1.13±0.01 <sup>c</sup>	1.15±0.01 <sup>c</sup>	1.27±0.01 <sup>b</sup>
Serine	0.90±0.00 <sup>c</sup>	1.59±0.03 <sup>a</sup>	1.34±0.01 <sup>b</sup>	1.29±0.04 <sup>b</sup>	1.58±0.02 <sup>a</sup>
Threonine	0.99±0.03 <sup>b</sup>	1.63±0.03 <sup>a</sup>	1.58±0.03 <sup>a</sup>	1.48±0.02 <sup>a</sup>	1.65±0.06 <sup>a</sup>
Tyrosine	0.79±0.00 <sup>b</sup>	1.23±0.05 <sup>a</sup>	1.20±0.03 <sup>a</sup>	1.08±0.02 <sup>a</sup>	1.24±0.06 <sup>a</sup>
Valine	1.05±0.01 <sup>c</sup>	1.91±0.03 <sup>a</sup>	1.59±0.02 <sup>c</sup>	1.47±0.01 <sup>d</sup>	1.76±0.01 <sup>b</sup>
Taurine	0.24±0.01 <sup>b</sup>	0.53±0.04 <sup>a</sup>	0.29±0.02 <sup>b</sup>	0.31±0.02 <sup>b</sup>	0.32±0.03 <sup>b</sup>
Total amino acids	20.75±2.38 <sup>b</sup>	32.12±0.05 <sup>a</sup>	26.99±0.13 <sup>a</sup>	26.55±0.03 <sup>ab</sup>	30.04±0.32 <sup>a</sup>
Total essential amino acids	11.03±0.04 <sup>c</sup>	19.79±0.06 <sup>a</sup>	16.50±0.03 <sup>c</sup>	16.08±0.05 <sup>d</sup>	18.36±0.08 <sup>b</sup>
Total non-essential amino acids	9.73±2.34 <sup>a</sup>	12.32±0.00 <sup>a</sup>	10.49±0.10 <sup>a</sup>	10.47±0.02 <sup>a</sup>	11.68±0.24 <sup>a</sup>
E/NE	1.20±0.29 <sup>a</sup>	1.61±0.01 <sup>a</sup>	1.57±0.01 <sup>a</sup>	1.54±0.01 <sup>a</sup>	1.57±0.03 <sup>a</sup>
Sweet amino acids	5.70±0.10 <sup>c</sup>	9.53±0.05 <sup>a</sup>	8.26±0.07 <sup>b</sup>	8.29±0.07 <sup>b</sup>	9.16±0.16 <sup>a</sup>
Bitter amino acids	5.72±0.06 <sup>d</sup>	10.59±0.04 <sup>a</sup>	8.47±0.04 <sup>c</sup>	8.49±0.05 <sup>c</sup>	9.63±0.01 <sup>b</sup>

Values are shown as mean ± standard error.

Different letters between groups are statistically significant in the same row ( $p < 0.05$ ) (→) (Control: open roasting, Group A: oven bag, Group B: baking paper, Group C: aluminum foil)

Seafood is one of the most aromatic foods. It has a particularly delicious and different aroma from other foods, especially because it contains a high proportion of glutamic acid. The glutamic acid content of the groups cooked in an oven and cooked in aluminum foil was statistically similar and high. Yamaguchi and Ninomiya (2000) and Zhang et al., (2013) reported that glutamic acid and aspartic acid sodium salts are the reason that umami and other amino acids are reported to have

sweet, bitter, or neutral flavor characteristics (Beluhan and Ranogajec, 2011; Mau et al., 1998). Glutamate, an element of protein, is the most plenteous amino acid in the universe. Meat, milk, fish, and many vegetables can naturally contain glutamate. It has an influential umami taste. It is essential for human nutrition (Ninomiya, 2002). In particular, glutamic acid including di-tri peptides has been of specific significance because they are related to the alone flavor of umami

(Dang et al., 2015). For example, Ninomiya (2002) reported that the unique flavor of some crabs and scallops is due to a combination of organic amino acids in which alanine, glycine, glutamate, and aspartate are essential elements. In present study, the total aspartic acid and glutamic acid contents of the groups were Control > Group C > Group B > Group A, respectively. In general, there is an inverse relationship between cooking in different packaging materials and the umami flavor.

The bitter and sweet amino acid profiles of each of the groups are listed in Table 2. These amino acids are total sweet amino acids ( $\Sigma$  Sweet AA) including Glutamic acid (Glu), Serine (Ser), Glycine (Gly), and Alanine (Ala); total bitter

amino acids ( $\Sigma$  Bitter AA) including Histidine (His), Arginine (Arg), Methionine (Met), Phenylalanine (Phe), Lysine (Lys) according to Schiffman (1975). The maximum bitter amino acids were found in the control group and the packaging materials affected the bitter amino acid contents. The sweet amino acids contents of the control and the aluminum foil groups were statistically similar and higher than that of the others.

### Physical parameters

The physical analyses result of the scorpionfish that was cooked using different cooking materials is presented in Table 3.

Table 3. Physical analyses result of the scorpionfish that cooked with different cooking materials

	Raw	Control	A	B	C
Water activity (aw)	0.96±0.00 <sup>a</sup>	0.96±0.00 <sup>a</sup>	0.96±0.00 <sup>a</sup>	0.96±0.00 <sup>a</sup>	0.96±0.00 <sup>a</sup>
L	56.80±0.35 <sup>d</sup>	78.91±1.39 <sup>ab</sup>	72.61±0.79 <sup>bc</sup>	69.11±0.04 <sup>c</sup>	83.79±2.37 <sup>a</sup>
a	-0.54±0.03 <sup>bc</sup>	-0.83±0.06 <sup>c</sup>	-1.10±0.10 <sup>c</sup>	0.24±0.09 <sup>a</sup>	-0.12±0.23 <sup>ab</sup>
b	4.39±0.37 <sup>c</sup>	13.18±0.52 <sup>ab</sup>	11.82±0.03 <sup>b</sup>	12.83±0.06 <sup>ab</sup>	14.34±0.48 <sup>a</sup>
Cooking loss (%)	-	44.78±0.00 <sup>a</sup>	37.82±0.23 <sup>b</sup>	37.96±0.00 <sup>b</sup>	38.07±0.05 <sup>b</sup>

n=3

Values are shown as mean ± standard error.

Different letters between groups are statistically significant in the same row ( $p < 0.05$ ) (→) (Control: open roasting, Group A: oven bag, Group B: baking paper, Group C: aluminum foil)

There was no statistically significant difference between the water activity values of raw and cooked scorpionfish samples. Bainy et al., (2015) reported similar results for raw, baked, and grilled fish burgers.

Consumers frequently evaluate the original quality of a product by its color and visual aspect, with color serving as a clue as to how well the food is cooked. The color changes during cooking, have critical importance, not only on the product quality but also on the safety (Matsuda et al., 2013). In the Commission Internationale de l'Eclairage, (CIE) Lab color system, L\* indicates lightness on a 0 to 100 scale from black to white; a\* indicates (+) red or (-) green; and b\* indicates (+) yellow or (-) blue (CIE, 1995).

In the present study, the L and b values of the raw scorpionfish sample were increased after cooking using all methods ( $P < 0.05$ ). Cardinal et al., (2011) reported similar results for raw and cooked sea bream. The a\* values were found to be highest in the baking paper group.

The yellowness (b\*) value increased after the cooking of raw scorpionfish. Similar results have been reported by Bainy et al., (2015). In general, a browning reaction was not observed in samples involving the oven bag, the baking paper, and the aluminum foil in that the samples were wrapped in packaging material. Although visual browning is observed in the control group, it is thought that in particular a\* values may be affected because color analyzes are made from homogenized samples. The purpose of using homogenized samples is to increase visual stability. Studies in

which color measurement with homogenized samples are available in the literature (Çorapçı et al. 2020).

The percentage weight losses in terms of the cooking processes varied with the cooking materials. The least percentage loss was found in the case of oven bag cooking. The scorpionfish cooked using the oven bag, the baking paper and the aluminum foil had similar weight losses of 37.82, 37.96, and 38.07%. The weight loss of the open roasting (control) scorpionfish samples was significantly higher compared with the other cooking methods (44.78%).

Salmon et al., (2006) reported the cooking weight loss for pan-fried whole red snapper with skin as

20.9%. In another study, Semedo Tavares et al., (2018) reported that the cooking weight loss for baked hairtail (*Thichiurus lepturus*) fillets were 49.6%. (220°C- 20 min). These values were different from the values in present study. Of course, cooking time, cooking method, and type of fish are important parameters in terms of this difference. It was also revealed that the use of materials such as baking paper, aluminum foil, and oven bags during cooking may reduce the cooking weight loss.

### Sensory Analysis

The sensory scores of cooked scorpionfish meats were as shown in Figure 1.

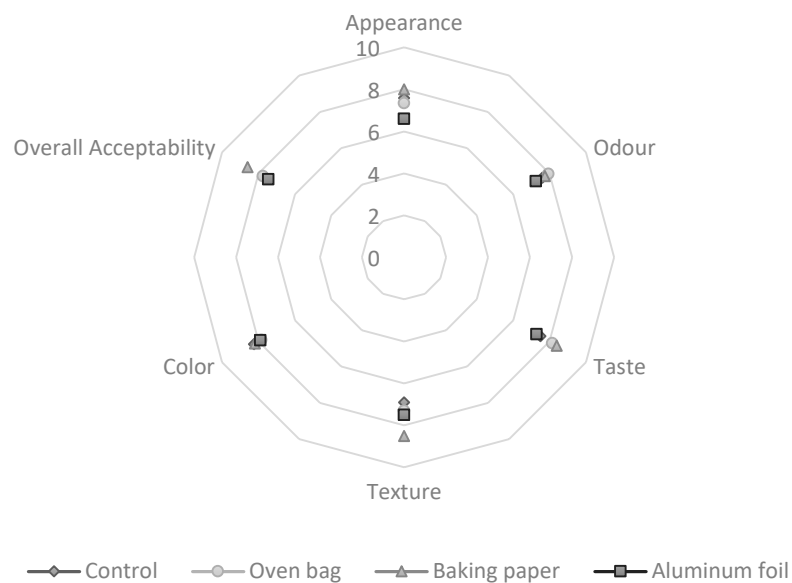


Figure 1. Sensory analysis results of the scorpionfish that cooked with different cooking materials Hedonic scale on a 1- to 9-point scale: 1 = dislike extremely, 2 = dislike very much, 3 = dislike moderately, 4 = dislike slightly, 5 = neither like nor dislike, 6 = like slightly, 7 = like moderately, 8 = like very much, and 9 = like extremely.

The volatile components play an important role in the flavor of cooked fish products. Therefore, the quantity and quality of these compounds are important criteria (Kawai, 1996).

In the present study, the highest appearance, flavor, texture, and overall acceptability scores

were determined to exist in scorpionfish that was cooked using baking paper. These values were found to be  $8.00 \pm 0.08$ ,  $8.40 \pm 0.10$ ,  $8.50 \pm 0.10$  and  $8.60 \pm 0.10$  respectively. The highest odor scores were found in the fish cooked in the oven bag ( $7.95 \pm 0.24$ ), while the highest color scores were found in the open roasting (control) group

(8.25±0.10). According to Friedman's test, the appearance, flavor, and texture values of the scorpionfish that was cooked with different cooking materials were found to be significantly different from each other. In addition, the odor, color, and overall acceptability scores were found to be statistically non-significant.

The effect of cooking materials on the product can directly affect consumer preferences. Therefore, the cooking materials that used in this study are important for future studies. According to the results of the sensory analysis, the method of cooking using baking paper can be said to be the most preferable method for this fish. However, the fact that the oven bag did not give out any odor had a positive effect on the odor scores. In addition, it is not surprising that the color values in the open roasting group are high. It can be said that this situation is related to the browning reaction that occurs on the product's surface during cooking. The flavor values in terms of groups were group B>group A>control group>group C. However, the sum of glutamic acid and aspartic acids used in the evaluation of the umami flavor of the groups was as follows: Control> group C> group B> group A. In particular, the glutamic acid and aspartic acid contents of the control group were higher than in Group B (oven bag). This result suggests that sensory evaluation should be supported in further studies by umami flavor analysis and the use of an electronic nose.

## CONCLUSIONS

As a result, it has been observed that cooking materials such as oven bag, baking paper and aluminum foil have a significant effect on nutrient and amino acid compositions. The aromatic amino acid content of the control group was higher than the other groups. Water activity values did not show any difference in raw fish and between groups. It was observed that the L\*, a\* and b\* values were affected by the cooking materials. However, there was no statistical difference between the cooking loss values.

It can be said that the scorpionfish is a delicious fish with high glutamic acid and aspartic acid

content important in umami flavor. Although the fish is cooked using many different cooking materials, it is obvious that cooking by open roasting (control) is the most nutritious. However, the best group in terms of the sensory evaluation was determined to be the group cooking using baking paper.

## CONFLICT OF INTEREST

The author declares that there are not any competing interests.

## REFERENCES

- Altug, T., Elmaci, Y. (2005). Sensory Evaluation in Foods. Izmir: Meta Publications, p. 105.
- AOAC. (1961). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington. D.C.
- AOAC. (1980). Association of Official Analytical Chemists, 13th ed. Water Activity: 32.004-32.009.
- AOAC. (1984). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington. D.C.
- Bainy, E.M., Bertan, L.C., Corazza, M.L., Lenzi, M.K. (2015). Effect of grilling and baking on physicochemical and textural properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish burger. *J Food Sci Technol.* 52(8):5111–5119, doi: 10.1007/s13197-014-1604-3
- Barbanti, D., Pasquini, M. (2005). Influence of cooking conditions on cooking loss and tenderness of raw and marinated chicken breast meat. *LWT-Food Sci Technol.* 38(8):895–901, doi:10.1016/j.lwt.2004.08.017
- Beluhan, S., Ranogajec, A. (2011). Chemical composition and non-volatile components of croatian wild edible mushrooms. *Food Chem.* 124(3):1076–1082, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.081
- Blackburn, S. (1968). Amino Acid Determination; Methods and Techniques. New York: M. Dekker.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Phys.* 37(8): 911–917. doi: 10.1139/o59-099

- Cardinal, M., Cornet, J., Donnay-Moreno, C., Gouygou, J.P., Berge, J.P., Rocha, E., Soares, S., Escorcio, C., Borges, P., Valente, L.M.P. (2011). Seasonal variation of physical, chemical and sensory characteristics of sea bream (*Sparus aurata*) reared under intensive conditions in Southern Europe. *Food Control*, 22(3-4):574-585, doi:10.1016/j.foodcont.2010.10.007
- Cheung, L.K.Y., Tomita, H., Takemori, T. (2016). Mechanisms of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acid loss from pacific saury and comparison of their retention rates after various cooking methods. *J Food Sci.* 81(8):1899-1907, doi:10.1111/1750-3841.13367
- CIE, (1995). Industrial colour-difference evaluation. CIE Publication 116. Vienna, Austria: Central Bureau of the CIE.
- Corapci, B., Kostekli, B., Eyuboglu, A., Kocatepe, D. (2020). The effect of different application methods of sumac (*Rhus coriaria*) and tarragon (*Artemisia dracuncululus*) on some quality properties of marinated sea bream (*Sparus aurata* L., 1758). *J. Food Process. Preserv.* 44, (10), doi:10.1111/jfpp.14751
- Dang, Y., Gao, X., Ma, F., Wu, X. (2015). Comparison of umami taste peptides in water-soluble extractions of jinhua and parma hams. *LWT-Food Sci Technol.* 60(2):1179-1186, doi:10.1016/j.lwt.2014.09.014
- Falch, E., Overrien, I., Solberg, C., Slizyte, R. (2010). Composition and Calories. In: Nolle, L. M. L. – Toldrá, F. (Eds): *Seafood and Seafood Product Analysis. Part III (Chapter 16)*, New York: CRC Press. pp 257-288.
- Friedman, M. (1996). Nutritional value of proteins from different food sources. *J. Agric. Food Chem.* 44(1):6-29, doi:10.1021/jf9400167
- Hoffman, L.C., Tlhong, T.M. (2012). Proximate and fatty acid composition and cholesterol content of different cuts of guinea fowl meat as affected by cooking method. *J Sci Food Agric.* 92(13): 2587–2593, doi: 10.1002/jsfa.5682
- Kawai, T. (1996). Fish Flavor. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 36(3):257–298.
- Kaya, Y., Kocatepe, D. (2014). Chemical composition and nutritional quality of scorpion fish (*Scorpaena porcus*, linnaeus 1758) muscle. *Indian J. Anim. Res.* 48 (1): 83-87, doi:10.5958/j.0976-0555.48.1.018
- Love, M.S., Axell, B., Morris, P., Collins, R., Brooks, A. (1987). Life history and fishery of the california scorpionfish, *scorpaena guttata*, within the southern california bight. *Fish Bull.* 85(1):99-116.
- Ludorff, W., Meyer, V. (1973). *Fishe und fisherzeuge. Z.Auflage. Verlag Paul Parey.* In, Berlin und Hamburg: 209-210.
- Matsuda, H., Llave, Y., Fukuoka, M., Sakai, N. (2013). Color changes in fish during grilling – influences of heat transfer and heating medium on browning color. *J Food Eng.* 116(1):130–137, doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.11.027
- Mau, J.L., Lin, Y.P., Chen, P.T., Wu, Y.H., Peng, J.T. (1998). Flavor compounds in king oyster mushrooms *Pleurotus eryngii*. *J Agric Food Chem.* 46(11):4587–4591, doi:10.1021/jf980508
- Moradi, Y., Bakar, J., Motalebi, A.A., Syed Muhamad, S.H., Man, Y.C. (2011). A review on fish lipid: composition and changes during cooking methods. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 20:379–390, doi:10.1080/10498850.2011.576449
- Ninomiya, K. (2002). Umami: A Universal Taste. *Food Rev Int.* 18(1):23-38.
- Ozden, O., Erkan, N. (2011). A preliminary study of amino acid and mineral profiles of important and estimable 21 seafood species. *Br Food J.* 113(4):457-469, doi:10.1108/00070701111123943
- Salmon, C.P., Knize, M.G., Felton, J.S., Zhao, B., Seow, A. (2006). Heterocyclic aromatic amines in domestically prepared chicken and fish from singapore chinese households. *Food Chem. Toxicol.* 44(4):484–492, doi:10.1016/j.fct.2005.08.022
- Schiffman, S.S. (1975). Taste of nutrients: amino acids, vitamins, and fatty acids. *Percep. Phsch.* 17(2):140-146.
- Schubring, R. (2003). Colour measurement for the determination of the freshness of fish. In: JB. Luten, J. Oehlenschlager and G. Olafsdottir,



- Editors, Quality of Fish from Catch to Consumer: Labelling, Monitoring and Traceability, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 251–263.
- Semedo Tavares, W.P., Dong, S., Yang, Y., Zeng, M., Zhao, Y. (2018). Influence of cooking methods on protein modification and in vitro digestibility of hairtail (*Thichiurus lepturus*) filets. *Food Sci. Technol.* 96:476–481, doi:10.1016/j.lwt.2018.06.006
- Tokur, B. (2007). The effect of different cooking methods on proximate composition and lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int. J Food Sci Technol.* 42(7):874–879, doi:10.1111/j.1365-2621.2006.01298.x
- TUIK. (2019). Fisheries Statistics. Turkey Statistical Institute. [http://tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1005\\_](http://tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1005_)
- Türk Culha, S., Yabanlı, M., Baki, B., Yozukmaz, A. (2016). Heavy metals in tissues of scorpionfish (*Scorpaena porcus*) caught from Black Sea (Turkey) and potential risks to human health. *Environ Sci Pollut Res.* 23(20):20882–20892, doi:10.1007/s11356-016-7337-2
- Uran, H., Gökoglu, N. (2014). Effects of cooking methods and temperatures on nutritional and quality characteristics of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *J Food Sci Technol.* 51(4):722–728, doi:10.1007/s13197-011-0551-5
- WHO. (2007). Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. WHO Technical Report Series. No: 935.
- Yamaguchi, S., Ninomiya, K. (2000). Umami and food palatability. *J Nutr.* 130 (4):921–926, doi:10.1093/jn/130.4.921s
- Zhang, Y., Venkatasamy, C., Pan, Z., Wang, W. (2013). Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms—A review. *Trends Food Sci Technol.* 33(2):78–92, doi:10.1016/j.tifs.2013.08.002

**KİTOSAN BAZLI ETİL PİRÜVAT FİLMLEİN FİZİKOKİMYASAL,  
ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL VE ANTİ-QUORUM SENSİNG  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Burcu Kaya, Nükhet Nilüfer Zorba\*, Cengiz Caner**

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

Geliş / Received: 02.08.2021; Kabul / Accepted: 18.10.2021; Online baskı / Published online: 17.11.2021

Kaya, B., Zorba, N.N., Caner, C. (2021). Kitosan bazlı etil pirüvat filmlerin fizikokimyasal, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-quorum sensing özelliklerinin belirlenmesi. *GIDA* (2021) 46 (6) 1425-1439 doi: 10.15237/gida.GD21111.

Kaya, B., Zorba, N.N., Caner, C. (2021). Determination of physicochemical, antioxidant, antimicrobial and anti-quorum sensing properties of chitosan films incorporated with ethyl pyruvate films. *GIDA* (2021) 46 (6) 1425-1439 doi: 10.15237/gida.GD21111.

**ÖZ**

Bu çalışmada kitosan film formülasyonuna iki farklı (%1 ve %3) konsantrasyonda etil pirüvat ilave edilerek, çevre dostu bir ambalaj materyali geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda hazırlanan film örneklerinin nem, suda çözünürlük, görünür yoğunluk, renk, biyobozunurluk, kimyasallara karşı direnç özellikleri belirlenerek, filmlerin yüzey morfolojisi SEM, fonksiyonel grupları ise FTIR ile karakterize edilmiştir. Ayrıca film örneklerinin antimikrobiyal ve anti-quorum sensing aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuç olarak formülasyona etil pirüvat eklenmesiyle kitosan filmin nem içeriği, görünür yoğunluğu, biyobozunurluğu ve antioksidan aktivitesi artmıştır. SEM görüntüleri incelendiğinde ise etil pirüvatın, kitosan filmlerde gözenekli yapı oluşumuna neden olduğu gözlemlenmiştir. Film örnekleri *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Alternaria arborescens*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium citrinum* ve *Penicillium expansum* suşlarına karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Buna ek olarak tüm film örneklerinin anti-quorum sensing aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre özellikle CS-EP1 filminin, doğa dostu alternatif gıda ambalajı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kitosan, etil pirüvat, SEM, FTIR, antimikrobiyal, anti-quorum sensing

**DETERMINATION OF PHYSICO-CHEMICAL, ANTIOXIDANT,  
ANTIMICROBIAL AND ANTIQUORUM SENSING PROPERTIES OF  
CHITOSAN FILMS INCORPORATED WITH ETHYL PYRUVATE FILMS**

**ABSTRACT**

The aim of this study is to develop an environmentally friendly packaging material by adding ethyl pyruvate (EP) to the chitosan film (CS) formulation in two different concentrations (1% and 3%). Thus, the moisture, water solubility, apparent density, color, biodegradability, and chemical resistance

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: dnukhet@comu.edu.tr

☎: (+90) 286 218 0018 / 20053

☎: (+90) 286 218 0541

Burcu Kaya; ORCID no: 0000-0003-1755-7705

Nükhet Nilüfer Zorba; ORCID no: 0000-0001-6851-6474

Cengiz Caner; ORCID no: 0000-0002-8293-7301

of the films were determined, and the surface morphology was characterized by SEM and functional groups were characterized by FTIR. Additionally, the antimicrobial and anti-q<sub>s</sub> activities of the films were determined by the disk diffusion method. The moisture, apparent density, biodegradability, and antioxidant activity of chitosan film were increased by adding EP. It was observed that EP caused porous structure in CS. Films showed antimicrobial effect against *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Alternaria arborescens*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium citrinum* and *Penicillium expansum*. It was determined that all films showed anti-q<sub>s</sub> activity. Results showed that CS-EP1 film can be used as an alternative food packaging

**Keywords:** Chitosan, ethyl pyruvate, SEM, FTIR, antimicrobial, anti-quorum sensing

## GİRİŞ

Günümüzde sürdürülebilirlik ve çevre güvenliğini sağlamak amacıyla artan talep, gıda ambalajlamada doğa dostu ambalaj materyali geliştirmeye yönelik çalışmaların hızla artmasına neden olmuştur (Avella vd., 2005; Othman, 2014). Kitosan yengeç, karides gibi deniz kabuklularından ekstrakte edilen bir polisakarittir (Nataraj vd., 2018). 2001 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından GRAS (Generally Recognized As Safe-genel olarak güvenli kabul edilir) olarak bildirilmiştir (Perinelli vd., 2018). Kitosanın toksik olmaması gıda, biyomedikal, kozmetik ve tarım gibi birçok farklı alanda kullanımına olanak sağlamıştır (Al-Naamani vd., 2017; Singh vd., 2019). Gıda endüstrisinde et ve meyve yüzeyindeki bozulmaların önlenmesi, su kaybının azaltılması ve meyve olgunlaşmasının geciktirilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Shankar ve Rhim, 2018). Ancak son dönemde yapılan çalışmalar, kitosanın polimer olarak gıda ambalajlamada kullanımına dikkat çekmektedir. Özellikle tek başına antimikrobiyal aktiviteye sahip olması, onu diğer polimerlerden öne çıkarmaktadır (Perdones vd., 2016; Zhang vd., 2017; Lee vd., 2018). Kitosanın antimikrobiyal etki mekanizması, yüzeyinde bulunan pozitif yükler ile mikroorganizmanın hücre zarında bulunan negatif yükler arasındaki etkileşim ile açıklanmaktadır. (Zhang vd., 2021; da Silva vd., 2017). Bu etkileşim, mikroorganizma hücre membranında hasara yol açarak, hücre sitoplazmasında yer alan iyon ve proteinlerin ekstrasellüler boşluğa geçmesine neden olmaktadır. Ardından oluşan ozmotik basınç ile hücre ölümü gerçekleşmektedir (Perinelli vd., 2018). Buna rağmen, yüksek suda çözünürlük ve

düşük UV engelleme özelliği gibi çeşitli dezavantajları, gıda ambalajlamada kullanımını sınırlandırmaktadır (Zhang vd., 2021). Bu nedenle araştırmacılar, kitosan bazlı polimerlerin, dezavantajlarını geliştirmeye yönelik çalışmalar yapmaktadır. Örneğin kitosan filmlere ilave edilen 2-fenil etanol, gallik asit, gümüş nanopartikül, mor mısır ekstraktı gibi çeşitli maddelerin, kitosan filmlerin termal, su buharı geçirgenliği, antioksidan ve antimikrobiyal özelliğini geliştirdiği bildirilmiştir (Jakubowska vd., 2020; Zarandona vd., 2020a; Zarandona vd., 2020b; Qin vd., 2019).

Etil pirüvat, pirüvatın stabil bir lipofilik ester türevidir ve günümüzde terapötik ajan olarak bilinmektedir (Ulloa vd., 2002; Tornuk ve Durak, 2015). Gıda endüstrisinde buhar fazında gıda kaynaklı patojenlere karşı taze ve işlenmiş yüzeylerdeki mikrobiyal yükü azaltmak amacıyla kullanılmaktadır (Bozkurt vd., 2016). ABD, Gıda ve İlaç Dairesi tarafından belirli koşullar altında GRAS sınıfında kabul edilmektedir (Cetin vd., 2019a). Etil pirüvatın mikroorganizmalar üzerindeki etki mekanizması tam olarak açıklanmamıştır. Ancak uçucu özellikte olması nedeniyle, bitki dokularında maskelenen patojenlere kolaylıkla ulaşabileceği bildirilmektedir (Wang vd., 2019).

Literatürdeki çalışmalar uçucu yağ veya fenolik bileşikler gibi çeşitli doğal bileşenlerin, elde edilen kitosan bazlı filmlerin antimikrobiyal, antioksidan ve fizikokimyasal özelliklerini geliştirdiğini bildirmiştir (Yadav vd., 2020). Ancak etil pirüvat içeren filmler üzerine yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bundan dolayı yapılan çalışmanın amacı, etil pirüvat içeren kitosan bazlı filmlerin

fizikokimyasal, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-quorum sensing aktivitesi belirlenerek, petrol türevi ambalaj materyallerine alternatif bir gıda ambalaj materyali geliştirmektedir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Filmler %90 deasetilasyon derecesine ve  $1.8 \times 10^5$  g/mol molekül ağırlığına sahip kitosan (Dungeness Enviromental, ABD), asetik asit (Sigma-Aldrich, ABD), gliserol (Sigma-Aldrich, ABD), Tween 80 (Merck, Almanya) ve etil pirüvat (Alfa aesar, ABD) kullanılarak hazırlanmıştır.

### Filmlerin üretimi

Aday ve Caner (2010), tarafından uygulanan yöntem esas alınarak etil pirüvat filmleri %1.5 (w/v) kitosan çözeltisinde hazırlanmıştır. Etil pirüvat, kitosan film formülasyonuna iki farklı konsantrasyonda (%1 ve %3 w/w) eklenmiştir. Ayrıca uçuculuğu engellemek amacıyla etil pirüvatın, film formülasyonuna Tween 80 ile ilave edilerek hazırlanmıştır.

### Filmlerin Fiziksel Özellikleri

#### Film kalınlığı

0.001 mm hassasiyete sahip elektronik dijital mikrometre (Dasqua, İtalya) kullanılarak filmlerin kalınlıkları belirlenmiştir.

#### Nem ve suda çözünürlük

5 mm çapında kesilen filmler tartılarak, 105 °C 'de 24 saat kurutulduktan sonra ikinci bir tartım alınmıştır. Denklemine göre film nem içeriği % olarak hesaplanmıştır (De Elguea-Culebras vd., 2019).

$$\% \text{ Nem içeriği} = \frac{M_o - M}{M_o} \quad (1)$$

\* $M_o$  ve  $M$  sırasıyla kurutma öncesi ve sonrası ağırlıktır.

Suda çözünürlük, filmlerin 1 saat damıtık suda tutulduktan sonra, çözünen filmin kuru maddesinin yüzdesi olarak belirlenmiştir. Rastgele seçilen 5 mm çapındaki film örneği, 24 saat boyunca 105 °C'de etüvde kurutulduktan sonra ilk ağırlığı belirlenmiştir. İlk ağırlığı belirlenen film örnekleri, damıtık su içeren beherde 25 °C'de 1

saat boyunca muhafaza edilmiştir. Beherden çıkarılan film örneği damıtık su ile hafifçe durulanmış ve ardından etüvde tekrar kurularak (105 °C, 24 saat) suda çözünmeyen kuru madde, aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (De Elguea-Culebras vd., 2019).

$$\% \text{ Çözünürlük} = \frac{S_o - S}{S_o} \quad (2)$$

\* $S_o$  filmin başlangıçtaki ağırlığı,  $S$  filmin çözünmeyen kuru ağırlığıdır.

### Görünür yoğunluk

Film görünür yoğunluğu, Lozano-Navarro vd. (2018) tarafından uygulanan yöntem referans alınarak belirlenmiştir. Dairesel olarak kesilen filmlerin ağırlıkları belirlendikten sonra çap ve kalınlık ölçümü yapılarak verilen formüle göre görünür yoğunluk hesaplanmıştır.

$$\rho = \frac{W}{\pi \cdot \frac{D^2}{4} \cdot H} \quad (3)$$

\* $D$  = Örnek çapı,  $H$  = Örnek kalınlığı,  $W$  = Örnek ağırlığı

### Renk özellikleri

Filmlerin renk değerleri ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), Minolta CR-400 kalorimetresi (Minolta, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Buna ek olarak belirlenen  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerlerine göre filmlere ait Hue°, TCD, WI ve YI değerleri verilen formüllere göre hesaplanmıştır (Ortiz-Duarte vd., 2019).

$$\text{Hue}^\circ = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (4)$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (5)$$

$$\text{WI} = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (6)$$

$$\text{YI} = 142.86 \frac{b^*}{L^*} \quad (7)$$

### Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Filmlerin yüzey morfolojileri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (ÇOBİLTUM) 'nde bulunan JEOL marka taramalı elektron mikroskobu (JSM-7100F, Japan) ile belirlenmiştir.  $8 \times 10^1$  mbar/Pa vakum ve 10 mA voltaj altında film örneklerine

altın-paladyum kaplama yapılmıştır. Kaplama yapılan örneklerin 5 kV voltajda görüntüleri kaydedilmiştir.

#### **Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektrometresi (FTIR)**

FTIR spektrumları Nicolet IS50 (Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, ABD) ile belirlenmiştir. 16 cm<sup>-1</sup> çözünürlük ve 650-4000 cm<sup>-1</sup> arasındaki spektra aralığında çalışılmıştır.

#### **Filmlerin biyobozunurluk ve kimyasala karşı direnç özellikleri**

5 mm çapında kesilen film örnekleri biyobozunurluk için aktif çamur ve distile su, kimyasal direnç için 2 N hidroklorik asit (HCl), 2 N sodyum hidroksit (NaOH) ve %1 sodyum klorür (NaCl) içerisinde 2 ay boyunca muhafaza edilmiştir. Film örneklerinin biyobozunurluk ve kimyasal direnç özellikleri, muhafaza süresi boyunca her 10 günde bir tartım yapılarak % ağırlık kaybı olarak hesaplanmıştır (Swain vd., 2013).

#### **Antioksidan aktivite**

Filmlerin antioksidan özellikleri 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi ile belirlenmiştir. Karanlık bir ortamda 10 mg film örneği, 1.0 mL DPPH (6×10<sup>5</sup> M) çözeltisi içerisinde 3 saat tutulmuştur. Süre sonunda 517 nm'de spektroskopik ölçüm yapılmıştır. Denklem göre % inhibisyon hesaplanmıştır (Akyuz vd., 2018).

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left( \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \right) \times 100 \quad (8)$$

\*A<sub>kontrol</sub> DPPH çözeltisinin absorbanansı A<sub>örnek</sub> ise film+DPPH çözeltisinin absorbanansı ifade etmektedir.

#### **Antimikrobiyal aktivite**

##### *Test mikroorganizmaları*

Filmlerin antimikrobiyal etkisini belirlemek için Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan *Staphylococcus aureus* ATCC-25923, *Salmonella Typhimurium* ATCC-14028, *Escherichia coli* 0157:H7 EDL-937, *Bacillus*

*cereus* NCTC-7464 ve *Candida albicans* ATCC-10231 suşları kullanılmıştır. *Aspergillus flavus* NRRL-21882, *Penicillium expansum* CECT-2280, *Penicillium citrinum* CECT-20822, *Penicillium digitatum* CECT-20795, *Alternaria arborescens* kültürleri ise Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Burhan Şen'den temin edilmiştir. Bakteri kültürleri Tryptic Soy Broth (Oxoid, İngiltere), küf kültürleri Potato Dextrose Agar (Difco, Fransa) ve maya kültürleri Sabouraud Dextrose Broth (Biolife, İtalya) besiyerinde geliştirildikten sonra 4 °C'de stoğa alınmıştır.

#### **Antibakteriyel etkinin disk difüzyon testi ile belirlenmesi**

Bakteri kültürleri Tryptic Soy Broth besiyerinde 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek 0.5 McFarland (1×10<sup>8</sup> kob/ml) bulanıklığına ayarlanmıştır. 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlanan kültürler, Muller Hinton Agar (MHA) besiyerine 100 µL inoküle edilmiştir. 5 mm çapında kesilen disk şeklindeki film örnekleri, besiyeri üzerine yerleştirilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonları ölçülerek değerlendirilmiştir (Seydim ve Sarıkuş, 2006; Rhim vd., 2006).

#### **Antifungal etkinin disk difüzyon testi ile belirlenmesi**

Küf kültürleri Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerinde 25 °C'de 14 gün inkübe edilerek %0.1 Tween 80 içeren %0.1 pepton içinde süspansiyon edilmiştir. Maya kültürleri ise Sabouraud Dextrose agar besiyerinde 30 °C'de 5 gün inkübe edilmiştir. Ardından küfler spektrofotometre kullanılarak 530 nm'de %68-82 T'ye karşılık gelen 10<sup>6</sup> spor/mL konsantrasyona ayarlanmıştır (Pfaller ve Messel, 2000). Mayalar ise 2 MacFarland (10<sup>6</sup> kob/mL) konsantrasyona ayarlanarak hazırlanan süspansiyonlardan, PDA besiyerine 100 µL inoküle edilmiştir. Ardından 5 mm çapındaki disk şeklindeki filmler, besiyeri üzerine yerleştirilerek ve 25 °C'de 7 gün inkübe edilmiştir (Ignatova vd., 2006). İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonları değerlendirilmiştir.

**Anti-quorum sensing aktivite****Test Mikroorganizması**

*Chromobacterium violaceum* CV026 ve *Pseudomonas aeruginosa* (PAO-1) kanamisin içeren Luria-Bertani (LB) besiyerinde 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

**Disk difüzyon testi**

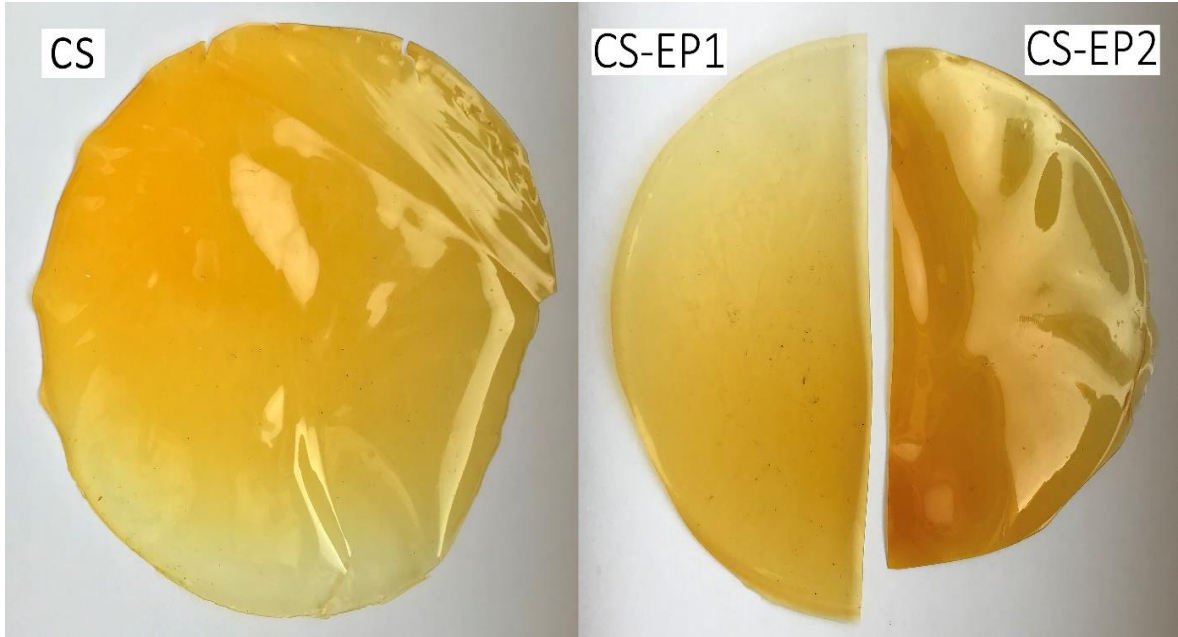
Filmlerin anti-quorum sensing aktivitesi disk difüzyon testi ile belirlenmiştir. 0.5 McFarland konsantrasyona ayarlanan test kültürleri %0.8 agar ve 20 µL C6-HSL içeren LB besiyerine inoküle edilmiştir. 5 mm disk şeklinde kesilen film örnekleri besiyeri üzerine yerleştirilmiş ve 30 °C'de 24 saat inkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonları ölçülmüştür (Akyuz et al., 2018).

**İstatistiksel analiz**

İstatistiksel analizler SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chiago, IL, USA) programı ile gerçekleştirilmiştir. Filmler arasındaki istatistiksel farklılıklar ANOVA varyans analizi ile belirlenerek karşılaştırmalar Duncan testi kullanılarak yapılmıştır.  $P < 0.05$  istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

**ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA**  
**Filmlerin fiziksel özellikleri**

Hazırlanan filmlerin görüntüleri Şekil 1'de verilmiştir. %1 etil pirüvat/kitosan (CS-EP1) ve %3 etil pirüvat/kitosan (CS-EP2) içeren filmlerin kalınlık değerinin, kontrol (CS) filmin kalınlık değeri ile farklılık gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 1). Ancak bu farklılıkların istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Film kalınlığının farklı olması, polisakkarit matriks ile etil pirüvat arasındaki interaksyondan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür (Lian vd., 2020).



Şekil 1. Film görüntüleri

Figure 1. Images of films

Çizelge 1. Filmlere ait kalınlık, nem, suda çözünürlük ve görünür yoğunluk değerleri,  
 Table 1. Film thickness, humidity, water solubility and visible density of films.

Film	Kalınlık (mm) <i>Thickness</i>	Nem (%) <i>Humidity</i>	Suda Çözünürlük (%) <i>Water solubility</i>	Görünür Yoğunluk (g/cm <sup>3</sup> ) <i>Apparent density</i>
CS	0.233±0.069	22.79±0.61b	23.21±0.00a	0.5088±0.0330
CS-EP1	0.191±0.059	24.98±0.80a	21.25±0.35a	0.5885±0.0220
CS-EP2	0.312±0.063	14.85±0.71c	18.38±0.74b	0.6448±0.0894

\*CS: Kitosan, CS-EP1: %1 Etil pirüvat, CS-EP2: %3 Etil pirüvat

\*Aynı sütun üzerinde belirtilen farklı harfler istatistiksel açıdan ortalamalar arasındaki farklılığı ifade etmektedir ( $P < 0.05$ ).

%1 etil pirüvat, kitosan filmin nem içeriğini önemli düzeyde arttırmıştır ( $P < 0.05$ ). Ancak kitosan ve CS-EP1 filmlerinin suda çözünürlük değerleri incelendiğinde, anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ( $P > 0.05$ ). Buna ek olarak %3 etil pirüvat, kitosan filmin nem içeriği ve suda çözünürlüğünde önemli düzeyde azalmaya neden olmuştur ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 1). Filmlerin suda çözünürlüğü, su varlığında filmin suya karşı gösterdiği direncin göstergesidir ve gıda ambalajı için önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir (Ghaderi vd., 2019). Buna göre film formülasyonuna eklenen %3 etil pirüvatın, kitosan filmin suda çözünürlüğünü geliştirdiği belirlenmiştir.

Görünür yoğunluk filmlerin gözeneklilik ve filtrasyon kapasitesi hakkında bilgi vermektedir (Lozano-Novarro vd., 2018). İstatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmamasına rağmen etil pirüvat

filmlerin, her iki konsantrasyonu görünür yoğunluğu arttırmıştır ( $P > 0.05$ ) (Çizelge 1).

Renk, gıdanın görünümünü ve tüketici tercihini doğrudan etkileyen önemli bir parametredir (Ghaderi vd., 2019). Kitosan film örneklerine etil pirüvat eklenmesi, filmlerin L\* (parlaklık) değerinde önemli düzeyde artışa yol açmıştır ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 2). Benzer şekilde parlaklık ve sarı-mavilik değerlerinin matematiksel olarak bir arada veren WI ve ton açısını ifade eden Hue° değerlerinde önemli düzeyde artış saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Renk farklılıklarını veren TCD değeri ve ürün bozulmasını ifade eden sarılık indeksi (YI) değeri ise %1 etil pirüvat eklenmesiyle önemli düzeyde azalmıştır ( $P < 0.05$ ). Kitosanın sarı rengi, tekrarlayan 2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose birimlerinden kaynaklanmaktadır (Salari vd., 2021). YI değerindeki azalma, etil pirüvat ve kitosan arasındaki interaksyonun glukopronaz halkalarını etkilendiğini göstermektedir.

Çizelge 2. Filmlere ait renk değerleri  
 Table 2. Color value of films

Film	L*	a*	b*	Hue°	TCD ( $\Delta E$ )	WI	YI
CS	79.22±1.64b	0.56±0.06a	26.19±0.90a	88.48±0.27b	37.81±0.26b	58.36±0.45b	64.83±0.96a
CS-EP1	81.42±0.43a	-0.03±0.01ab	23.08±0.53b	89.77±0.20a	36.24±0.36a	70.74±0.82a	40.27±0.90c
CS-EP2	81.32±0.00a	-0.36±0.01b	28.32±0.71a	89.09±0.29a	37.49±0.45b	64.19±3.98a	50.93±0.29b

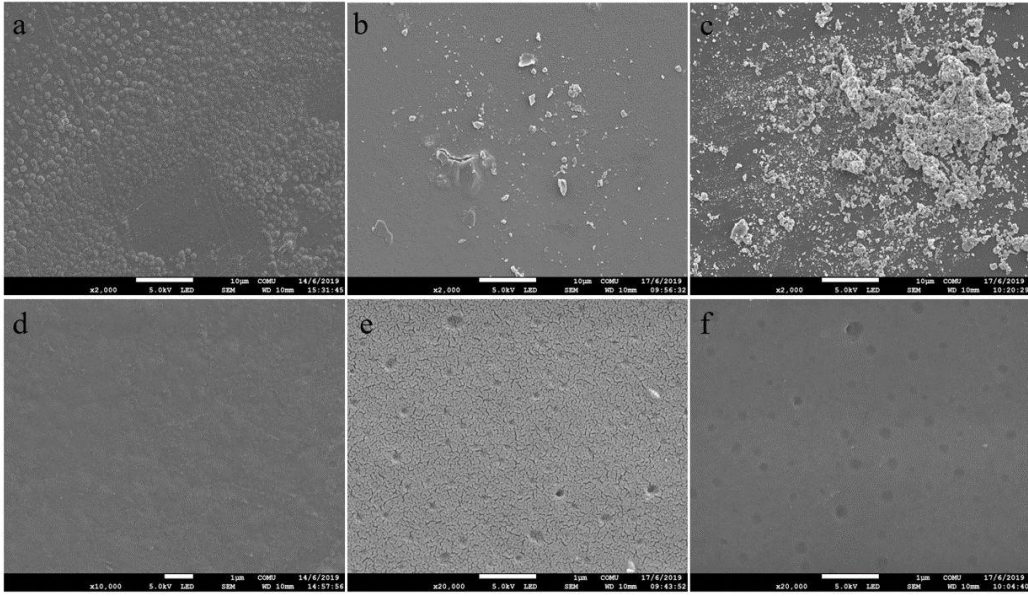
\*Aynı sütun üzerinde belirtilen farklı harfler istatistiksel açıdan ortalamalar arasındaki farklılığı ifade etmektedir ( $P < 0.05$ ).

\*CS: Kitosan, CS-EP1: %1 Etil pirüvat, CS-EP2: %3 Etil pirüvat

### SEM

CS, CS-EP1 ve CS-EP2 filmlerinin yüzey morfolojileri SEM ile incelenmiştir (Şekil 2). CS film örneğinde, homojen ve pürüzsüz bir yapı oluşmuştur. Ancak etil pirüvat konsantrasyonu arttıkça bazı noktalarda kitosan agregasyonunun meydana geldiği ve CS-EP1 ve CS-EP2 film örneklerinde 0.15-0.53  $\mu\text{m}$  boyutlarında

gözeneklerin varlığı gözlemlenmiştir. Buna ek olarak CS-EP1 yüzeyinde çatlakların olduğu, CS-EP2 yüzeyinde ise çatlakların olmadığı saptanmıştır. Sarıcaoglu vd. (2018), gözenekli yapı oluşumunun filmlerin su buharı geçirgenliği ile ilişkili olduğunu ve gözenekli yapının geçirgenliği arttırdığını bildirmiştir.



Şekil 2. Filmlere ait SEM görüntüleri a, d) CS (2000X, 10000X); b,e) CS-EP1 (2000X, 20000X); c, f) CS-EP2 (2000X, 20000X)

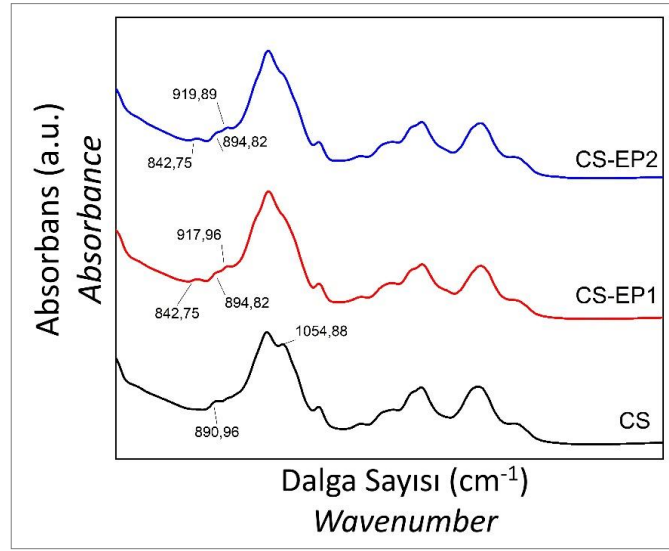
*Figure 2. SEM images of films*

### FTIR

FTIR ile CS, CS-EP1 ve CS-EP2 filmlerin fonksiyonel grupları belirlenmiştir (Şekil 3). Tüm film örneklerinde benzer pik deseni belirlenmiştir. Çalışmada kitosana ait amid pikleri  $1642.68\text{ cm}^{-1}$  (C=O gerilme, amid I),  $1549.29\text{ cm}^{-1}$  (N-H bükme, amid II) ve  $1251.61\text{ cm}^{-1}$  (C-N gerilme, amid III) tespit edilmiştir (Menazea ve Ahmed, 2020; Yadav vd., 2020; Chang vd., 2019). Buna ek olarak  $1027.63\text{ cm}^{-1}$  (C-O gerilmesi) ve  $2933.33\text{ cm}^{-1}$  (C-H simetrik gerilme) pikleri belirlenmiştir (Wang vd., 2016; Fernandes Queiroz vd., 2015). Chang vd. (2019),  $3421.28\text{--}3418.60\text{ cm}^{-1}$  piklerinin hidroksil grubuna ait olduğunu bildirmiştir. Bundan dolayı  $3007.75\text{--}3597.99\text{ cm}^{-1}$  arasındaki geniş pikin hidroksil grubuna ait olduğu

belirlenmiştir. Ayrıca kitosan matriksinin glukopiranoz halkasına özgü absorpsiyon pikleri  $1054.88$  ve  $890.96\text{ cm}^{-1}$  (C-O-C, anti-simetrik gerilme) tespit edilmiştir (Oh vd., 2019; Shankar ve Rhim, 2018; Fernandes Queiroz, 2015).  $1054.88\text{ cm}^{-1}$  (C-O-C, anti-simetrik gerilme) absorpsiyon piki CS-EP1 ve CS-EP2 filmlerinde saptanamamıştır. Bu durum, kitosan ve etil pirüvat arasındaki interaksiyonun göstergesidir. Ayrıca CS-EP1 ve CS-EP2 filmlerinde, kontrol gruptan farklı olarak  $917.96$  ve  $919.89\text{ cm}^{-1}$  dalga boyunda, etil pirüvatın yapısında yer alan oxo-propionik asit etil ester köprüsünün düzlem içi deformasyonundan kaynaklanan pikler olabileceği belirlenmiştir (Beaula and James, 2014).



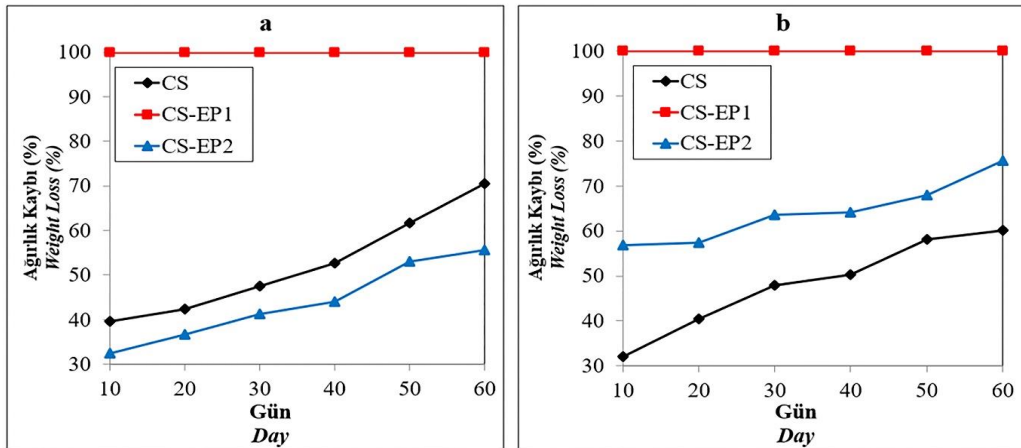


Şekil 3. Filmlere ait FTIR spektrumları  
Figure 3. FTIR spectra of the films

#### Filmlerin biyobozunurluk ve kimyasallara karşı direnç özellikleri

Filmlerin biyolojik parçalanabilme özelliği, termal direnç ve gaz geçirgenliği ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Swain vd., 2013). Biyolojik parçalanabilirliğin zayıf olması, filmlerin belirtilen özelliklerinin zayıf olduğunun göstergesi kabul edilebilir. CS-EP1 filmi ilk 10 gün içinde aktif çamur ve distile suda tamamen kaybolmuştur. CS-

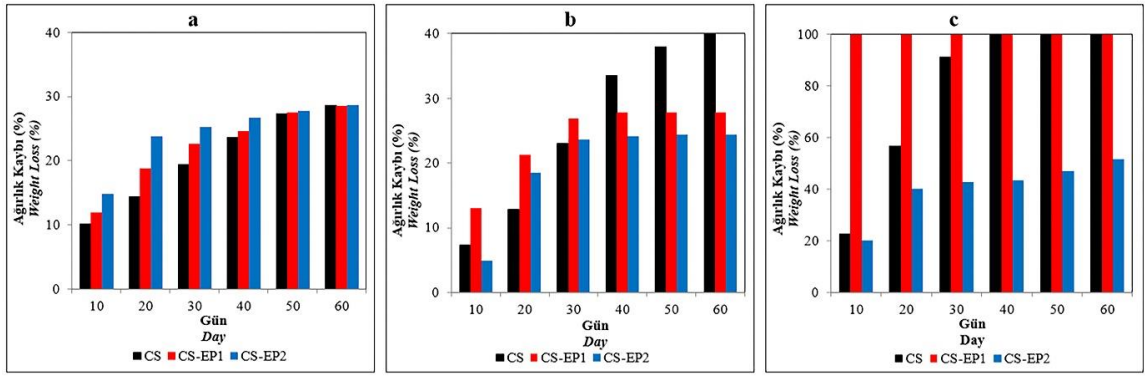
EP2 ise, CS filme göre aktif çamurda daha az, distile suda daha yüksek parçalanma özelliği göstermiştir (Şekil 4). Buna göre kitosan film içerisine ilave edilen etil pirüvatın, kitosan filmin termal direnç ve gaz geçirgenliğini arttırdığı söylenebilir. CS-EP1 ve CS-EP2 filmlerinin SEM görüntülerinde tespit edilen gözenekler bunu desteklemektedir.



Şekil 4. (a) damıtılmış su ve (b) aktif çamurdaki filmlerin zamana bağlı ağırlık kaybı (%)  
Figure 4. The weight loss (%) of films due to treatment of (a) distilled water and (b) activated sludge at different interval of time.

Filmlerin etil pirüvat içeriği arttıkça hidroklorik asit çözeltisindeki çözünürlüğü artmıştır (Şekil 5). Buna karşın filmlerin, etil pirüvat konsantrasyonu arttıkça NaOH çözeltisi içerisindeki film çözünürlüğü azalmıştır. %1 NaCl çözeltisinde ise CS-EP1 filmi ilk 10 gün, CS filmi 40 günde tamamen yok olmuştur. Ancak CS-EP2 filmi, 60 günde %51.6 ağırlık kaybına uğramıştır. Tuzlar

polimer yapı içerisindeki hidrofobik olarak ikame edilmiş bölgelerin kümelenmesine neden olmaktadır (Zhang vd., 2013). Bu neden ile tuzların, polimer hidrasyon kılıfındaki su molekülleri ile rekabet ederek, polimer-su etkileşimlerini modüle ettiği ve CS-EP2 filminin çözünürlüğünü azaltmış olabileceği düşünülmüştür.



Şekil 5. Filmlerin (a) 2 N HCl, (b) 2 N NaOH ve (c) 1% NaCl içerisinde zaman bağlı ağırlık kaybı (%)  
 Figure 5. The weight loss (%) of films due to treatment of (a) 2 N HCl, (b) 2 N NaOH and (c) 1% NaCl at different interval of time.

### Antioksidan aktivite

Antioksidan aktivite, lipit oksidasyonunu geciktirerek gıdanın muhafaza süresinin uzamasına yardımcı olan önemli bir parametredir (Çoban ve Patır, 2010). Çalışmada CS, CS-EP1 ve CS-EP2 filmlerinin inhibisyon değerleri sırasıyla  $20.81 \pm 0.82$ ,  $35.69 \pm 0.39$ ,  $22.15 \pm 0.55$  olarak tespit edilmiştir. Kitosan film formülasyonuna eklenen etil pirüvat, antioksidan aktiviteyi artmıştır. Bu artışın CS-EP1 filmi için istatistiksel açıdan önemli ( $P < 0.05$ ) olduğu, CS-EP2 filmi için ise önemli olmadığı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ). Benzer şekilde Akyuz vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, kitosan filmin antioksidan özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Fink (2007) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, pirüvatın serbest radikal süpürücü aktivitesine sahip olduğunu bildirilmiştir. Bu durum CS-EP1 ve CS-EP2 filmlerin antioksidan özelliğini neden arttırdığını açıklamaktadır. Ayrıca CS-EP1 filminin antioksidan aktivitesinin, CS-EP2'den daha yüksek olmasının nedeni, CS-EP1 filminin

analiz çözeltisi içerisindeki çözünürlüğünün yüksek olmasından kaynaklı olduğu düşünülmüştür.

### Antimikrobiyal aktivite

CS, CS-EP1 ve CS-EP2 filmleri, test edilen tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki göstermiştir (Çizelge 3). Film formülasyonuna eklenen %1 etil pirüvat, filmlerin *E. coli* O157:H7, *B. cereus* ve *S. aureus* suşlarına karşı gösterdiği antibakteriyel etkiyi önemli düzeyde arttırmıştır ( $P < 0.05$ ). En yüksek antibakteriyel etkiyi CS-EP1 filmi göstermiştir. Etil pirüvat konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etki azalmıştır. Benzer şekilde %1 etil pirüvatın, CS filmin *A. arborescens*, *A. flavus*, *P. digitatum*, *P. citrinum* ve *P. expansum* suşlarına karşı gösterdiği antifungal etkiyi önemli düzeyde arttırdığı belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Ayrıca film formülasyonunda, etil pirüvat konsantrasyonu arttıkça antimikrobiyal etkinin önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Bu durum Goy ve Assis (2014) tarafından yapılan

çalışmada da belirlenmiş, araştırmacılar bunu film çözeltisinin konsantrasyonunun artmasının, çözücünün ortamdaki uzaklaştırılması sırasında polimer zincirindeki fonksiyonel gruplar arasında çapraz bağlanmaya, hidrojen ve kovalent bağların oluşmasına neden olmasına ve aktif yapıdaki işlevsel grupların çevre ile etkileşimi

kısıtlanmasına bağlamışlardır. Sonuç olarak, kitosanın yüzeyinde bulunan pozitif yüklü alanlar azalmakta yani bakteri hücre duvarına bağlanması için ortamda daha az yüklü alanlar kalmakta ve bu da antibakteriyel etkinin azalmasına neden olmaktadır (da Silva vd., 2017, Perinelli vd., 2018, Zhang vd., 2021).

Çizelge 3. Filmlerin antimikrobiyal aktivitesi  
Table 3. Antimicrobial activity of films

Mikroorganizma <i>Microorganism</i>	İnhibisyon çapı (mm) <i>Inhibition diameter</i>		
	CS	CS-EP1	CS-EP2
<i>E. coli</i> O157:H7 EDL 937	6.55±0.17b	8.53±0.20a	6.86±0.14b
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	7.51±0.06	7.31±0.56	7.75±0.15
<i>B. cereus</i> NCTC 7464	6.56±0.47b	9.23±0.02a	6.65±0.25b
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	7.18±0.08b	7.88±0.21a	7.20±0.02ab
<i>A. arborescens</i>	10.37±0.10b	12.17±0.06a	5.36±0.36c
<i>A. flavus</i> NRRL 21882	7.36±0.25b	13.81±0.35a	6.97±0.41b
<i>P. digitatum</i> CECT 20795	10.56±0.48a	13.76±0.58a	8.26±0.23b
<i>P. citrinum</i> CECT 20822	11.70±0.50b	14.09±0.38a	10.71±0.16b
<i>P. expansum</i> CECT 2280	9.46±0.37b	14.99±1.08a	10.09±0.31b
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	6.91±0.00b	11.62±0.62a	9.56±0.64a

\*Aynı satır üzerinde belirtilen farklı harfler istatistiksel açıdan ortalamalar arasındaki farklılığı ifade etmektedir ( $P < 0.05$ ).

Antimikrobiyal test sonuçlarına göre, filmlerin maya ve küflere karşı bakterilere oranla daha etkili olduğu saptanmıştır. Literatürde etil pirüvat ve kitosanın birlikte kullanımı ile ortaya çıkan antimikrobiyal aktivite hakkında bir çalışma yoktur. Ancak yapılan çalışmalarda kitosan filminin *E. coli*, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *B. cereus*, *Aspergillus flavus*, *A. alternata* *Alternaria solani* suşlarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir (Zhang vd., 2009; Kaur vd., 2012; Younes vd., 2014; Peng ve Li, 2014; Youssef vd. 2015; Hu vd., 2016; Akyuz vd., 2018). Ayrıca etil pirüvatın *S. aureus*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes* suşlarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiği ve çeşitli gıda gruplarında fungal yükü azalttığına dair birçok çalışma bulunmaktadır (Cetin vd., 2019a; Cetin vd., 2019b; Wang vd., 2019; Bozkurt vd., 2016; Tornuk ve Durak, 2015). Literatürde verilen

sonuçlar bu çalışmadaki sonuçları desteklemektedir.

#### Anti-quorum sensing aktivite

Quorum sensing, birçok bakteri türünde biyofilm oluşumunun ana kaynağı olarak bilinmektedir. Anti-quorum sensing bileşikler ise, quorum sensing sistemine müdahale ederek bakteriyel patojeniteyi zayıflatan bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Ilk vd., 2017). Filmlerin anti-quorum sensing aktivitesi, *Chromobacterium violaceum* CV026 ve *Pseudomonas aeruginosa* (PAO-1) suşlarına karşı pigment inhibisyon bölgesi oluşumuna göre değerlendirilmiştir. Buna göre *Chromobacterium violaceum* CV026 suşuna karşı CS (8.66±0.03 mm) ve CS-EP1 (8.65±0.79 mm) benzer inhibisyonu gösterirken, CS-EP2 daha düşük inhibisyon göstermiştir. *Pseudomonas*

*aeruginosa* PAO-1 suşuna karşı en yüksek inhibisyon ise CS-EP1 (6.70±0.01 mm) filminde tespit edilmiştir. *Chromobacterium violaceum* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının Gram negatif olması, lipofilik ester olan yüksek konsantrasyondaki etil pirüvatın hücre zarına girişini zorlaştırdığı (Wang vd., 2021) ve konsantrasyon artışına bağlı olarak anti-quorum sensing etkinin azalmasına yol açtığı düşünülmüştür. Koc vd. (2020) tarafından kitosan filmin, *Chromobacterium violaceum* CV026 suşunun violasecin üretimine karşı inhibisyonu 9.10±1.00 mm olarak saptanmıştır. Badawy vd. (2020), Namasivayam vd. (2020) ise, kitosanın, *Pseudomonas aeruginosa* PAO-1 suşunun pyocyanin üretimini azalttığını bildirmiştir. Etil pirüvat ilavesinin anti-qs aktiviteye katkısı olmadığı, kitosan filminin anti-qs etkisinin literatür ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

## SONUÇ

Bu çalışmada iki farklı konsantrasyonda etil pirüvat içeren kitosan bazlı film hazırlanmıştır. Hazırlanan film örneklerinin nem, suda çözünürlük, görünür yoğunluk, renk, biyobozunurluk, kimyasallara karşı direnç özellikleri gibi fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir. SEM, FTIR ile film yapısı incelenmiştir. Ayrıca film örneklerinin antioksidan, antimikrobiyal ve anti-quorum sensing aktivitesi tespit edilmiştir. Biyolojik olarak etkili filmin CS-EP1 olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, özellikle antimikrobiyal aktivitesinden dolayı CS-EP1 filminin özellikle antifungal etkisinden dolayı küf ve maya bozulmalarına hassas gıdalarda aktif ambalaj olarak kullanımı yanı sıra petrol türevi materyaller yerine alternatif ambalaj malzemesi üretmek için kullanılabilirliği belirlenmiştir.

## TEŞEKKÜR

Yapılan çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje numarası: FYL-2018-1373). Ayrıca FTIR analizlerinde cihazının kullanımı için Doç. Dr. Hüseyin AYVAZ'a, küf kültürlerinin temini için

Doç. Dr. Burhan ŞEN ve anti-quorum sensing kültürlerinin temini için Dr. Öğr. Üyesi Sedef İLK ve Arş. Gör. Kübra ERKAN TÜRKMEN teşekkür ederiz.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## YAZAR KATKILARI

Söz konusu çalışma Burcu KAYA'nın Doç. Dr. Nükhet Nilüfer ZORBA danışmanlığında tamamladığı yüksek lisans çalışmasından üretilmiştir. Nükhet N ZORBA araştırmanın planlamasını, Burcu KAYA araştırma analizlerini gerçekleştirmiştir. Ayrıca Prof. Dr. Cengiz CANER filmlerin üretiminde yardımcı olmuş ve tez kapsamı dışında yapılan FTIR analizini değerlendirmiştir. Tüm yazarlar makale yazımına eşit katkı sağlamış ve makalenin son halini okuyarak onaylamıştır.

## KAYNAKLAR

- Aday M. S., Caner C. (2010). Understanding the effects of various edible coatings on the storability of fresh cherry. *Packag. Technol. Sci.*, 441-456.
- Akyuz, L., Kaya, M., Muhtaba, M., İlk, S., Sargin, I., Salaberria, A. M., Islek, C. (2018). Supplementing capsaicin with chitosan-based films enhanced the anti-quorum sensing, antimicrobial, antioxidant, transparency, elasticity and hydrophobicity. *Int J Biol Macromol*, 115: 438-446.
- Al-Naamani, L., Dobretsov, S., Dutta, J., Burgess, J. G. (2017). Chitosan-zinc oxide nanocomposite coatings for the prevention of marine biofouling. *Chemosphere*, 168: 408-417.
- Avella M., De Vlieger J. J., Errico M. E., Fischer S., Vacca P., Volpe M. G. (2005). Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. *Food Chem*, 93: 467-474.
- Badawy, M. S. E., Riad, O. K. M., Taher, F. A., Zaki, S. A. (2020). Chitosan and chitosan-zinc oxide nanocomposite inhibit expression of LasI and RhII genes and quorum sensing dependent

- virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Biol Macromol*, 149: 1109-1117.
- Beaula, T. J., James, C. (2014). FT IR, FT-Raman spectra and chemical computations of herbicide 2-phenoxy propionic acid—A DFT approach. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc*, 122: 661-669.
- Bozkurt F., Tornuk F., Toker O. S., Karasu S., Arici M., Durak M. Z., 2016. Effect of vaporized ethyl pyruvate as a novel preservation agent for control of postharvest quality and fungal damage of strawberry and cherry fruits. *Lebensm-Wiss Technol*, 65: 1044-1049.
- Cetin, B., Ucak Ozkaya, G., Uran, H., Durak, M. Z. (2019a). Determination of the effect of ethyl pyruvate on the surface contamination of sausage to *Listeria monocytogenes* by using Q-PCR assay. *J Saf Res*, 39(6): e12689.
- Cetin, B., Uran, H., Konak, M. (2019b). Effect of evaporated ethyl pyruvate on reducing *Salmonella* Enteritidis in raw chicken meat. *Braz J of Poultry Sci*, 21(2).
- Chang, A. K. T., Frias Jr, R. R., Alvarez, L. V., Bigol, U. G., Guzman, J. P. M. D. (2019). Comparative antibacterial activity of commercial chitosan and chitosan extracted from *Auricularia* sp. *Biocatal Agric Biotechnol*, 17: 189-195.
- Çoban Ö. E., Patır B. (2010). Antioksidan etkili bazı bitki ve baharatların gıdalarda kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(2):7-19.
- da Silva, M. A., Iamanaka, B. T., Taniwaki, M. H., & Kieckbusch, T. G. (2013). Evaluation of the antimicrobial potential of alginate and alginate/chitosan films containing potassium sorbate and natamycin. *Packag Technol Sci*, 26(8): 479-492.
- De Elguea-Culebras G. O., Bourbon A. I., Costa M. J., Muñoz-Tebar N., Carmona M., Molina A., Vicente A. A. (2019). Optimization of a chitosan solution as potential carrier for the incorporation of *Santolina Chamaecyparissus* L. solid by-product in an edible vegetal coating on 'Manchego' Cheese. *Food Hydrocoll*, 89: 272-282.
- Fernandes Queiroz, M., Melo, K. R. T., Sabry, D. A., Sassaki, G. L., Rocha, H. A. O. (2015). Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation. *Mar drugs*, 13(1): 141-158.
- Fink, M. P. (2007). Ethyl pyruvate: a novel anti-inflammatory agent. *J Intern. Med*, 261(4): 349-362.
- Ghaderi, J., Hosseini, S. F., Keyvani, N., Gómez-Guillén, M. C. (2019). Polymer blending effects on the physicochemical and structural features of the chitosan/poly (vinyl alcohol)/fish gelatin ternary biodegradable films. *Food Hydrocoll*, 95: 122-132.
- Goy, R. C., & Assis, O. B. G. (2014). Antimicrobial analysis of films processed from chitosan and N, N, N-trimethylchitosan. *Braz J Chem Eng*, 31: 643-648.
- Hu D., Wang H., Wang L. (2016). Physical properties and antibacterial activity of quaternized chitosan/carboxymethyl cellulose blend films. *Lebensm-Wiss Technol*, 65: 398-405.
- Ignatova, M., Starbova, K., Markova, N., Manolova, N., Rashkov, I. (2006). Electrospun nano-fibre mats with antibacterial properties from quaternised chitosan and poly (vinyl alcohol). *Carbohydr Res*, 341(12): 2098-2107.
- Ilk, S., Sağlam, N., Özgen, M., Korkusuz, F. (2017). Chitosan nanoparticles enhances the anti-quorum sensing activity of kaempferol. *Int J Biol Macromol*, 94: 653-662.
- Jakubowska, E., Gierszewska, M., Nowaczyk, J., Olewnik-Kruszkowska, E. (2020). Physicochemical and storage properties of chitosan-based films plasticized with deep eutectic solvent. *Food Hydrocoll*, 108: 106007.
- Kaur P., Thakur R., Choudhary A. (2012). An in vitro study of the antifungal activity of silver/chitosan nanoformulations against important seed borne pathogens. *Int J Sci Res*, 1(7):83-86.
- Koc, B., Akyuz, L., Cakmak, Y. S., Sargin, I., Salaberria, A. M., Labidi, J., Kaya, M. (2020). Production and characterization of chitosan-fungal extract films. *Food Biosci*, 35: 100545.

- Lee, M. H., Kim, S. Y., Park, H. J. (2018). Effect of halloysite nanoclay on the physical, mechanical, and antioxidant properties of chitosan films incorporated with clove essential oil. *Food Hydrocoll*, 84: 58-67.
- Lian, H., Shi, J., Zhang, X., Peng, Y. (2020). Effect of the added polysaccharide on the release of thyme essential oil and structure properties of chitosan based film. *Food Packag*, 23: 100467.
- Lizárraga-Laborín, L. L., Quiroz-Castillo, J. M., Encinas-Encinas, J. C., Castillo-Ortega, M. M., Burruel-Ibarra, S. E., Romero-García, J., Rodríguez-Félix, D. E. (2018). Accelerated weathering study of extruded polyethylene/poly (lactic acid)/chitosan films. *Polym Degrad Stab*, 155: 43-51.
- Lozano-Navarro J.I., Diaz-Zavala N. P., Velasco-Santos C., Melo-Banda J. A., Parama- Gorcía U., Paraguay-Delgado F., Garcio- Alamila R., Martinez-Hernande A. L., Zapien- Castillo S. (2018). Chitosan-starch films with natural extracts: physical, chemical, morphological and thermal properties. *Materials*, 11(1): 120.
- Menazea, A. A., Eid, M. M., Ahmed, M. K. (2020). Synthesis, characterization, and evaluation of antimicrobial activity of novel Chitosan/Tigecycline composite. *Int J Biol Macromol*, 147: 194-199.
- Namasivayam, S. K. R., Venkatachalam, G., Bharani, R. A. (2020). Immuno biocompatibility and anti-quorum sensing activities of chitosan-gum acacia gold nanocomposite (CS-GA-AuNC) against *Pseudomonas aeruginosa* drug-resistant pathogen. *Sustain Chem Pharm*, 17: 100300.
- Nataraj, D., Sakkara, S., Meghwal, M., Reddy, N. (2018). Crosslinked chitosan films with controllable properties for commercial applications. *Int J Biol Macromol*, 120: 1256-1264.
- Oh, J. W., Chun, S. C., Chandrasekaran, M. (2019). Preparation and in vitro characterization of chitosan nanoparticles and their broad-spectrum antifungal action compared to antibacterial activities against phytopathogens of tomato. *Agronomy*, 9(1): 21.
- Ortiz-Duarte G., Pérez-Cabrera L. E., Artés-Hernández F., Martínez-Hernández G. B. (2019). Ag-chitosan nanocomposites in edible coatings affect the quality of fresh-cut melon. *Postharvest Biol Tec*, 147: 174-184.
- Othman S. H. (2014). Bio-nanocomposite materials for food packaging applications: types of biopolymer and nano-sized filler. *Agric Agric Sci Procedia*, 2: 296-303.
- Peng Y., Li Y. (2014). Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films. *Food Hydrocoll*, 36: 287-293.
- Perdones Á., Escriche I., Chiralt A., Vargas M. (2016). Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on volatile profile of strawberries during storage. *Food Chem*, 197: 979-986.
- Perinelli D. R., Fagioli L., Campana R., Lam J. K., Baffone W., Palmieri G. F., Bonacucina G. (2018). Chitosan-based nanosystems and their exploited antimicrobial activity. *Eur J Pharm Sci*, 117: 8-20.
- Pfaller, M. A., Messer, S. A., Boyken, L., Hollis, R. J., Diekema, D. J. (2003). In vitro susceptibility testing of filamentous fungi: Comparison of Etest and reference M38-A microdilution methods for determining posaconazole MICs. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 45(4): 241–244.
- Qin, Y., Liu, Y., Yuan, L., Yong, H., Liu, J. (2019). Preparation and characterization of antioxidant, antimicrobial and pH-sensitive films based on chitosan, silver nanoparticles and purple corn extract. *Food Hydrocoll*, 96: 102-111.
- Rhim J. W., Hong S. I., Park H. M., Ng, P. K. (2006). Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *J Agric Food Chem*, 54(16): 5814-5822.
- Salari, M., Khiabani, M. S., Mokarram, R. R., Ghanbarzadeh, B., Kafil, H. S. (2021). Use of gamma irradiation technology for modification of bacterial cellulose nanocrystals/chitosan

- nanocomposite film. *Carbohydr Polym*, 253: 117144.
- Saricaoglu, F. T., Tural, S., Gul, O., Turhan, S. (2018). High pressure homogenization of mechanically deboned chicken meat protein suspensions to improve mechanical and barrier properties of edible films. *Food Hydrocoll*, 84: 135-145.
- Seydim, A. C., Sarikus, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res Int*, 39(5): 639-644.
- Shankar S., Rhim J. W. (2018). Preparation of sulfur nanoparticle-incorporated antimicrobial chitosan films. *Food Hydrocoll*, 82:116-123.
- Singh K., Mishra A., Sharma D., Singh K. (2019). Antiviral and antimicrobial potentiality of nano drugs. In *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems*, 343-356.
- Swain S. K., Dash S., Behera C., Kisku S. K., Behera L. (2013). Cellulose nanobiocomposites with reinforcement of boron nitride: study of thermal, oxygen barrier and chemical resistant properties. *Carbohydr Polym*, 95(2): 728-732.
- Tornuk F., Durak M. Z. (2015). A novel method for fresh-cut decontamination: efficiency of vaporized ethyl pyruvate in reducing *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157: H7 from fresh parsley. *J Food Process Preserv*, 39(6): 1518-1524.
- Ulloa L., Ochani M., Yang H., Tanovic M., Halperin D., Yang R., Tracey K. J. (2002). Ethyl pyruvate prevents lethality in mice with established lethal sepsis and systemic inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(19): 12351-12356.
- Wang, B., Sui, J., Yu, B., Yuan, C., Guo, L., Abd El-Aty, A. M., Cui, B. (2021). Physicochemical properties and antibacterial activity of corn starch-based films incorporated with *Zanthoxylum bungeanum* essential oil. *Carbohydr Polym*, 254: 117314.
- Wang, C., Niu, Y., Meng, Q., Zhang, L. (2019). Ethyl pyruvate (EP) suppressed post-harvest blue mold of sweet cherry fruit by inhibiting the growth of *Penicillium oxalicum*. *J Sci Food Agric*, 99(7): 3517-3524.
- Wang, X., Tang, R., Zhang, Y., Yu, Z., Qi, C. (2016). Preparation of a novel chitosan based biopolymer dye and application in wood dyeing. *Polymers*, 8(9): 338.
- Yadav, S., Mehrotra, G. K., Bhartiya, P., Singh, A., Dutta, P. K. (2020). Preparation, physicochemical and biological evaluation of quercetin based chitosan-gelatin film for food packaging. *Carbohydr Polym*, 227: 115348.
- Younes I., Sellimi S., Rinaudo M., Jellouli K., Nasri M. (2014). Influence of acetylation degree and molecular weight of homogeneous chitosans on antibacterial and antifungal activities. *Int J Food Microbiol*, 185: 57-63.
- Youssef A. M., Abou-Yousef H., El-Sayed S. M., Kamel, S. (2015). Mechanical and antibacterial properties of novel high performance chitosan/nanocomposite films. *Int J Biol Macromol*, 76: 25-32.
- Zarandona, I., Barba, C., Guerrero, P., de la Caba, K., Maté, J. (2020a). Development of chitosan films containing  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex for controlled release of bioactives. *Food Hydrocoll*, 104: 105720.
- Zarandona, I., Puertas, A. I., Dueñas, M. T., Guerrero, P., de la Caba, K. (2020b). Assessment of active chitosan films incorporated with gallic acid. *Food Hydrocoll*, 101: 105486.
- Zhang B., Wang D. F., Li H. Y., Xu Y., Zhang L. (2009). Preparation and Properties of Chitosan-Soybean Trypsin Inhibitor Blend Film with Anti-*Aspergillus flavus* Activity. *Ind Cropsö Prod*, 29(2-3): 541-548.
- Zhang X., Xiao G., Wang Y., Zhao Y., Su H., Tan T. (2017). Preparation of chitosan-TiO<sub>2</sub> composite film with efficient antimicrobial activities under visible light for food packaging applications. *Carbohydr Polym*, 169: 101-107.
- Zhang, Q., Wu, Q., Lin, D., Yao, S. (2013). Effect and mechanism of sodium chloride on the

formation of chitosan–cellulose sulfate–tripolyphosphate crosslinked beads. *Soft Matter*, 9(43): 10354-10363.

Zhang, X., Zhang, Z., Wu, W., Yang, J., Yang, Q. (2021). Preparation and characterization of chitosan/Nano-ZnO composite film with

antimicrobial activity. *Bioprocess and Biosyst Eng*, 44(6): 1193-1199.



## **GROWTH KINETICS AND SURVIVAL OF *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* IN BLACK RICE MILK**

**Serap Coşansu\*, Samin Toupal, Özge Aslan**

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

Received / Geliş: 12.10.2021; Accepted / Kabul: 26.11.2021; Published online / Online baskı: 09.12.2021

Coşansu, S., Toupal, S., Aslan, Ö. (2021). Growth kinetics and survival of *Lactobacillus acidophilus* in black rice milk. GIDA (2021) 46 (6) 1440-1449 doi: 10.15237/gida.GD21132.

Coşansu, S., Toupal, S., Aslan, Ö. (2021). *Lactobacillus acidophilus*'ün siyah pirinç sütünde gelişme kinetiği ve canlılığı. GIDA (2021) 46 (6) 1440-1449 doi: 10.15237/gida.GD21132.

### **ABSTRACT**

The growth kinetics of *Lactobacillus acidophilus* in black rice milk, white rice milk and MRS Broth were calculated by applying the experimental data to the Gompertz equation using DataFit software. The survival of *L. acidophilus* in black rice and white rice milk was monitored during storage (4°C, 20 days). The shortest lag phase duration (1.45 h) and the highest maximum population density (7.48 log CFU/mL) were in black rice milk ( $P < 0.05$ ). The generation time in black rice milk (1.31 h) was longer than in white rice milk (0.58 h) but shorter than in MRS Broth (2.22 h,  $P < 0.05$ ). *L. acidophilus* population declined in both milk at 4°C, but higher in black rice than white rice at the end of the storage period. It was concluded that black rice supports the growth of *L. acidophilus* compared to white rice and MRS Broth while contributing to its survival during cold storage.

**Keywords:** probiotic, prebiotic, black rice, lag phase duration, generation time, Gompertz equation, DataFit

### ***LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*UN SİYAH PİRİNÇ SÜTÜNDE GELİŞME KİNETİĞİ VE CANLILIĞI**

#### **ÖZ**

*Lactobacillus acidophilus*'ün siyah pirinç sütü, beyaz pirinç sütü ve MRS Broth besiyerindeki gelişme kinetiği deneysel verilerin DataFit yazılımı kullanılarak Gompertz eşitliğine uygulanmasıyla hesaplanmıştır. Ayrıca, *L. acidophilus*'ün siyah ve beyaz pirinç sütündeki canlılığı depolama (4°C, 20 gün) süresince izlenmiştir. En kısa lag fazı süresi (1.45 h) ve en yüksek popülasyon yoğunluğu (7.48 log CFU/mL) siyah pirinç sütünde belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Jenerasyon süresinin siyah pirinç sütünde (1.31 h) beyaz pirinç sütündekinden (0.58 h) daha uzun, ancak MRS Broth besiyerindekinden (2.22 h) daha kısa olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). *L. acidophilus* popülasyonu her iki sütte de 4°C'de azalmış, ancak depolama sonunda siyah pirinç sütünde beyaz pirinç sütündekinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Siyah pirinç sütünün beyaz pirinç sütü ve MRS Broth besiyerine göre *L. acidophilus*'ün gelişimi desteklediği ve soğukta depolama süresince canlılığına katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** probiyotik, prebiyotik, siyah pirinç, lag faz süresi, jenerasyon süresi, Gompertz eşitliği, DataFit

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: scosansu@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 5924

☎: (+90) 264 295 5601

Serap Coşansu; ORCID no: 0000-0003-2875-1335

Samin Toupal; ORCID no: 0000-0002-6689-3222

Özge Aslan; ORCID no: 0000-0001-7730-0042

## INTRODUCTION

Probiotics are live microorganisms that provide health benefits to the host when given sufficient quantities (FAO/WHO, 2001). These microorganisms, mainly belonging to the *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* genera, are live microbial food supplements that can improve consumer health by maintaining or improving the balance of the gut microbiota. Probiotics can help cure some health problems such as gastrointestinal infections, lactose intolerance, genitourinary infections, food allergies, and some bowel disorders (Figuroa-Gonzalez et al., 2011). Probiotics make an excellent environment for the smooth working of different metabolic activities within the digestive system generating proteins, carbohydrates, vitamins, and chemicals. Organic acids and proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria have suppressive effects on pathogenic intestinal bacteria (Indira et al., 2019). The clinical trials on the health benefits of probiotics have recently focused on gastrointestinal, skin, urinary tract, oral, and respiratory diseases (Aleixandre-Tudo et al., 2020). While probiotics are live microorganisms providing health benefits to the host, prebiotics are specific food components that support the growth or desired activities of beneficial microbes (Cremon et al., 2018). The prebiotic food components include non-digestible carbohydrates such as polysaccharides, oligosaccharides, etc. (de Paulo Farias et al., 2019).

The dairy products, such as yogurt, milk, cheese, kefir, etc., are common carrier foods for probiotic cultures; however, cereal, fruit, or vegetable-based products are considered potential carriers for these beneficial microorganisms (Figuroa-Gonzalez et al., 2011). People may avoid milk-based probiotic products due to high cholesterol content, lactose intolerance, diet style, milk protein allergy, or other reasons (Panghal et al., 2018). Hence, there is a trend to consume plant-based milk alternatives obtained from nuts, seeds, beans, and grains (Pimentel et al., 2021). The global market share for non-dairy milk alternatives is estimated to be almost 26 million U.S. Dollars in the next two years (Tangyu et al., 2019). The non-dairy probiotic products can be

used as a therapeutic agent for lactose intolerance (Deng et al., 2015).

Rice, a major cereal crop worldwide, is a genetically diverse plant with thousands of varieties (Ito and Lacerda, 2019). Black rice is a pigmented rice variety rich in nutrients, including fiber, proteins, iron, vitamins, minerals, and essential trace elements (Sangma and Parameshwari, 2021). Paella, rice cakes, pancakes, fried rice, risotto, etc., are examples of foods that contain black rice in their recipes. Additionally, thanks to its high nutritional value, black rice can be included in the formula of different kinds of foods such as beverages, desserts, bread, and pasta (Ito and Lacerda, 2019).

Black rice is attractive for researchers due to its high nutritional and antioxidant characteristics. Anthocyanins, primary bioactive compounds in pigmented rice varieties, are one of the subclasses of plant phenolic compounds responsible for the purple, red and blue colors in plants (Khoo et al., 2017). Red cabbage, grapes, sweet potato, blood orange, black chokeberry, currants, some tropical fruits, etc., have anthocyanin contents. Recent clinical trials have demonstrated that regular consumption of anthocyanin-containing fruit extracts could positively modify the intestinal microbiota (Hester et al., 2018). It has been suggested that anthocyanins can be degraded by intestine microflora, resulting in other degradation products with beneficial effects on gut health (Hidalgo et al., 2012). Recent studies have shown that anthocyanins (Sun et al., 2018) and the fruit extracts rich in anthocyanin (Coman et al., 2018; Pallah et al., 2019) have a promotive impact on the growth of beneficial bacteria such as *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., etc. Furthermore, in an *in vitro* study (Zhu et al., 2018), anthocyanins and anthocyanin monomers derived from black rice displayed prebiotic activity and supported the growth of *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. Hence, black rice milk has the potential to be used in probiotic products due to its high nutritional value and the beneficial effects of black rice anthocyanins on probiotic bacteria.

Therefore, the primary purpose of this study was to understand how black rice milk affects the growth kinetics of *Lactobacillus acidophilus* compared to white rice milk and MRS Broth. Besides, the survival of *L. acidophilus* in black rice milk and white rice milk during storage at 4°C was investigated.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Black rice and white rice were purchased from a local market in Sakarya, Turkey. *Lactobacillus acidophilus* strain LA5 was obtained from Chr. Hansen (İstanbul, Turkey).

### Rice milk preparation

Rice milk was prepared according to the method described by Belewu et al. (2013). Black rice was soaked with tap water in a 1:3 ratio (rice to water) for two hours at ambient temperature. Then the rice slurry was cooked until the water was utterly absorbed and rice grains were softened. After waiting at ambient temperature for 15 min, the cooked rice mash was diluted by adding water in a ratio of 1:2 (cooked rice: water) and homogenized for one min using a kitchen-type blender. Afterward, the rice slurry was drained using a clean cheesecloth. The same procedure was applied for the preparation of white rice milk. The rice milk samples were prepared freshly before each experiment.

### Preparation of *Lactobacillus acidophilus* inoculum and inoculation of rice milk

*L. acidophilus* LA5 culture was activated twice in De Man Ragosa Sharpe (MRS) broth (Merck, Darmstadt, Germany) at 37°C for 24 h. The active culture in MRS Broth was diluted using physiological saline (0.85% NaCl). Five ml portions of black and white rice milk were transferred into two sets of sterile test tubes, and the third set of tubes were contained MRS Broth. Each tube was inoculated with *L. acidophilus* by pipetting 100 µL of diluted inoculum to achieve 10<sup>4</sup> CFU/mL final inoculation level. Then the tubes were incubated at 37°C for up to 40 hours. During incubation, at each predetermined sampling time (0, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 30, and 40 h), one tube was removed from

each sample group to determine *L. acidophilus* count and pH measurement.

### Determination of cell viability during cold storage

One hundred ml portions of black rice milk and white rice milk were transferred into sterile jars. The freshly prepared milk samples were inoculated with *L. acidophilus* at 10<sup>4</sup> CFU/mL level and incubated at 37°C for 24 h. Following incubation, jars were stored at 4°C for 20 days. Sampling was done on days 0, 7, 14, and 20 to determine viable cell counts in black and white rice milk samples.

### Microbial enumeration and pH measurement

Samples were serially diluted using sterile saline solution (0.85% NaCl) and spread plated onto MRS Agar. The plates were anaerobically incubated (Anaerocult C; Merck, Darmstadt, Germany) at 37°C for 72 h (Schillinger and Holzappel, 2012). At each sampling time, pH values of samples were measured using a pH meter (Mettler-Toledo Seven Compact S210).

### Data analysis

Two independent experiments were performed to calculate growth kinetics and to estimate cell viability during cold storage. The experimental data was applied to the Gompertz equation (Gibson et al., 1987) using DataFit software (DataFit for Windows version 9.1.32, Oakdale Engineering, Oakdale, PA, USA) to produce growth curves. The Gompertz equation was as follows:

$$L(t) = A + C \times \exp \{-\exp[-B \times (t - M)]\}$$

where L(t), Log count of bacteria at time (h) t [log (CFU/mL)]; A, asymptotic log count of bacteria as time decreases indefinitely [log (CFU/mL)]; C, asymptotic amount of growth that occurs as t increases indefinitely [log (CFU/mL)]; M, time at which the absolute growth rate is maximal (h); B, relative growth rate at M [log (CFU/mL)/M].

Lag Phase Duration (LPD), Generation Time (GT), Exponential Growth Rate (EGR), and Maximum Population Density (MPD) were calculated using Gompertz parameter values as

described by Gibson et al. (1987) with the following equations:

$$LPD = M - (1/B)$$

$$GT = [\log(2)] e / B \times C$$

$$EGR = (B \times C) / e$$

$$MPD = A + C$$

### Statistical analysis

Analysis of variance (ANOVA) was performed using SPSS software (IBM SPSS Statistics for Windows, version 20.0). Duncan's multiple range test was applied to determine the differences ( $P < 0.05$ ).

### RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 depicts the growth curves of *L. acidophilus* in black rice milk, white rice milk, and MRS Broth at 37°C. The highest number (7.97 log CFU/mL) was reached after 24-h incubation in black rice milk. In contrast, those were detected after 22 hours in white rice milk (6.77 log CFU/mL) and MRS Broth (7.11 log CFU/mL). The population of the bacterium reduced slightly in all media starting the 24<sup>th</sup> hour of incubation.

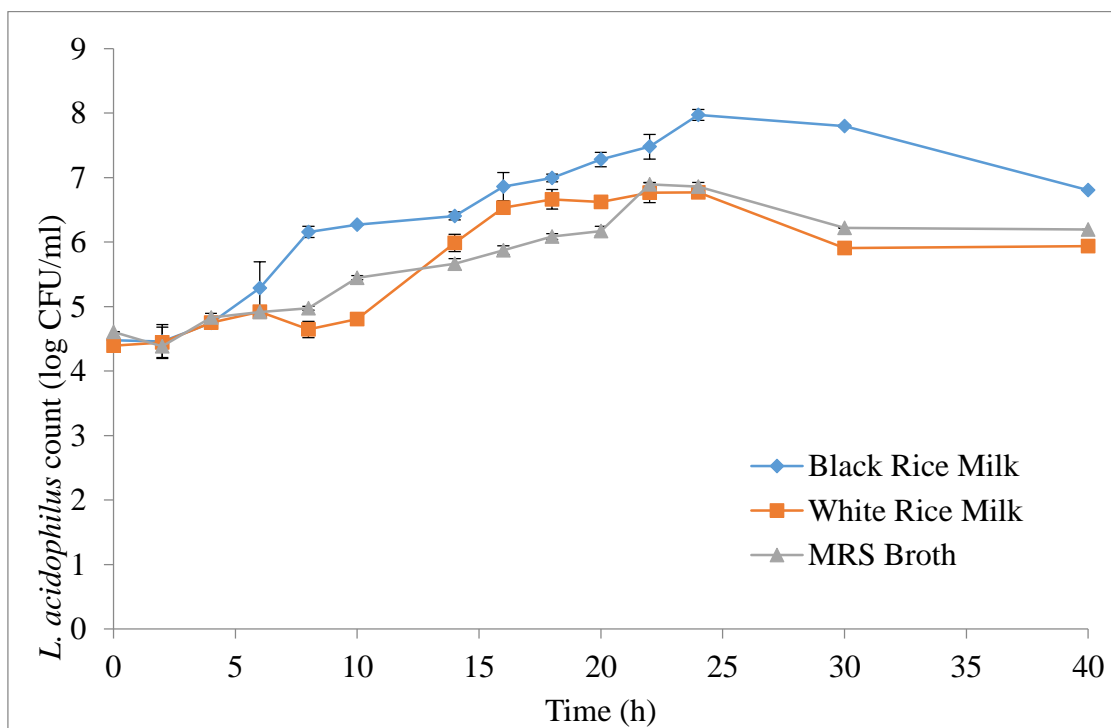


Figure 1. Growth of *L. acidophilus* in black rice milk, white rice milk, and MRS Broth incubated at 37°C

The initial pH values of black rice milk, white rice milk, and MRS Broth were 6.60, 7.62, and 5.70, respectively (Figure 2). No significant reduction was observed in the pH value of white rice milk ( $P > 0.05$ ) during the first 6 h of incubation. The pH value of white rice milk decreased to 4.86 after an 18-h incubation period when the *L. acidophilus* population exceeded 6 log CFU/mL. The final pH value was 4.27 after 40 h incubation ( $P < 0.05$ ). On the other hand, a milder reduction in the pH value of black rice milk was observed compared to white rice milk. Slight reductions in pH values

of black rice milk were observed during the first 10 h ( $P > 0.05$ ) and then reduced gradually to 4.66 at the end of incubation ( $P < 0.05$ ). The pH value of black rice milk was 4.95 after 22-h incubation. Fewer changes were detected in pH values of MRS Broth than black rice milk and white rice milk ( $P < 0.05$ ). The decrease was smaller than one unite after a 24-h incubation period, and the final pH value of MRS Broth was 4.39. After 40-h incubation, the  $\Delta$ pH values of black rice milk, white rice milk, and MRS Broth were calculated as 1.94, 3.36, and 1.31, respectively.

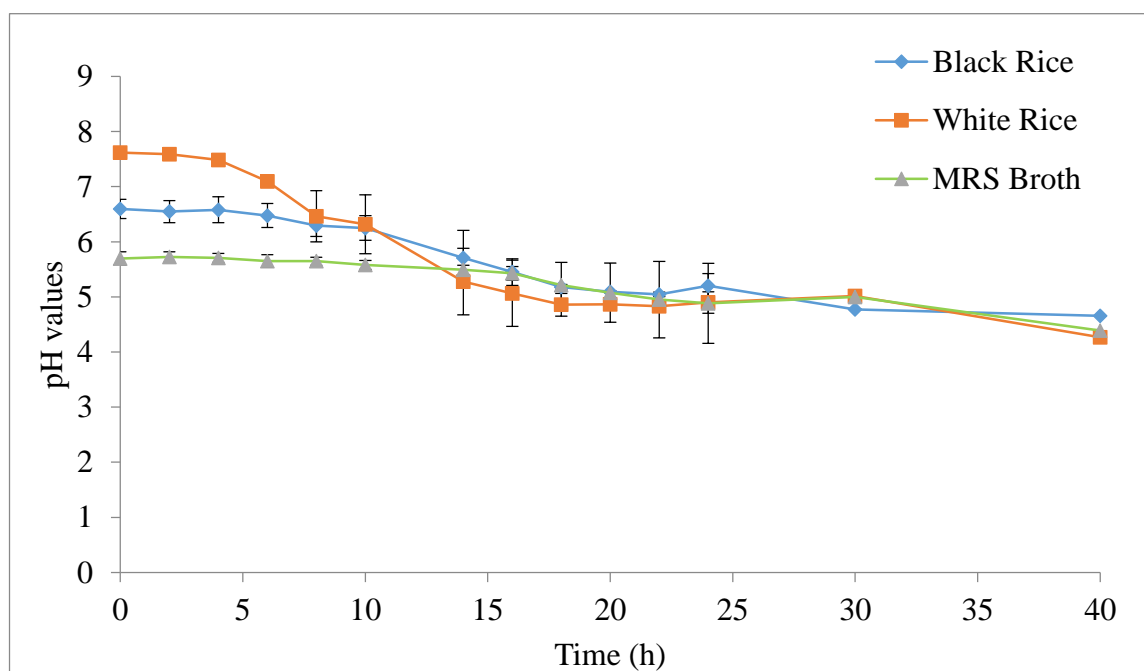


Figure 2. pH values of black rice milk, white rice milk, and MRS Broth fermented with *L. acidophilus* at 37°C

Although the initial pH value of white rice milk was approximately one unit higher than black rice milk ( $P < 0.05$ ), it reduced fast with a higher  $\Delta\text{pH}$  value at the end of incubation. The difference in pH changes may stem from the different chemical compositions of the two rice varieties. White rice varieties have higher carbohydrate and lower protein contents than black rice varieties (Ito and Lacerda, 2019; Sangma and Parameshwari, 2021). Therefore it may be speculated that the high fermentable carbohydrate content of white rice milk provided faster pH reduction. On the other hand, fewer pH reductions in MRS Broth than in black and white milk were not surprising because MRS Broth is a buffered culture medium (Anonymous, 2021).

The experimental data was applied to the Gompertz equation to calculate the growth kinetics of *L. acidophilus*. Figure 3 shows the model plots obtained by DataFit software. The coefficients of multiple determination ( $r^2$ ) were 0.93, 0.96 and 0.92 for black rice milk, white rice milk and MRS Broth, respectively. The growth kinetics calculated of *L. acidophilus* using

Gompertz parameter values are displayed in Table 1.

The lag phase duration (LPD) in white rice milk is more extended than in MRS Broth (twofold) and black rice milk (7.5 fold). The LPD was the shortest in black rice milk ( $P < 0.05$ ). *L. acidophilus* started to multiply in black rice milk following a 1.45-h LPD, while longer times were needed in MRS Broth (4.23 h) or white rice milk (10.94 h). The lag phase is defined as the adaptation period of bacterial cells to the new environment before initiating logarithmic growth (Swinnen et al., 2004). Since *L. acidophilus* cells grown in MRS Broth were used for inoculation, immediate initiation of exponential growth was expected. However, the LPD in MRS Broth calculated in this study was longer than in the previous studies. Harockova et al. (2020) reported 2.5 h LPD of *L. acidophilus* in MRS Broth. Considering the optimal pH range for the growth of *L. acidophilus* is 5.5–6.0 (Gomes and Malcata, 1999), the long LPD in white rice milk may be attributed to the high initial pH ( $7.62 \pm 0.07$ ). The count of *L. acidophilus* started to increase after 10 h incubation when the pH value reduced to 6.32 (Figure 1 and 2).

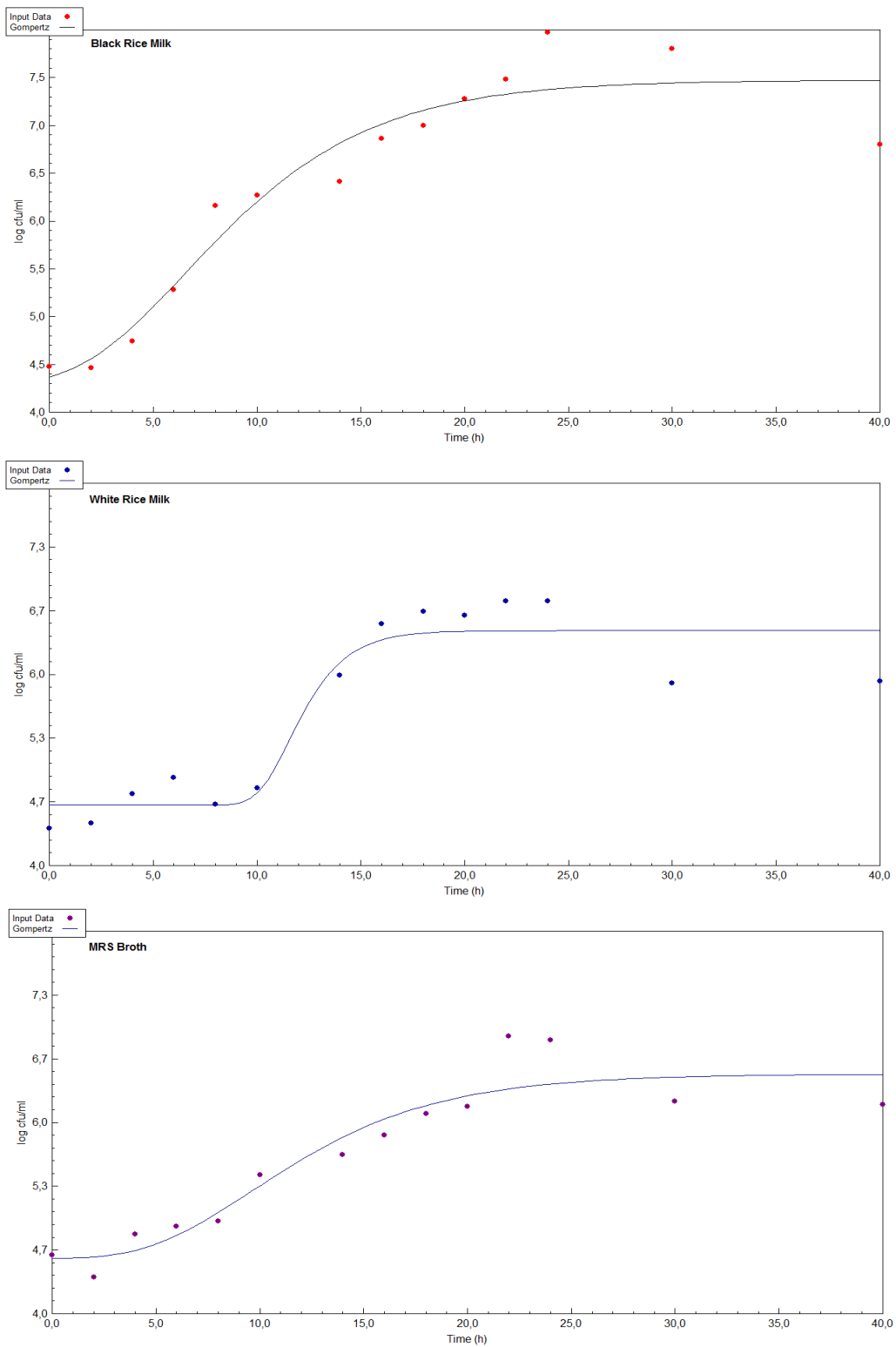


Figure 3. Fitting non-linear growth curves of *L. acidophilus* in black rice milk, white rice milk and MRS Broth to Gompertz equation

Table 1. Growth kinetics of *L. acidophilus* in black rice milk, white rice milk, and MRS Broth incubated at 37°C calculated using Gompertz parameter values.

Growth medium	Lag Phase Duration (h)	Generation Time (h)	Exponential Growth Rate (log [CFU/mL]/h)	Maximum Population Density (log CFU/mL)	Coefficient of Multiple Determination ( $r^2$ )
Black rice milk	1.45 ±0.17 <i>a</i>	1.31 ±0.00 <i>b</i>	0.23 ±0.00 <i>a</i>	7.48 ±0.06 <i>a</i>	0.93 ± 0.01
White rice milk	10.94 ±1.77 <i>b</i>	0.58 ±0.16 <i>a</i>	0.54 ±0.15 <i>b</i>	6.64 ±0.12 <i>b</i>	0.96 ± 0.04
MRS Broth	4.23 ±0.74 <i>a</i>	2.22 ±0.18 <i>c</i>	0.14 ±0.01 <i>a</i>	6.46 ±0.08 <i>b</i>	0.92 ± 0.02

*a-c* Means followed by different letters in each column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

Generation time (GT) and Exponential Growth Rate (EGR) in MRS Broth were 2.22 h and 0.14 log (CFU/mL)/h, respectively (Table 1). These results were consistent with the previous reports. Gupta et al. (1996) reported that the GTs of seven *L. acidophilus* strains in MRS Broth ranged from 1.97 to 3 h. The EGR of *L. acidophilus* LA5 strain in MRS Broth was recently calculated as 0.138 by Horackova et al. (2020). The GT in white rice milk was 0.58 h, shorter than in black rice milk or MRS Broth ( $P < 0.05$ ), which yielded higher EGR. As one may speculate, the higher carbohydrate content of white rice milk may have allowed a more rapid proliferation of *L. acidophilus* than black rice milk or MRS Broth. The highest Maximum Population Density (MPD) calculated using Gompertz equation parameters was reached in black rice milk ( $P < 0.05$ ), which is approximately 1 log higher than in white rice milk and MRS Broth that yielded similar MPD.

The growth kinetics of *L. acidophilus* in black rice milk, white rice milk and MRS Broth revealed that black rice supports the growth of this probiotic strain by shortening LPD and increasing MPD. This stimulative effect may stem from the chemical composition of black rice rich in phenolic compounds, mainly anthocyanins. Black rice bran has a higher content of protein, iron, fiber, phenolics, flavonoids, and anthocyanins and, therefore, higher antioxidant activity when compared to white rice bran (Zhang et al., 2010; Sangma and Parameshwari, 2021). Nurliani et al. (2015) used black rice extract and goat milk mixture for kefir production. They mentioned

that the microorganisms in kefir grains could use the nutritional elements of black rice extract. The anthocyanins and anthocyanin monomers obtained from black rice showed prebiotic activity being metabolized into small molecules by bifidobacteria and lactobacilli (Zhu et al., 2010). Sun et al. (2018) reported that anthocyanins obtained from purple potatoes could increase the proliferation of probiotic cultures, including *L. acidophilus*. The enhanced biomass of *L. acidophilus* in liquid media added with grape pomace extract was reported by Hevert-Hernandez et al. (2009). According to the authors, some bacterial strains, such as *Lactobacillus* spp., could utilize phenolic compounds; namely, polyphenols contribute energy production of the cells.

The vitality and number of probiotic bacteria are critical factors for their beneficial functions in the host. The recommended level for probiotic bacteria is approximately  $10^6$ - $10^8$  CFU per g-mL of the probiotic product (Shah, 2001). Figure 4 shows the survival of *L. acidophilus* in black rice milk and white rice milk during storage at 4°C for 20 days following incubation at 37°C for 24 h. First 7 days of the storage period, *L. acidophilus* count decreased by 1.84 log units ( $p < 0.05$ ) but showed small reductions during the rest of the storage ( $P > 0.05$ ). The total reduction in black rice milk was 2.11 log units with a final count of 5.62 log CFU/mL. On the other hand, the *L. acidophilus* population in white rice milk reduced by 2.51 log units in 14 days ( $P < 0.05$ ) and then reached 4.32 log CFU/mL with a small increase ( $P > 0.05$ ) at the end of the storage period.

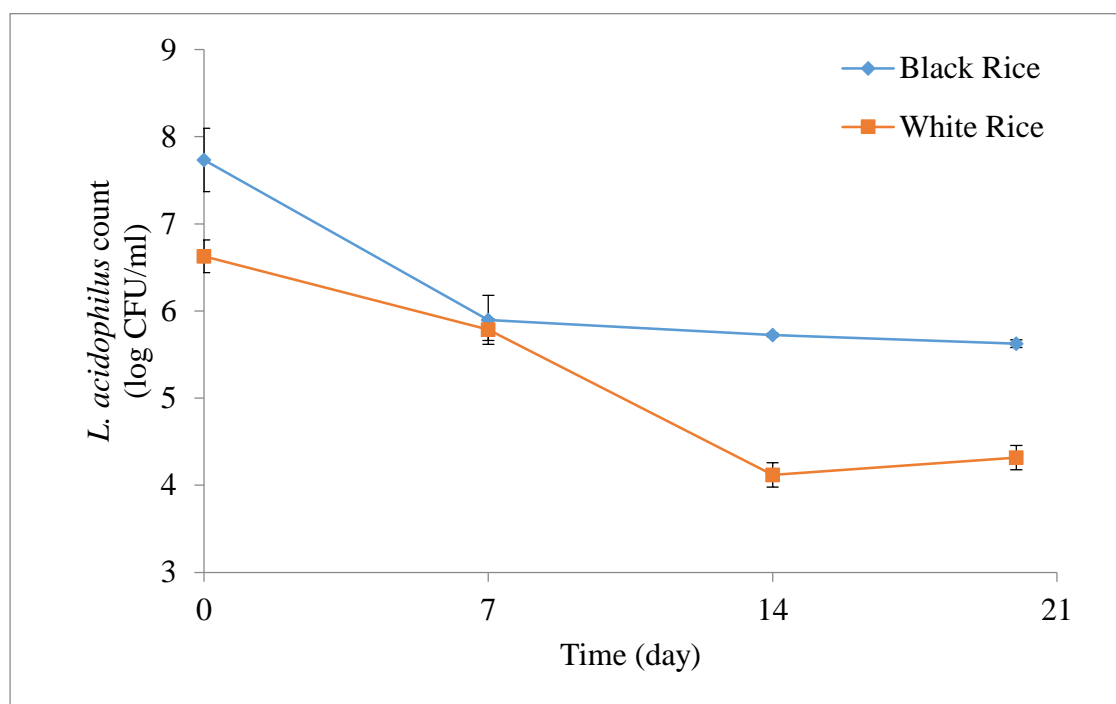


Figure 4. Survival of *L. acidophilus* in black rice and white rice milk during storage at 4°C

Özcan et al. (2010) reported approximately 1 log reduction in *L. acidophilus* LA5 count in rice pudding stored at 4°C for 21 days. In a study by Hasani et al. (2016), the *L. acidophilus* population inoculated into yogurt decreased by 0.84 log CFU/g during refrigerated storage for 28 days. In contrast, rice bran addition (% 0.3 – 1.2) increased the viability of this probiotic strain. The current study results show that black rice milk is slightly more effective than white rice milk to support the survival of *L. acidophilus* during refrigerated storage.

## CONCLUSION

If the food matrix supports the growth and survival of probiotic bacteria, the efficacy of these beneficial microorganisms may be enhanced. Therefore the current study provides comparative knowledge on the growth kinetics of *L. acidophilus* in black rice milk, white rice milk and MRS Broth. The main conclusion is that black rice milk shortens lag phase duration and increases the maximum population density of *L. acidophilus*. Furthermore, black rice milk provides a better environment for the growth of *L. acidophilus* with its lower pH value than white rice milk, which is

close to optimum pH for the growth of this probiotic bacterium. On the other hand, black rice milk slightly supports the survival of *L. acidophilus* during cold storage compared to white rice milk. Therefore, black rice milk can be a good alternative to cow milk to produce probiotic products for people with cow's milk allergies and vegans.

## ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the Commission of Scientific Research Projects of Sakarya University (Project Number: 2020-7-25-98).

## CONFLICT OF INTEREST

The authors certify that they have no affiliations with or involvement in any organization or entity with any financial or non-financial interest in the subject matter or materials discussed in this manuscript.

## AUTHORS CONTRIBUTIONS

S.Coşansu: Conceptualization, methodology, planning, data analysis, writing and editing; S.Toupal: Experimental analysis, data analysis and writing; Ö.Aslan: Experimental analysis.



## REFERENCES

- Aleixandre-Tudó, J.L., Castelló-Cogollos, L., Aleixandre, J.L., Aleixandre-Benavent, R. (2020). Tendencies and challenges in worldwide scientific research on probiotics. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 12(3): 785-797.
- Anonymous (2021). MRS Broth. <https://www.sigmaldrich.com/TR/en/product/sial/69966#> (Accessed October 4, 2021).
- Belewu, M.A., Abdulsalam, K.O., Belewu, K., Belewu, N. (2013). Rice-Coconut Yoghurt: preparation, nutritional and sensory qualities. *Asian J Agric Rural Dev*, 3(393-2016-23802): 924-928.
- Coman, M.M., Oancea, A.M., Verdenelli, M.C., Cecchini, C., Bahrim, G.E., Orpianesi, C., Cresci, A., Silvi, S. (2018). Polyphenol content and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial and prebiotic properties of red fruit extracts. *Eur Food Res Technol*, 244(4):735-745.
- Cremon, C., Barbaro, M.R., Ventura, M., Barbara, G. (2018). Pre-and probiotic overview. *Curr Opin Pharmacol*, 43: 87-92.
- De Paulo Farias, D., de Araujo, F.F., Neri-Numa, I.A., Pastore, G.M. (2019). Prebiotics: Trends in food, health and technological applications. *Trends Food Sci Technol*, 93: 23-35.
- Deng, Y., Misselwitz, B., Dai, N., Fox, M. (2015). Lactose intolerance in adults: biological mechanism and dietary management. *Nutrients*, 7(9): 8020-8035.
- FAO/WHO (2001). Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. [Online]. Available: [ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probio\\_report\\_en.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probio_report_en.pdf)
- Figuroa-González, I., Cruz-Guerrero, A., Quijano, G. (2011). The benefits of probiotics on human health. *J Microbial Biochem Technol S*, 1: 1948-5948.
- Gibson, A.M., Bratchell, N., Roberts, T.A. (1987). The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *J Appl Bacteriol*, 62: 479-490.
- Gomes, A.M., Malcata, F.X. (1999). *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci Technol*, 10(4-5): 139-157.
- Gupta, P.K., Mital, B.K., Garg, S.K. (1996). Characterization of *Lactobacillus acidophilus* strains for use as dietary adjunct. *Int J Food Microbiol*, 29(1): 105-109.
- Hasani, S., Khodadadi, I., Heshmati, A. (2016). Viability of *Lactobacillus acidophilus* in rice bran enriched stirred yoghurt and the physicochemical and sensory characteristics of product during refrigerated storage. *Int J Food Sci Technol*, 51(11): 2485-2492.
- Hester, S.N., Mastaloudis, A., Gray, R., Antony, J.M., Evans, M., Wood, S.M. (2018). Efficacy of an anthocyanin and prebiotic blend on intestinal environment in obese male and female subjects. *J Nutr Metab*, 2018: 1-11. <https://doi.org/10.1155/2018/7497260>
- Hervert-Hernández, D., Pintado, C., Rotger, R., & Goñi, I. (2009). Stimulatory role of grape pomace polyphenols on *Lactobacillus acidophilus* growth. *Int J Food Microbiol*, 136(1): 119-122.
- Hidalgo, M., Oruna-Concha, M.J., Kolida, S., Walton, G.E., Kallithraka, S., Spencer, J.P., de Pascual-Teresa, S. (2012). Metabolism of anthocyanins by human gut microflora and their influence on gut bacterial growth. *J Agric Food Chem*, 60(15): 3882-3890.
- Horackova, S., Vesela, K., Klojdova, I., Bercikova, M., Plockova, M. (2020). Bile salt hydrolase activity, growth characteristics and surface properties in *Lactobacillus acidophilus*. *Eur Food Res Technol*, 246: 1627-1636.
- Indira, M., Venkateswarulu, T.C., Peele, K.A., Bobby, M.N., Krupanidhi, S. (2019). Bioactive molecules of probiotic bacteria and their mechanism of action: a review. *3 Biotech*, 9(8): 1-11.
- Ito, V.C., Lacerda, L.G. (2019). Black rice (*Oryza sativa* L.): A review of its historical aspects,

- chemical composition, nutritional and functional properties, and applications and processing technologies. *Food Chem*, 301: 125304.
- Khoo, H.E., Azlan, A., Tang, S.T., Lim, S.M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr Res*, 61(1): 1361779.
- Ozcan, T., Yilmaz-Ersan, L., Akpinar-Bayazit, A., Sahin, O.I., Aydinol, P. (2010). Viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 in Rice Pudding. *Mljekarstvo/Dairy*, 60(2): 135-144
- Pallah, O.V., Meleshko, T.V., Bati, V.V., Boyko, N.V. (2019). Extracts of edible plants stimulators for beneficial microorganisms. *Biotechnol Acta*, 12(3): 67-74.
- Panghal, A., Janghu, S., Virkar, K., Gat, Y., Kumar, V., Chhikara, N. (2018). Potential non-dairy probiotic products—A healthy approach. *Food Biosci*, 21: 80-89.
- Pimentel, T.C., da Costa, W.K.A., Barão, C.E., Rosset, M., Magnani, M. (2021). Vegan probiotic products: A modern tendency or the newest challenge in functional foods. *Food Res Int*, 140: 110033.
- Sangma, H.C.R., Parameshwari, S. (2021). Health benefits of black rice (*Zizania aquatica*)-a review. *Mater Today: Proc*, <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.07.257>
- Schillinger, U., Holzapfel, W.H. (2012). Culture media for lactic acid bacteria. In: *Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology*, Curtis, G.D.W., Baird, R.M., Corry, J.E. (Eds.), 3<sup>rd</sup> edition, Royal Society of Chemistry, pp. 174-192.
- Shah, N.P. (2001). Functional foods from probiotics and prebiotics: Functional Foods from Probiotics and Prebiotics. *Food Technol (Chicago)*, 55(11): 46-53.
- Sun, H., Zhang, P., Zhu, Y., Lou, Q., He, S. (2018). Antioxidant and prebiotic activity of five peonidin-based anthocyanins extracted from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). *Sci Rep*, 8(1): 1-12.
- Swinnen, I.A.M., Bernaerts, K., Dens, E.J., Geeraerd, A.H., Van Impe, J.F. (2004). Predictive modelling of the microbial lag phase: a review. *Int J Food Microbiol*, 94(2): 137-159.
- Tangyu, M., Muller, J., Bolten, C.J., Wittmann, C. (2019). Fermentation of plant-based milk alternatives for improved flavour and nutritional value. *Appl Microbiol Biotechnol*, 103(23): 9263-9275.
- Zhang, M.W., Zhang, R.F., Zhang, F.X., Liu, R.H. (2010). Phenolic profiles and antioxidant activity of black rice bran of different commercially available varieties. *J Agric Food Chem*, 58(13): 7580-7587.
- Zhu, Y., Sun, H., He, S., Lou, Q., Yu, M., Tang, M., Tu, L. (2018). Metabolism and prebiotics activity of anthocyanins from black rice (*Oryza sativa* L.) in vitro. *PLoS One*, 13(4): e0195754.



## TÜRKİYE'DE NÜFUSUN YETERLİ VE DENGELİ BESLENMESİ AÇISINDAN HAYVANSAL GIDA ARZ VE TALEBİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Betül Gürer\*

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Niğde, Türkiye

Geliş / Received: 06.05.2021; Kabul / Accepted: 26.11.2021; Online baskı / Published online: 15.12.2021

Gürer, B. (2021). Türkiye'de nüfusun yeterli ve dengeli beslenmesi açısından hayvansal gıda arz ve talebinin değerlendirilmesi. *GIDA* (2021) 46 (6) 1450-1466 doi: 10.15237/gida.GD21083

Gürer, B. (2021). *Evaluation of the supply and demand for animal products in terms of sufficient and balanced nutrition in Turkey. GIDA (2021) 46 (6) 1450-1466 doi: 10.15237/gida.GD21083*

### ÖZ

Çalışmada, bireylerin yeterli ve dengeli beslenebilmesi için uzmanlar tarafından yaş ve cinsiyete göre önerilen günlük besin tüketim referans miktarlarını tükettikleri varsayıldığında, Türkiye'de nüfusun hayvansal ürünler arz ihtiyacı ve yeterliliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda, Türkiye'de hayvancılık sektörüne yönelik destekleme kalemleri ve miktarındaki artış üretime olumlu yansımış, ancak üretimdeki artışın toplumun yeterli ve dengeli beslenmesini temin edecek boyutta olmadığı görülmüştür. 2019 yılında, Türkiye'de nüfusun yeterli ve dengeli beslenebilmesi için hayvansal gıda arz ihtiyacı kişi başı yıllık kırmızı et-tavuk eti için 31.39 kg, balık için 27.22 kg, yumurta için 13.54 kg ve süt ve süt ürünlerinde 252.99 kg olarak hesaplanmıştır. Ancak nüfusun mevcut beslenme kompozisyonu dikkate alındığında süt ve süt ürünleri hariç diğer hayvansal ürünler arzının ihtiyacın altında olduğu görülmüştür. Bu nedenle, nüfusun gereksinimine uygun hayvansal ürünler arzının ve erişilebilirliğinin sağlanması, toplumun beslenme sorunlarını dikkate alan üretim planlaması ile hayvansal ürünler arz zincirine yönelik bütüncül uzun vadeli tedbirlerin birlikte ele alınması ile mümkündür.

**Anahtar kelimeler:** Hayvansal ürünler, gıdanın bulunabilirliği, hayvansal ürün tüketimi, tarım politikaları, beslenme yapısı

## EVALUATION OF THE SUPPLY AND DEMAND FOR ANIMAL PRODUCTS IN TERMS OF SUFFICIENT AND BALANCED NUTRITION IN TURKEY

### ABSTRACT

This study was aimed to evaluate the supply and adequacy of animal products in Turkey supposing that individuals consume recommended dietary reference values by age and gender. As a result, the increase in livestock supports in Turkey had a positive effect on the production, but this increase was not sufficient to ensure for nutritionally adequate diet of the society. In 2019, the animal products supply requirement in Turkey was calculated as 31.39 kg for red meat-chicken meat, 27.22 kg for fish, 13.54 kg for eggs and 252.99 kg for milk and dairy products per capita. However, considering the current dietary composition of the population, the supplies of animal products, excluding milk and dairy products, were below the requirement. Ensuring sufficient supply and accessibility of animal products is possible with the production planning considering the nutritional problems of the society and holistic and long-term measures for supply chain of animal products.

**Key words:** Animal products, food availability, animal products consumption, agricultural policies, nutritional structure

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: bgurer@ohu.edu.tr,

☎: (+90) 388 225 3045

☎: (+90) 388 225 4441

Betül Gürer; ORCID no: 0000-0002-9358-023X

### GİRİŞ

Gıda talebinin hem miktar hem de besin değeri açısından yeterli şekilde karşılanması durumu özellikle Türkiye gibi gelişmekte olan birçok ülke için tarım ve gıda politikalarının öncelikli hedefleri arasında yer almaktadır (SBB, 2019). Ulusların ve onu oluşturan bireylerin fiziksel, zihinsel ve ruhsal yönden sağlıklı ve güçlü olarak yaşamasında, ekonomik ve sosyal yönden gelişmesinde, refah düzeyinin yükselmesinde beslenme insanın temel gereksinimlerinden birisi belki de en önemlisidir (Yağmur ve Güneş, 2010).

Dünya nüfusunun giderek artması ile artan gıda talebine karşılık üretimin ülkeler ve bölgeler arasında dengesiz dağılımı sonucu dünyanın çeşitli bölgelerinde insanlar açlık tehlikesi ile karşı karşıyadır. Bugün dünyada 820 milyondan fazla insan kronik açlık çekmektedir (FAO, 2020a). Bir diğer rahatsız edici gerçek ise dünyada yaklaşık 2 milyar insanın orta veya şiddetli seviyede gıda güvencesizliği içerisinde olduğudur (FAO, 2020a). Besleyici ve yeterli gıdaya düzenli erişimi sağlayamayan kişilerin kötü beslenme ve sağlıklarının bozulması riski artmaktadır.

Bu kapsamda, sorunun çözümünde hem ekonomik kalkınmanın hem de ülke nüfusuna yüksek besin değeri sağlama açısından hayvancılık sektörünün kilit bir role sahip olduğu söylenebilir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre sağlıklı bir insanın vücut ağırlığının her kilogramı için günde 1 gram protein tüketmesi ve bunun da %42'sinin hayvansal kökenli olması gerekmektedir (TİGEM, 2020). Diğer yandan protein tüketiminde hayvansal kaynaklı gıdaların katkısı dünya genelinde %39.89, AB'de %58.30 ve ABD'de ise %64.60 olduğu tahmin edilmektedir (FAO, 2020b). Gelişmekte olan ülkelerin nüfus ve gelir artışı ile birlikte kişi başı hayvansal protein tüketimleri artış eğilimindedir.

Türkiye'de 2000'li yıllardan itibaren hayvansal üretime yönelik uygulanan politikaların etkisiyle son yıllarda hayvansal üretimdeki azalış durdurulabilmiş olsa da Türkiye'deki hayvansal gıda üretim seviyesinin nüfusun yeterli ve dengeli beslenme açısından arzu edilen düzeyde olup olmadığı incelenmesi gerekmektedir.

Bu açıdan literatürde Türkiye'de farklı hayvansal ürünlerin arz ve talebine yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar arasında Türkiye'de kırmızı et arzı, sürdürülebilirliği ve sorunlarına yönelik (Öztornacı, 2013; Tosun, 2016; Saygın ve Demirbaş, 2017) ulusal düzeyde çalışmalar bulunmaktadır. Bununla birlikte Gürer (2013) Türkiye'de hayvansal ürünlerde gıda güvencesinin durumunu bulunabilirlik, erişilebilirlik, istikrar ve gıda güvenilirliği unsurları bakımından incelemiştir. Ayrıca il veya bölge düzeyinde ise kırmızı et, tavuk eti, balık, süt ve yumurta gibi hayvansal ürünlerde bireylerin veya hanelerin tüketim yapısının araştırılmasına yönelik çok sayıda çalışma mevcuttur (Hatırlı ve ark., 2007; Saygı ve ark., 2014; Alev, 2015; Terin ve ark., 2016; Türkmen ve ark., 2016; Güngör ve Ceyhun, 2017; Karakaya ve Kızıloğlu, 2018; Saygın ve Demirbaş, 2018; Can, 2019 ; Doğan, 2019; Özyürek ve ark., 2019; Aytıp ve Işık, 2020;).

Ancak literatürde Türkiye'de nüfusun yaş ve cinsiyet dağılımı dikkate alınarak yeterli ve dengeli beslenebilme için hayvansal ürün arzı ihtiyacının değerlendirilmesine yönelik çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu kapsamda çalışmada öncelikli olarak, hayvansal ürün arzının mevcut durumunun ve gelişiminin kişi başı gıdanın bulunabilirliğine göre incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın bir diğer amacı ise Türkiye'de nüfusun beslenme yapısı ve hayvansal ürün tüketim durumlarının ortaya koyularak hayvansal ürün talebini etkileyen başlıca unsurların incelenmesidir. Son olarak ise nüfusun yaş ve cinsiyet dağılımı dikkate alınarak yeterli ve dengeli beslenme için önerilen günlük besin tüketim referans miktarlarını tükettikleri varsayıldığında, 2019 yılı ve 2025 yılı için hayvansal ürünler arz ihtiyacının ve yeterliliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

### MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmanın ana materyalini hayvansal ürünler ve makroekonomik değişkenlere ait ulusal ve uluslararası veri tabanlarından elde edilen zaman serisi verileri oluşturmaktadır. Bu amaçla çalışma için gerekli veriler Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım

Örgütü (FAO), Tarım ve Ormanlık Bakanlığı, Uluslararası Ticaret Merkezi (ITC) veri tabanlarından elde edilmiştir.

Hayvansal ürünlerde kişi başı bulunabilirlik FAO (2002) tarafından benimsenen, gıda arzı yaklaşımına göre hesaplanmıştır. Buna göre gıdanın bulunabilirliği kavramı, bir ülkede tüketilmeye hazır bulunan gıda miktarı ile ölçülmekte olup eşitlik (2.1)'de formüle edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ilgili yılın nüfusuna bölünerek hayvansal ürünlerde kişi başı bulunabilirlik düzeyleri elde edilmiştir.

$$\text{Gıdanın Bulunabilirliği} = \left( \frac{\text{Üretim} + \text{İthalat}}{\text{Başlangıç stokları}} \right) - \left( \frac{\text{Gıda dışı kullanım} + \text{İhracat}}{\text{Yıl sonu stokları}} \right) \quad (2.1)$$

Türkiye'de hayvansal ürün kişi başı gıda arzının yıllık ortalama artış hızının hesaplanmasında ise FAO (2020b) veri tabanından elde edilen kalori (kcal) cinsinden nüfusun günlük gıda arzı miktarları üçer yıllık ortalamalarına göre iki

dönem arasındaki ortalama yıllık artış hızları hesaplanmıştır (Gürer, 2013). Aynı yöntem nüfus artış hızı hesaplanması için de kullanılmıştır. Artış hızının hesaplanmasında izlenen yöntem (2.2)'de gösterilmektedir.

$$P_n = P_0 \times (1 + r)^n \quad (2.2)$$

Formülde  $P_n$  son yıl değerini,  $P_0$  ilk yıl değerini,  $n$  dönem süresini ve  $r$  yıllık artış hızını ifade etmektedir.

Türkiye'de hayvansal ürün ihtiyacının tahmin edilmesinde Sağlık Bakanlığı (2019) tarafından yayımlanan Türkiye Beslenme Rehberi (2015)'nden faydalanılarak yaş ve cinsiyete göre besin tüketim referans miktarları çıkarılmıştır (Çizelge 1). Daha sonra yaş ve cinsiyete göre nüfusun hayvansal ürün gereksinim miktarları ise TÜİK (2020a) tarafından hesaplanan 2019 yılı ve 2025 yılı nüfus projeksiyonlarına dayanarak ayrı ayrı hesaplanmıştır.

Çizelge 1. Hayvansal ürünler yaş ve cinsiyete göre önerilen kişi başı günlük porsiyon miktarları<sup>1</sup>

Table 1. Recommended daily portion amounts of animal products by age and gender<sup>1</sup>

Yaş grupları Age groups	Kırmızı et ve tavuk Red meat and chicken meat	Yumurta Eggs	Balık Fish	Süt ve süt ürünleri Milk and dairy products
0-4	0,330	0,500	0,119	E <sup>2</sup> M <sup>2</sup> :2,500; K <sup>2</sup> F <sup>2</sup> :2.000
5-9	0,750	0,500	0,214	2,750
10-14	0,750	0,500	0,286	3,000
15-19	E <sup>2</sup> M <sup>2</sup> :1,250; K <sup>2</sup> F <sup>2</sup> :1.000	0,500	0,286	3,000
20-49	0,750	0,357	0,286	3,000
50-69	0,750	0,357	0,286	3,000
70 yaş ve üzeri 70 and above	0,750	0,357	0,286	3,000

<sup>1</sup> 1 standart porsiyon kırmızı et ve tavuk eti için 100 gr kemiksiz çiğ ete, yumurta için 100 gr (2 yumurta), balık için 250-300 gr ayıklanmamış çiğ balığa ve süt ve süt ürünleri için 240 ml süte eşdeğer kabul edilmiştir.

<sup>1</sup> 1 standard portion was equivalent to 100 g of boneless raw meat for red meat and chicken, 100 g (2 eggs) for eggs, 250-300 g of unsorted raw fish for fish, and 240 ml of milk for dairy products.

<sup>2</sup>E: Erkek; K: Kadın

<sup>2</sup>M: Male; F:Female

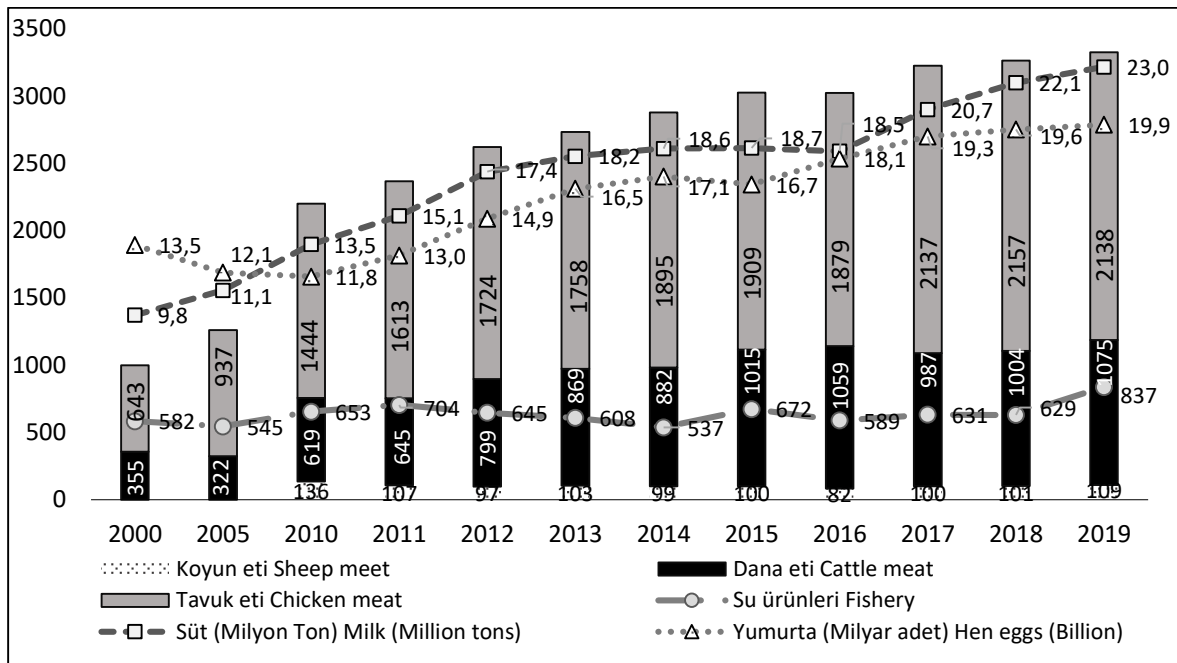
Kaynak: Sağlık Bakanlığı (2019)'dan derlenmiştir.

Source: Derived from Ministry of Health (2019)

**BULGULAR VE TARTIŞMA****Türkiye’de Hayvansal Gıda Üretim ve Dış Ticareti**

Hayvansal gıda arzı, hayvansal gıda üretimi, stoklar ve dış ticareti tarafından belirlenmektedir. Bu kapsamda hayvansal gıda üretimi kapsamında koyun eti, dana eti, tavuk eti, su ürünleri, süt ve yumurta üretiminin son 20 yıllık gelişimi Şekil 1’de verilmektedir. Türkiye’de toplam et üretimi içerisinde kırmızı et üretiminin payı %36 olup, geri kalanını tavuk eti oluşturmaktadır. Türkiye’de toplam kırmızı et üretimi içerisinde dana etinin payı 2010 yılında %82.0’den 2019 yılında %90.8’e ulaşmıştır. 2010 yılında 135.7 bin ton olan koyun eti üretimi 2019 yılında %19 azalarak 109.4 bin

ton olarak gerçekleşmiştir. Aynı dönemde dana eti üretimi ise %73.9 oranında artarak 618.6 bin tondan 1 milyon 75.5 bin tona yükselmiştir. 2000-2019 yılları arasında Türkiye’de tavuk eti üretimi 3.3 kat artmıştır. Aynı dönemde süt üretimi %134.4 ve yumurta üretimi ise %47.3 oranında artmıştır. Su ürünleri üretimi ise ilgili dönemde %43.6 oranında artmıştır. Türkiye’de son yıllarda yetiştiricilik (kültür balıkçılığı) ile elde edilen balık üretiminde ciddi bir artışın olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Nitekim 2000 yılında toplam su ürünleri içerisindeki yetiştiricilik ile elde edilen balık üretiminin payı %13.5’den (79 bin ton) 2019 yılında %44.6’ya (373 bin ton) yükselmiştir (TÜİK, 2020b).



Şekil 1. Türkiye’de Hayvansal Ürünler Üretimi (Bin Ton)

Figure 1. Livestock products in Turkey (Thousand Tons)

Kaynak Source: TÜİK (2020b).

Şekil 2’de Türkiye’de hayvansal ürünler dış ticaretinin gelişimi verilmektedir. Türkiye’de hayvansal ürünler içerisinde en çok dış ticarete konu olan ürünler arasında kümes hayvanları eti ve sakatatı ihracatı ile su ürünleri ihracatı yer almaktadır. Kümes hayvanları ithalatı ise et ve yumurta tavukçuluğunda damızlık temini nedeniyle yapılmaktadır. Bununla birlikte 2010 yılından itibaren sığır eti ithalatına izin verilmesi

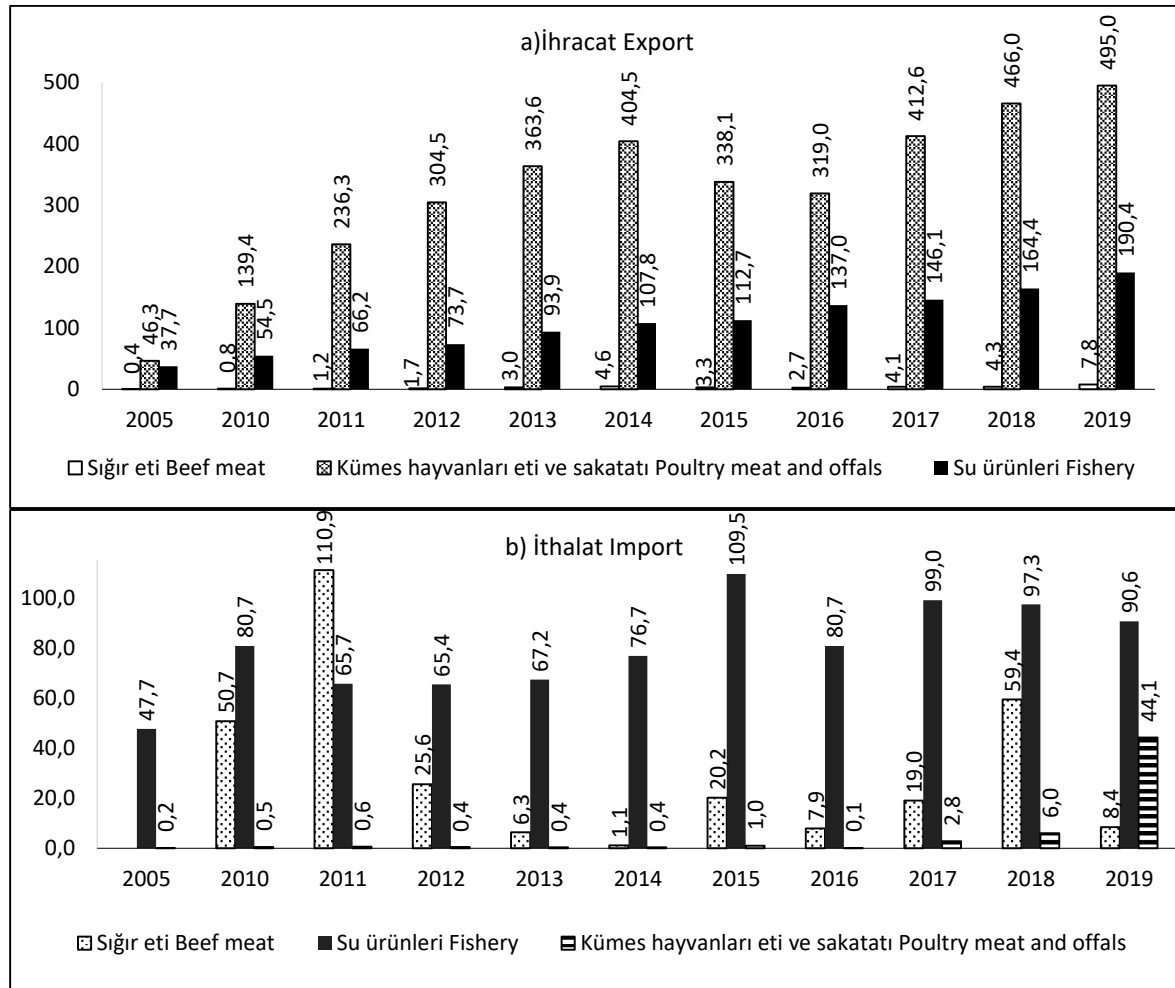
ile birlikte bu yıldan itibaren yurtiçi talebe göre düşük miktarda sığır eti ithalatı yapılmaktadır.

**Kişi Başı Hayvansal Ürün Arzı Bulunabilirliği**

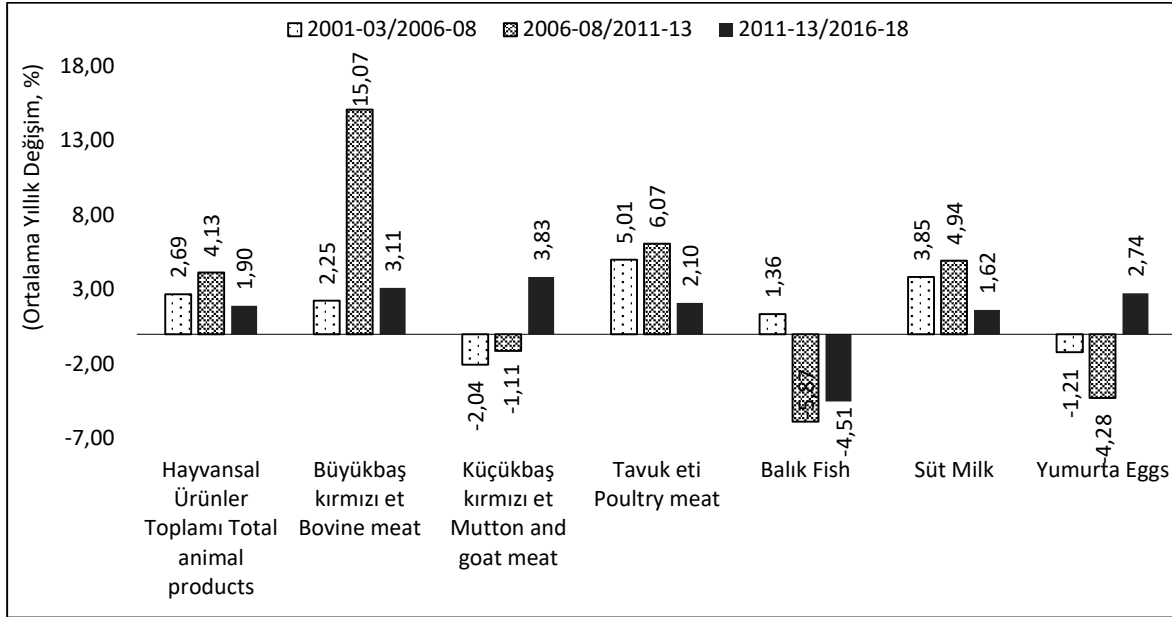
Hayvansal gıdaların bulunabilirliği konusu hayvansal gıda arzı ile ilgilidir. Bununla birlikte, hayvansal ürünler arzının talebi karşılama düzeyinin daha net anlaşılabilmesi için kişi başı hayvansal ürünler arzı gelişiminin incelenmesi

önemlidir. Türkiye’de nüfus artışına karşılık yeterli ve dengeli beslenmeyi sağlayacak miktarda gıda arzının temin edilmesi gereklidir. Bu nedenle beşer yıllık dönemler halinde kişi başı hayvansal ürün arzının ortalama yıllık artış hızları hesaplanarak Şekil 3’te verilmiştir. Gıda arzı, kalori cinsinden hesaplanmış günlük kişi başı hayvansal ürün arzındaki artış hızını ifade etmekte olup toplam hayvansal ürünler, büyükbaş kırmızı et, küçükbaş kırmızı et, tavuk eti, balık, yumurta ve süt için hesaplanmıştır. Buna göre, 2001-2003 ile 2006-2008 yılları arasında kişi başı hayvansal ürünler gıda arzı yıllık ortalama %2.69 oranında

artmıştır. 2000’li yılların ortalarından itibaren gerek hayvancılığa yönelik yeni destekleme politikalarının uygulamaya konulması gerekse sığır eti ithalatı ile birlikte hayvansal ürünlerde kişi başı gıda arzı artışı %4.13 oranında gerçekleşmiştir. 2011-2013 ile 2016-2018 yılları arası dönemde ise kişi başı yıllık hayvansal gıda arzındaki artış hızı bir önceki döneme göre yavaşlayarak yıllık ortalama %1.90 olarak gerçekleşmiştir. Bu azalışta büyükbaş kırmızı et, tavuk eti ve süt arzı artış hızının bir önceki döneme göre düşmesinin etkisi olduğu söylenebilir.



Şekil 2. Türkiye hayvansal ürünler dış ticaret miktarı (Bin ton)  
Figure 2. Foreign trade of livestock products in Turkey (quantity: Thousand tons)  
Kaynak Source: ITC (2020).



Şekil 3. Türkiye’de Kişi Başı Hayvansal Ürünler Arzındaki Gelişmeler (Ort. Yıllık Değişim %)  
Figure 3. Development in Per Capita Animal Products Supply in Turkey (Average Annual Change %)

Kaynak: FAO (2020b)’den hesaplanmıştır.

Source: Calculated from FAO (2020b)

Ürün bazında incelendiğinde ise, 2000’li yıllardan itibaren hayvancılık politikalarındaki köklü değişikliklerinde etkisiyle üretimdeki bir miktar artışla birlikte ithalattan kaynaklanan gıda arzı artışının etkisi büyükbaş kırmızı et arzına yansımaktadır. Küçükbaş kırmızı et arzında ise 2011-2013 yılları arası döneme kadar yıllık kişi başı gıda arzında azalış görülmekte iken 2011 yılından itibaren özellikle hayvan sayısındaki artışa bağlı olarak yıllık kişi başı gıda arzında %3.83 oranında artış yaşanmıştır. Tavuk eti gıda arzında ise özellikle 2006-2008 ile 2011-2013 yılları arası dönemde kişi başı yıllık ortalama %6.07 oranında artış görülürken, 2011-2013 ile 2016-2018 yılları arası dönemde bu artış hızı %2.10’a gerilemiştir. Balık arzı ise incelenen beşer yıllık dönemlere göre istikrar göstermemekle birlikte 2011-2013 ile 2016-2018 yılları arası dönemde kişi başı yıllık ortalama gıda arzı %4.51 oranında azalarak nüfus artışına karşı yeterli gıda artışının sağlanamadığı görülmektedir.

Süt arzında ise 2001 ile 2013 yılları arası dönemde kişi başı gıda arzı artış hızı %3.85’den %4.94’e ulaşırken, 2011-2013 yılları arası ile 2016-2018 yılları arası dönemde yıllık kişi başı süt gıda arzı

artış hızı yavaşlayarak %1.62’ye düşmüştür. Diğer yandan, 2001-2003 yılları arası ile 2011-2013 yılları arası dönemde kişi başı yumurta arzı azalış göstermiştir. Bu dönemden itibaren ise bu düşüş durdurularak ortalama yıllık %2.74 oranında kişi başı gıda arzı artışı sağlanabilmiştir (Şekil 3).

### Türkiye’de Hayvancılık Politikaları

Türkiye’de 2000’li yıllara kadar olan dönemde hayvancılık sektörüne yönelik sağlanan destekler bitkisel üretim ile kıyaslandığında oldukça sınırlı düzeylerde kalmıştır. Bu dönemde canlı hayvan ve hayvansal üretime yönelik uygulanan politikalar belirli dönemlerde ve kısa süreli olarak uygulanmıştır. Bu politika önlemleri arasında daha çok, damızlık hayvan dışalımını, karma yem satışında sübvansiyon ödemesi, sütte teşvik primi ödemesi, kırmızı ve beyaz ette destekleme ödemeleri, özel sektöre yapay tohumlama faaliyetlerini desteklemek için teşvik primi ödemeleri ve hayvan sağlığında kullanılan ilaçlarda ilaç bedeli üzerinden belirli oranda yapılan iadeler bulunmaktadır (Gürer, 2013).

Türkiye’de 2000’li yıllardan itibaren ise içsel nedenler kadar dışsal nedenlerin de etkisiyle



uygulamaya konulan “Tarım Reformu Uygulama Projesi” ile tarımsal üretimde girdi ve ürün destekleri büyük ölçüde kaldırılarak tarım politikalarında köklü değişikliklere gidilmiştir (Ören ve Bahadır, 2005). Bu dönemde “Hayvancılığın Desteklenmesi ve Geliştirilmesi Projesi” başlatılmıştır. 2006 yılında çıkarılan Tarım Kanunu ile tarımsal desteklemelerin yasal çerçevesi oluşturulmuştur. Bu kanun ile kalkınma planı ve stratejileri doğrultusunda tarım sektörünün ve kırsal alanın geliştirilmesi ve desteklenmesi için gerekli politikaları belirlemek ve düzenlemeler yapmak amaçlanmıştır. Bu kapsamda, hayvancılığa yönelik destekleme araçlarının temel amaçları arasında hayvancılık faaliyetlerinde ırk ıslahı, kaba yem üretiminin artırılması, verimliliğin artırılması, işletmelerin ihtisaslaşması, işletmelerde hijyen şartlarının sağlanması, hayvan sağlığı ve refahı, hayvan kimlik sisteminin teşviki, hayvansal ürünlerin işlenmesi ve pazarlanması ile bunlarla ilgili kontrol, takip ve standartların iyileştirilmesi ve su ürünlerinin desteklenmesi gelmektedir (Anonim, 2006).

Bu amaçlarla son yıllarda Türkiye’de hayvansal destekleme modeli içerisinde yem bitkileri, buzağı-malak desteği, süt primi, çiğ sütün değerlendirilmesi, besili erkek sığır, koyun ve keçi desteği, çoban (sürü yöneticisi) istihdam desteği, hayvan gen kaynaklarının korunması, su ürünleri, arıcılık, tiftik, ipekböceği, hastalıktan arı işletmeler, hayvan hastalıkları tazminatları, aşı ve atık desteği gibi önemli destekleme araçları dikkati çekmektedir. Ayrıca bu desteklemelere ek olarak, tarımsal ürün ve hayvan hayat sigortaları, organik tarım ve hayvancılık destekleri, iyi tarım uygulamaları, tarımsal yayım ve danışmanlık gibi destekler de destekleme modeli içerisinde giderek ağırlığını artırmaktadır.

Özetle 2000’li yılların ortalarından itibaren Türkiye’de hayvancılık politikalarında önemli değişimler gerçekleşmiştir. Bu dönemde destekleme kalem ve miktarlarında yapılan yeni düzenlemelerle hayvancılık desteklemelerinde yeni uygulamalar gündeme gelmiş ve toplam tarımsal destekler içerisinde hayvancılık desteklerinin payı artmıştır (Demir ve Yavuz, 2010). 1990 yılında toplam destekler içerisinde

hayvancılığın payı %0.02 iken, 2000 yılında %0.5, 2005 yılında %9.6, 2010 yılında %20.3 ve 2020 yılında ise %35.79’a ulaşmıştır (TOB, 2021).

### **Türkiye’de Nüfusun Beslenme Yapısı ve Hayvansal Ürün Tüketimi**

Minimum besin enerji gereksinim miktarı, iyi beslenemeyen nüfusun belirlenmesinde eşik değer görevi görmektedir. Bir ülkedeki minimum besin enerji gereksinimi değeri, o ülkedeki farklı yaş ve cinsiyetteki bireylerin minimum enerji gereksinimlerinin ağırlıklı ortalamaları alınarak hesaplanmakta olup kişi başı kalori (kcal) cinsinden ifade edilmektedir (FAO, 2020b).

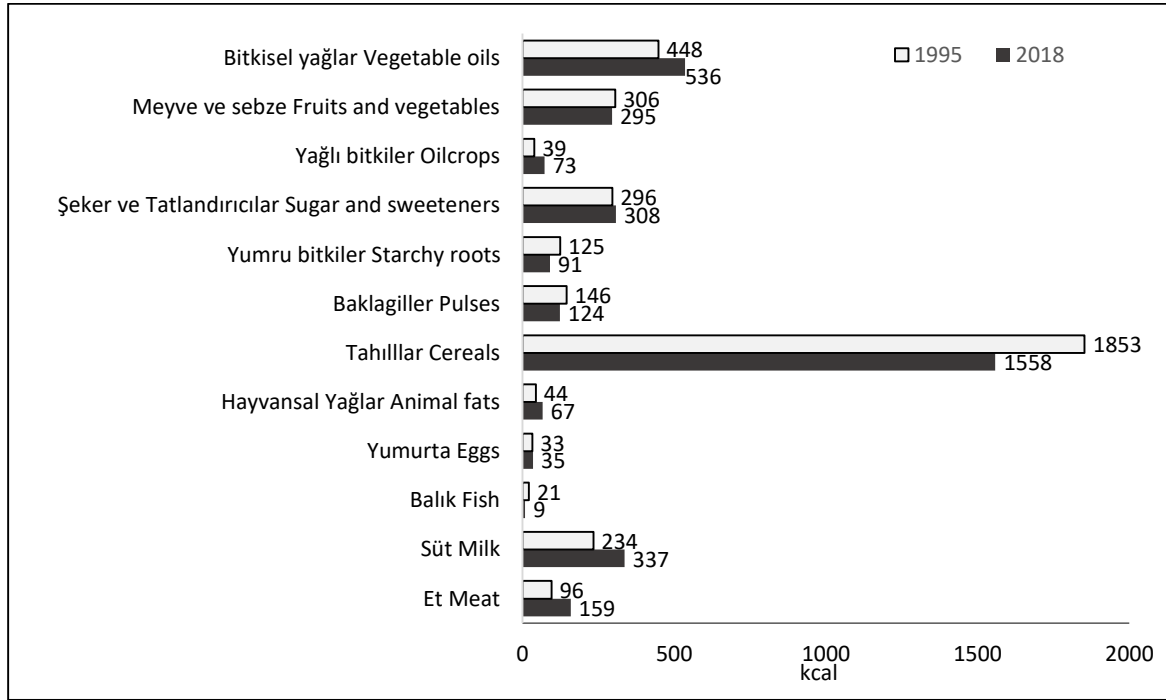
FAO (2020b) verilerine göre Türkiye’de minimum besin enerji gereksinimi artış eğiliminde olup 2017-2019 yılları ortalamasına göre kişi başı günlük 1828 kcal’dır. Benzer şekilde bireylerin ortalama besin gereksinimi ise kişi başı günlük 2372 kcal olup bu değer dünya (2369 kcal) ortalamasına yakın olup yüksek gelirli ülkeler ortalamasının (2511 kcal) altındadır.

Türkiye’de 2016-2018 yılları arası dönemde günlük gıda tüketimi kişi başı 3713 kcal olup, bu değer sadece %15.6’sı (579 kcal) hayvansal kaynaklı gıdalar oluşturmakta geri kalanını ise bitkisel kaynaklı gıdalar oluşturmaktadır (FAO, 2020b). Ancak, 1995-2018 yılları arası dönemde bireylerin günlük gıda tüketim değeri hemen hemen aynı düzeyde gerçekleşirken hayvansal kaynaklı gıdaların payı %11.55’den %16.30’a yükselmiştir. Hayvansal gıda gruplarına göre bireylerin kalori cinsinden hesaplanan günlük gıda tüketimleri incelendiğinde, 1995-2018 yılları arası dönemde balık tüketiminin %57.14 oranında azaldığı, bununla birlikte aynı dönemde et ve et ürünleri tüketiminin %67.39, hayvansal yağlar tüketiminin %52.27, süt ve süt ürünleri tüketiminin ise %44.02 oranında arttığı görülmektedir (Şekil 4).

FAO (2020b) verilerine göre, Türkiye’de kişi başı günlük protein alım miktarı bakımından son 30 yılda önemli bir değişim görülmemiş ve 2016-2018 yılları arası ortalama 110 gr olarak gerçekleşmiştir. Bu değer dünya ortalamasının (82.73 gr) üzerinde ve gelişmiş ülkelerin

ortalaması ile aynı düzeydedir. Ancak gelişmiş ülkelerden farklı olarak Türkiye’de tüketilen proteinin büyük bir oranı (%65.29) bitkisel kaynaklıdır. Oysaki gelişmiş ülkelerde kişi başı günlük tüketilen proteinin yarısından fazlasını hayvansal kaynaklı protein oluşturmaktadır.

Örneğin aynı dönemde AB’de toplam tüketilen proteinin %58.30’unu, ABD’de ise %64.6’sını hayvansal kaynaklı proteinler oluşturmaktadır (FAO, 2020b).



Şekil 4. Türkiye’de bireylerin kişi başı günlük gıda tüketim düzeyleri (kcal)

Figure 4. Per capita daily food consumption levels of individuals in Turkey (kcal)

Kaynak Source: FAO (2020).

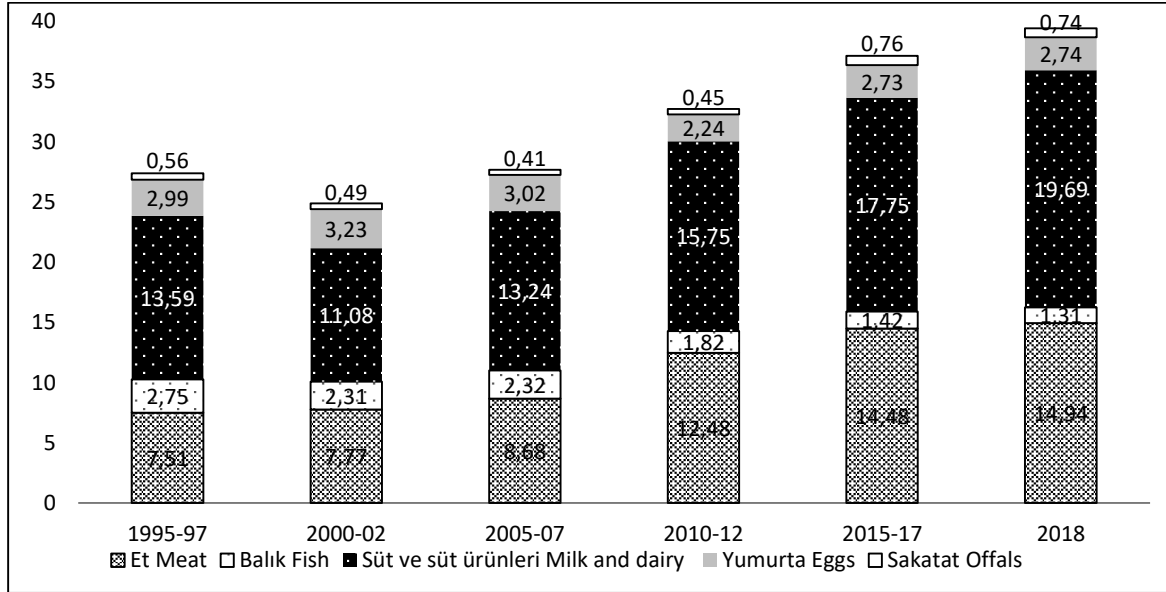
Bununla birlikte Türkiye’de tüketilen hayvansal protein miktarı gelişimi incelendiğinde, 1995-97 yılları ortalamasına göre günlük kişi başı hayvansal protein tüketimi 27.45 gr’dan 2018 yılında 39.5 gr’a yükselmiştir. Hayvansal protein tüketiminin artmasındaki en büyük pay ise et ve süt ürünleri tüketimindeki artıştan kaynaklanmaktadır. Türkiye’de tüketilen hayvansal proteinin yarıya yakını (%49.85) süt ve süt ürünleri oluşturmaktadır. Günlük protein alımında et ürünlerinin katkısı en fazla tavuk etinden (7.04 gr) kaynaklanmaktadır. İncelenen dönemde günlük protein alımında balığın katkısı %10.02’den (2.75 gr) %3.32’ye (1.31 gr) düşmüştür (Şekil 5).

Ayrıca, Türkiye’de hayvansal gıdaların kişi başı tüketim miktarları incelendiğinde süt ve süt

ürünleri tüketimi dışındaki et, yumurta ve deniz ürünleri tüketiminin dünya ortalamasının da altında olduğu görülmektedir (Şekil 6). FAO (2020b) verilerine göre 2018 yılında Türkiye’nin kişi başı yıllık toplam et tüketimi ise 38.97 kg olup, dünya kişi başı toplam et tüketimi değerinin (42.55 kg) altında gerçekleşmiştir. Türkiye kişi başı yıllık ortalama et tüketiminin 14.31 kg’ını (%36.72’sini) dana eti, 1.88 kg’ını (%4.82’sini) koyun ve keçi eti oluşturmaktadır olup, geri kalanını (%58.46’sını) ise kırmızı et açığını kapatan tavuk eti oluşturmaktadır. Bu bakımdan incelendiğinde gelişmiş ülkelere göre Türkiye’de tüketilen etin bileşimi açısından da farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin toplam et tüketimi içerisinde tavuk etinin payı ABD’de %45.99 ve AB’de ise %28.74’tür (FAO, 2020). Benzer şekilde 2018 yılında süt ve

süt ürünleri tüketimi bakımından Türkiye kişi başı 165.37 kg ile dünya ortalaması (78.01 kg) ve gelişmekte olan ülkeler ortalamasının (135.29 kg) üzerinde, ancak gelişmiş ülkeler ortalamasının (188.68 kg) altındadır. Türkiye’de süt ve süt ürünleri tüketim alışkanlığı yaygın değildir. Türkiye’de kişi başı yumurta tüketimi 8.63 kg olup, bu değer dünya ortalamasının (9.59 kg/kişi)

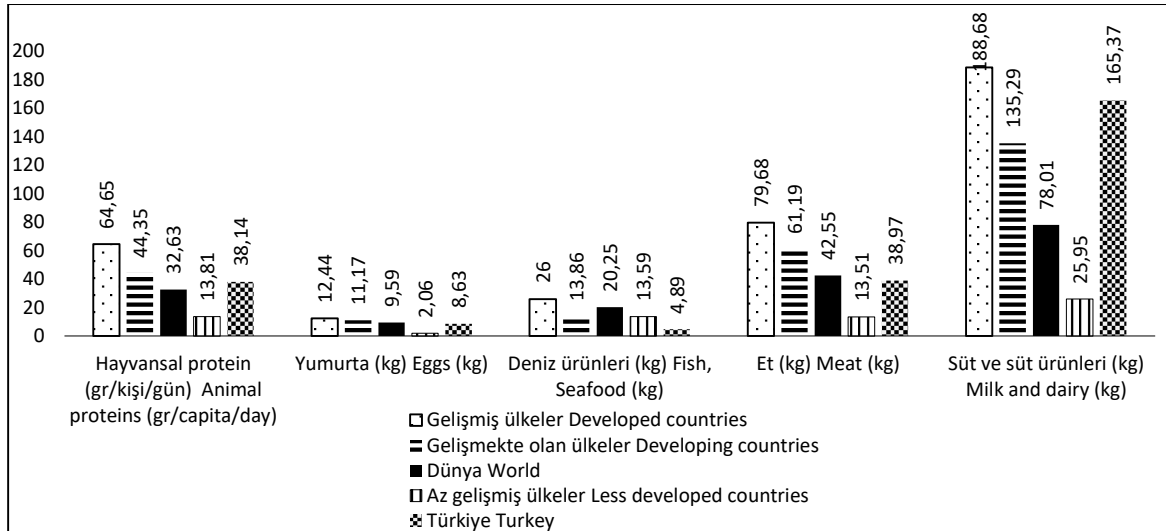
altındadır. Hayvansal ürün tüketimi bakımından bir diğer önemli husus ise Türkiye su ürünleri tüketiminde kişi başı 4.89 kg ile az gelişmiş ülkelerin ortalamasının (13.59 kg/kişi) da altında yer almaktadır. Dünyada su ürünleri tüketimi ise kişi başı 20.25 kg olup, gelişmiş ülkeler ortalaması 26 kg ve gelişmekte olan ülkeler ortalaması ise 13.86 kg’dır (Şekil 6).



Şekil 5. Türkiye’de hayvansal protein alımında besin gruplarının dağılımı (gr/kişi/gün)

Figure 5. Distribution of food groups in animal protein intake in Turkey (gr/person/day)

Kaynak Source: FAO (2020b).



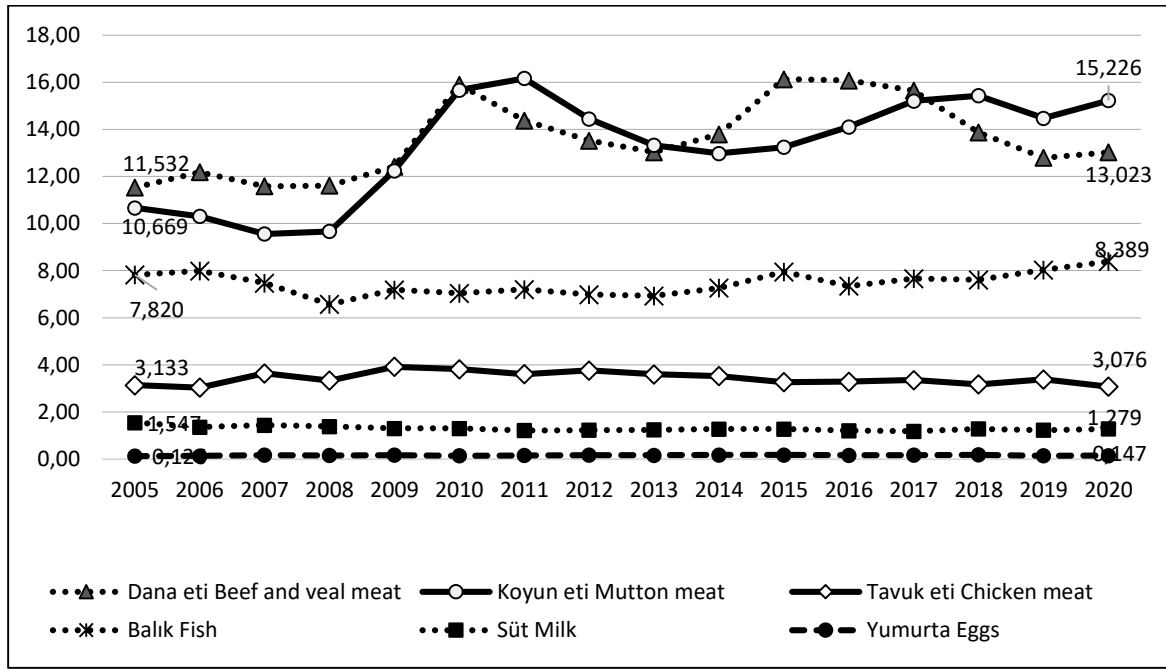
Şekil 6. Hayvansal ürün tüketimine göre ülkelerin karşılaştırılması (2018 yılı)

Figure 6. Comparison of countries according to animal product consumption (2018)

Kaynak Source: FAO (2020b).

Türkiye’de hayvansal ürün talebini etkileyen en önemli unsur ise fiyatlar ve gelirdir. Bu bakımdan incelendiğinde 2005 yılından itibaren gıda fiyatlarındaki artış tüketici fiyatları enflasyonunun üzerinde seyretmektedir (TÜİK, 2021). Ayrıca 2005-2019 yılları arası dönemde gıda fiyatları endeksi 3.73 kat artarken, kişi başı reel gelir 1.66 kat artmıştır (TÜİK, 2021). Bununla birlikte, 2005-2020 yılları arası dönemde reel fiyatlarla dana eti fiyatları %12.9, koyun eti

%42.74, balık %7.29, yumurta %15.38 oranında artarken, süt %17.42 ve tavuk eti fiyatları ise %1.60 oranında reel olarak azalmıştır (Şekil 7). Hayvansal ürün fiyatlarının artmasının başlıca nedenleri arasında, özellikle önemli girdi kalemlerini oluşturan yem ve damızlık materyali gibi girdilerin dışa bağlı olması nedeniyle üretim maliyetlerinin yüksekliği, hayvansal ürünlerde verim düşüklüğü ve etkin bir pazarlama zincirinin olmaması gelmektedir (Gürer, 2020).



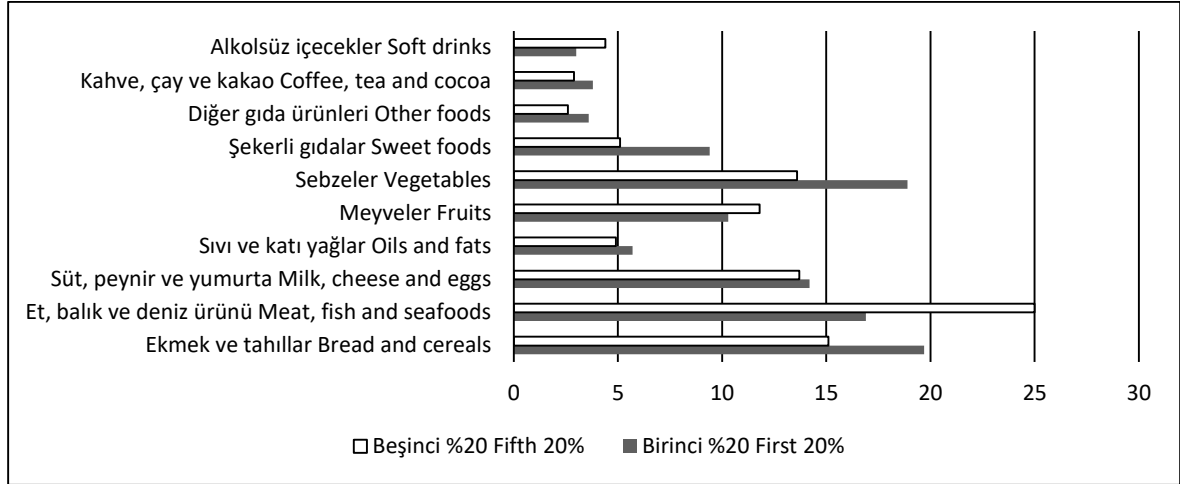
Şekil 7. Hayvansal ürün reel fiyatları gelişimi (TL/Kg) (2005=100)  
 Figure 7. The developments in animal products real prices (TL/ g) (2005=100)  
 Kaynak Source: TÜİK (2021).

Diğer yandan hanelerin toplam gıda harcamalarının gelir gruplarına göre dağılımları incelendiğinde, en düşük gelir grubunda yer alan hanelerin gıda harcamaları içerisinde daha çok ekmek ve tahıl (%19.7), sebze (%18.9), şekerli gıdalar (%9.4) ve yağ (%4.9) gibi ürünlere daha fazla pay ayırırken, et, balık, meyve ve alkolsüz içecekler tüketiminin toplam gıda harcaması içerisindeki payının azaldığı görülmektedir. Hayvansal ürün tüketimi bakımından, gelir artışı ile birlikte toplam gıda harcaması içerisinde et ve balık tüketim harcamalarının payı artarken, süt, peynir ve yumurta harcamalarının payı oransal olarak azalmaktadır (Şekil 8).

Türkiye’de hayvansal ürünlerin talebini etkileyen fiyat ve gelir gibi ekonomik unsurların dışında tüketicilerin sağlıklı beslenme, çevre bilinci, gıda güvenilirliği gibi unsurların da etkili olduğu söylenebilir. Son yıllarda hayvansal ürünlerde görülen deli dana hastalığı, kuş gribi ve diğer zoonoz hastalıklar ile birlikte bu ürünlerde taşıyıcı, hijyen ve kalite kontrolüne yönelik tüketicilerin sağlık kaygısı, günümüzde hayvansal gıda talebinin en önemli belirleyicilerinden biri haline gelmektedir (Mutlu, 2007; Yılmaz ve Yılmaz, 2012; Saygın ve Demirbaş, 2018). Ayrıca son yıllarda tüketici tercihleri arasında, geleneksel beslenme alışkanlıklarının, çevre ve sağlık kaygıları

nedeniyle bitkisel kaynaklı protein kaynaklarını temel alan beslenme modelleri (Akdeniz tipi, vejetaryen ve vegan beslenme modelleri gibi) ile

değiştirilmesi de söz konusudur (Can ve ark., 2021).



Şekil 8. Türkiye’de en düşük ve en yüksek gelir grubunda gıda harcamalarının payı (%)

Figure 8. Share of food expenditures in the lowest and the highest income groups in Turkey (%)

Kaynak Source: TÜİK (2020c)

### Nüfusun Yeterli ve Dengeli Beslenmesi İçin Hayvansal Ürün Arzı İhtiyacı

Çizelge 2., 3. Ve 4.’de Sağlık Bakanlığı (2019) tarafından hazırlanan Türkiye Beslenme Rehberi (2015)’ne dayanarak her bir yaş grubunda cinsiyet faktörü de göz önüne alınarak uzmanlar tarafından önerilen günlük hayvansal ürün tüketim miktarları hesaplanmıştır. Daha sonra bu referans değerler dikkate alınarak 2019 ve 2025 yılı yaş ve cinsiyete göre nüfus tahminleri kullanılarak toplam nüfusun yıllık hayvansal gıda alım gereksinimleri hesaplanmıştır. Bu gereksinim içerisinde bireylerin haftada iki defa balık diğer bir ifade ile 11 yaş ve üstü bireyler için haftada 550 gram (1 porsiyon 275 gr) balık tükettikleri varsayılmıştır.

Buna göre uzmanların yaş ve cinsiyete göre önerdiği günlük beslenme kompozisyonu dikkate alındığında Türkiye’de nüfusun sağlıklı ve dengeli beslenebilmesi için 2019 yılı için hayvansal gıda arzı ihtiyacı kırmızı et ve tavuk eti için 2 milyon 610 bin ton, balık için 2 milyon 263 bin ton, yumurta gıda arzı ihtiyacı 1 milyon 126 bin ton ve süt ve süt ürünleri gıda arzı ihtiyacı ise 21 milyon 037 bin ton olarak hesaplanmıştır (Çizelge 2). Diğer bir ifade ile toplumun yeterli ve dengeli

beslenebilmesi için kişi başı yıllık 31.39 kg kırmızı et ve tavuk, 27.22 kg balık, 13.54 kg yumurta ve 252.99 kg süt ve süt ürünleri arzına ihtiyaç bulunmaktadır.

Bu açıdan 2019 yılında bu gıdalarda gerçekleşen arz miktarı incelendiğinde kırmızı et ve tavuk eti için 2 milyon 759 bin ton, balık için 737 bin ton, yumurta için 724 bin ton ve süt ve süt ürünlerinde ise 22 milyon 477 bin ton olarak gerçekleşmiştir (Şekil 9).

Gelişmekte olan ve az gelişmiş birçok ülke için alternatif ve ucuz protein kaynağı olarak ise balık tüketimi görülmektedir. Bu nedenle, beslenme sorunlarının çözümünde deniz ve iç sular kaynaklarından özellikle balıktan daha fazla oranda yararlanmak dünya beslenme politikasının temel ve önde gelen unsurlarından biri haline gelmiştir. Ancak Türkiye’de bireylerin balık tüketim miktarı dünya ortalamasının da oldukça altındadır. Şen ve Şahin (2017) tarafından Mersin ilinde yürütüldüğü çalışmada tüketicilerin %43’ünün haftada bir defa balık eti, %42’si ise ayda bir defa balık eti tükettiğini belirlemiştir. Terin ve ark. (2016) Van ili kentsel alanda yaptıkları araştırmada hanelerin %30.6’sı on beş günde bir balık

## Nüfus yapısına göre hayvansal gıda arzı ihtiyacı

tüketirken, %30.2'si haftada bir ve %25.4'ü ise ayda bir balık tükettiklerini bulmuşlardır. Bu bulgular göz önüne alınarak Türkiye'de bireylerin et, tavuk ve balık arzı gereksinimi 2019 yılı nüfus verilerine göre Çizelge 3'de tekrardan değerlendirilmiştir. Buna göre Türkiye'de bireylerin haftada bir balık tüketmesi durumunda toplam et ve tavuk arzı ihtiyacı 3 milyon 21 bin tona yükselirken, balık arzı ihtiyacı ise 1 milyon 132 bin ton olarak hesaplanmıştır. Bununla

birlikte bireylerin on beş günde bir balık tüketmesi halinde kırmızı et ve tavuk eti arzı ihtiyacının 3 milyon 241 bin tona yükseldiği ve balık arzı ihtiyacının ise 566 bin ton olduğu hesaplanmıştır. Diğer bir senaryo ise Türkiye'de bireylerin ayda bir defa balık tüketmesi durumunda ise kırmızı et ve tavuk eti ihtiyacının 3 milyon 337 bin tona yükselirken balık arzı ihtiyacının ise 283 bin tona düştüğü görülmüştür.

Çizelge 2. Türkiye'de 2019 yılı nüfusunun besin gereksinimine uygun hayvansal ürün gıda arzı ihtiyacı (1000 ton/yıl)

Table 2. Animal product food supply requirement in accordance with the nutritional needs of the population of 2019 in Turkey (1000 tons / year)

Ürünler Products	Kırmızı et ve tavuk eti Red meat and chicken meat	Balık Fish*	Yumurta Eggs	Süt ve süt ürünleri Milk and dairy products**
0-4	52.39	60.66	99.26	1111.67
5-9	202.14	185.29	84.22	1560.24
10-14	200.42	183.72	83.51	1683.54
Yaş grupları Age groups	15-19	249.00	181.58	1663.94
	20-49	1275.10	1073.73	9839.28
	50-69	480.01	440.01	4032.09
	70 ve yukarısı 70 and above	151.05	138.46	1146.52
Toplam nüfusun yıllık gereksinimi Required amount of the total population	2610.11	2263.45	1126.31	21037.28
Kişi başı gereksinim miktarı (kg/yıl) Required amount per capita (kg/year)	31.39	27.22	13.54	252.99
Gerçekleşen toplam arz miktarı Total actual supply amount	2759.39	736.77	724.42	22476.68
Kişi başı gerçekleşen arz miktarı (kg/yıl) Actual supply amount per capita (kg/year)	33.18	8.86	8.71	270.30

Kaynak: TÜİK (2020a), TÜİK (2020b) ve Sağlık Bakanlığı (2019)'dan faydalanılarak hesaplanmıştır.

Source: Calculated from TÜİK (2020a), TÜİK (2020b) and the Ministry of Health (2019).

\* Uzmanların önerdiği haftada iki defa balık tüketilmesi halinde ele alınan senaryo

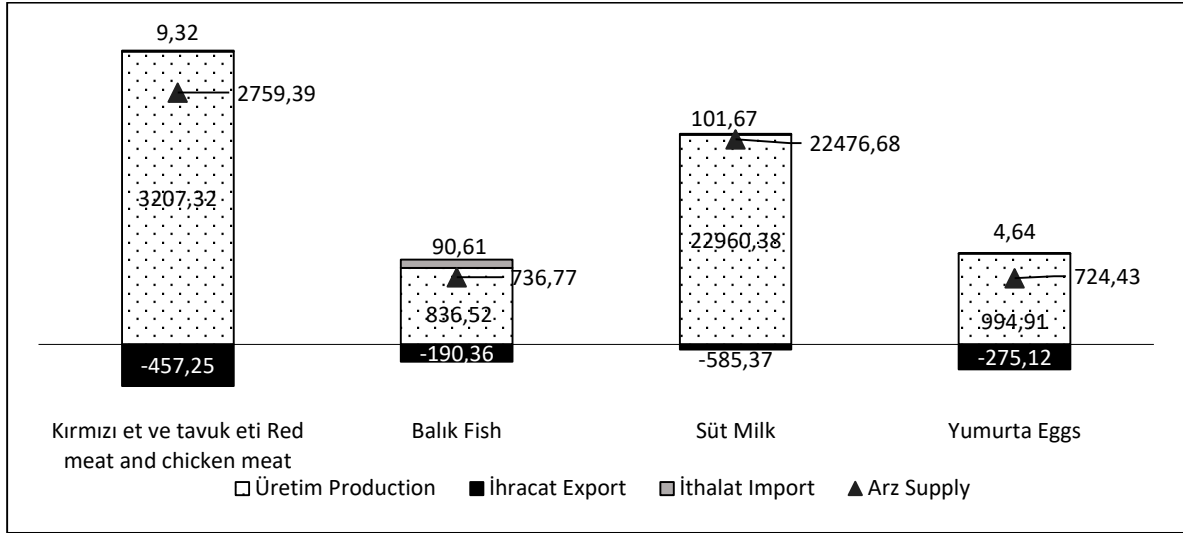
\* Scenario addressed if fish is consumed twice a week recommended by experts

\*\* süt eşdeğerini ifade eder.

\*\* refers to the milk equivalent.

Ayrıca, 2025 yılı yaş ve cinsiyete göre nüfus tahmini baz alınarak hayvansal ürünlerde arz ihtiyacına yönelik öngöründe bulunulmuştur (Çizelge 4). Buna göre 2025 yılı için toplam nüfusun yeterli ve dengeli beslenebilmesi için kırmızı et ve tavuk eti arzı ihtiyacının 2 milyon 782

bin ton, balık ihtiyacının 2 milyon 421 bin ton, yumurta arzı ihtiyacının 1 milyon 201 bin ton ve süt ve süt ürünleri arzı ihtiyacının ise 22 milyon 470 bin ton olacağı öngörülmüştür.



Şekil 9. 2019 yılı hayvansal ürünler gerçekleşen arz miktarı (Bin ton)

Figure 9. Total actual supply for animal products in 2019

Kaynak Source: ITC (2020); TÜİK (2020b)

Çizelge 3. Türkiye’de 2019 yılı nüfusunun besin gereksinimlerine uygun et ve balık arzı ihtiyacı  
Table 3. Required meat and fish amount in accordance with the nutritional needs of the population of 2019 in Turkey  
(1000 tons / year)

	Yaş grupları Age groups							TYG <sup>1</sup> ARA <sup>1</sup>	KBG <sup>2</sup> RAPC <sup>2</sup>	KBB <sup>3</sup> APC <sup>3</sup>
	0-4	5-9	10-14	15-19	20-49	50-69	70+			
Haftada bir defa balık tüketildiğinde In case of fish consumption once a week										
Et, tavuk Meat and chicken	63.41	235.83	233.83	282.02	1470.33	560.01	176.22	3021.65	36.34	-3.16
Balık Fish	30.33	92.65	91.86	90.79	536.87	220.00	69.23	1131.73	13.61	-4.75
Balık 15 günde bir defa tüketildiğinde In case of fish consumption once in 15 days										
Et, tavuk Meat and chicken	69.30	253.80	251.64	299.63	1574.45	602.68	189.65	3241.14	38.98	-5.8
Balık Fish	15.16	46.32	45.93	45.40	268.43	110.00	34.62	565.86	6.80	2.06
Balık ayda bir defa tüketildiğinde In case of fish consumption once a month										
Et, tavuk Meat and chicken	71.87	261.66	259.43	307.33	1620.00	621.35	195.52	3337.16	40.13	-6.95
Balık Fish	7.58	23.16	22.96	22.70	134.22	55.00	17.31	282.93	3.40	5.46

<sup>1</sup> TYG: Toplam Yıllık Gereksinim, ARA: Annual required amount<sup>2</sup> KBG: Kişi Başı Gereksinim (kg/yıl), RAPC: Required amount per capita (kg/year)<sup>3</sup> KBB: Kişi Başı Bulunabilirlik (kg/yıl), APC: Availability per capita (kg/year)

Kaynak: TÜİK (2020a), TÜİK (2020b) ve Sağlık Bakanlığı (2019)’dan faydalanılarak hesaplanmıştır.

Source: Calculated from TÜİK (2020a), TÜİK (2020b) and the Ministry of Health (2019).

## Nüfus yapısına göre hayvansal gıda arzı ihtiyacı

Çizelge 4. Türkiye’de 2025 yılı nüfusunun besin gereksinimine uygun hayvansal ürünler gıda arzı ihtiyacı (1000 ton/yıl)

Table 4. Required animal products amount in accordance with the nutritional needs of the population of 2025 in Turkey (1000 tons / year)

Ürünler Products	Kırmızı et ve tavuk eti Red meat and chicken meat	Balık* Fish	Yumurta Hen eggs	Süt ve ürünleri Milk and dairy	
	0-4	54.60	63.22	103.45	1158.60
	5-9	206.08	188.91	85.87	1590.55
	10-14	205.14	188.05	85.48	1723.18
Yaş grupları Age groups	15-19	253.27	184.75	92.60	1692.96
	20-49	1304.99	1101.46	517.90	10093.36
	50-69	560.05	513.38	233.35	4704.38
	70 ve yukarısı 70 and above	198.23	181.71	82.59	1506.98
Toplam nüfusun yıllık gereksinimi Required amount of the total population	2.782.35	2421.46	1201.23	22470.01	
Kişi başı yıllık gereksinim Required amount per capita (kg/year)	33.46	29.12	14.45	270.22	

Kaynak: TÜİK (2020a), TÜİK (2020b) ve Sağlık Bakanlığı (2019)’dan faydalanılarak hesaplanmıştır.

Source: Calculated from TÜİK (2020a), TÜİK (2020b) and the Ministry of Health (2019).

\* Uzmanların önerdiği haftada iki defa (1 porsiyon 250-300 gr) balık tüketilmesi halinde ele alınan senaryo

\* Scenario addressed if fish is consumed twice a week recommended by experts

### SONUÇ

Çalışma kapsamında, bireylerin yeterli ve dengeli beslenebilmesi için uzmanlar tarafından yaş ve cinsiyete göre önerilen günlük besin alımı referans değerleri kullanılarak, Türkiye nüfusunun 2019 yılı ve 2025 yılı için hayvansal ürünler arz ihtiyacının ve yeterliliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda Türkiye’de hayvansal ürün arzının gelişimi, nüfusun beslenme yapısı ve hayvansal ürün tüketim durumları da incelenmiştir.

Çalışma sonucunda, Türkiye’de son yıllarda hayvancılık sektörüne yönelik uygulanan politikadaki değişikliklerin, hayvan varlığına ve dolayısıyla üretime olumlu yönde yansdığı görülmüştür. Ancak artan nüfus karşısında hayvansal ürünler üretimindeki bu artış, ne yazık ki toplumun yeterli ve dengeli beslenmesini temin edecek boyutta olmamıştır. Bu durumun sonucunda Türkiye’de nüfus, ağırlıklı olarak tahıla dayalı ve yetersiz hayvansal ürün tüketen dengesiz bir beslenme yapısına sahip olmuştur. Bu açıdan değerlendirildiğinde Türkiye’de gizli açlığın varlığından söz edilebilir.

Çalışma kapsamında, nüfusun mevcut beslenme kompozisyonu dikkate alındığında kırmızı et ve tavuk eti gereksiniminin gerçekleşen arz ile karşılanamadığı görülmüştür. Kırmızı ete alternatif olarak tüketilen tavuk eti arzında ise son yıllarda kişi başı ürün arzı artış hızı yavaşlamıştır. Diğer taraftan, hayvansal ürün üretimindeki girdilerin dışa bağlı olması nedeniyle üretim maliyetlerinin yüksek oluşu, hayvansal ürünlerde verim düşüklüğü ve örgütlenme ve pazarlama yapısından kaynaklı sorunlar nedeniyle oluşan ürün fiyatlarındaki artışlar, tüketicilerin satın alma gücündeki artışın üzerinde gerçekleşmektedir. Bu durum ise, tüketicilerin gıda maddeleri satın almında nispeten pahalı olan hayvansal ürünlere erişilebilirliğini güçleştirmektedir. Dolayısıyla, nüfusun gereksinimine uygun hayvansal ürünler arzının ve erişilebilirliğinin sağlanması sadece üretim boyutu ile değil, hayvansal ürünler arz zincirine yönelik bütüncül tedbirlerin birlikte alınması ile mümkün görülmektedir. Aksi takdirde, gelecek yıllarda nüfusun bu ürünlere erişilebilirliğinin daha da hassas bir durumda olacağı muhtemeldir.



Bununla birlikte Türkiye’de son yirmi yılda balık arzındaki özellikle kültür (yetiştiricilik) ile elde edilen balık üretimindeki önemli artışlara rağmen, kişi başı gerçekleşen arz miktarı nüfusun yeterli ve dengeli beslenebilmesini temin edecek miktarın oldukça altındadır. Buna ek olarak, son yirmi yılda balık etinin kişi başı günlük hayvansal protein alımına katkısı azalmaktadır. Dolayısıyla, Türkiye’nin sahip olduğu doğal kaynaklarına rağmen gerek denizlerde gerekse iç sularda su ürünleri kaynaklarını daha rasyonel kullanmaya ihtiyacı vardır. Ayrıca, kültür balıkçılığının (yetiştiricilik) yaygınlaştırılmasına yönelik uygulanan teşvik ve desteklerin artırılarak devam ettirilmesi önemlidir. Balık üretimi ve tüketiminin artırılmasına yönelik teşvik ve destekler gelecek yıllarda gittikçe artan et arzı açığının kapatılmasına da katkı sağlayacaktır.

Sonuç olarak, Türkiye hayvansal gıda üretimi ve tüketiminde bütün kaynaklarını etkin bir şekilde kullanmak durumundadır. Bununla birlikte, hayvansal ürünler arzındaki temel sorunlar çözülemeden toplumun hayvansal ürün tüketiminde arzu edilen seviyeye ulaşamayacağı da açıktır. Bu nedenle Türkiye’de hayvansal gıda üretimine katkısı olan bütün türlerin önemli olduğu gerçeği göz önüne alınarak politikalar uzun vadeli ve dayanakları sağlam öngörülere göre yapılmalıdır. Gıda, beslenme, sağlık birbirinden ayrılmaz kavramlar oldukları için sağlık ve tarım sektörlerinin bu konularda iş birliği içinde çalışmaları önemlidir. Tarım politikalarının belirlenmesinde toplumun beslenme sorunları dikkate alınarak üretim planlanmalıdır. Ayrıca hayvansal ürünler tüketimine yönelik, toplumda yeterli ve dengeli beslenme alışkanlığı kazandıracak ülkesel boyutta teşvik ve destek kampanyalarının yaygınlaştırılması ve sürekliliğinin sağlanması önerilmektedir.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar, bu çalışmanın yapılması ve yayınlanması ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

#### KAYNAKLAR

Alev, N. (2015). Kırmızı et talep tahmini: Van ili üzerine bir uygulama. Yüzüncü Yıl Üniversitesi,

Sosyal Bilimler Enstitüsü, İktisat Anabilim Dalı, İktisat Teorisi Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, Türkiye, 125 s.

Anonim (2006). Tarım Kanunu (Sayı: 5488). 25.04.2006 tarih ve sayı 26148, Resmî Gazete, Başbakanlık, Ankara (Türkiye).

Aytop, Y., Işık, F. (2020). Gaziantep ilindeki tüketicilerin yumurta tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. *Türk Tarım Doğa Bilim Derg*, (7)1:269-275, doi: 10.30910/turkjans.680088

Can, B., Bayram, H.M., Öztürkcan, S.A. (2021). Çevresel sorunlara karşı çözüm önerileri: güncel sürdürülebilir beslenme uygulamalarına genel bakış. *Gıda*, 46(5):1138-1157, doi:10.15237/gıda.GD21062.

Can, B.A. (2019). Türkiye’de yumurta üretimi, tüketimi, ihracatı ve geleceği. International Marmara Sciences Congress, Kasım 2019, Kocaeli, Türkiye.

Demir, N., Yavuz, F. (2010). Hayvancılık destekleme politikalarına çiftçilerin yaklaşımlarının bölgelerarası karşılaştırmalı analizi. *Atatürk Üniv J Fac Agric*, 41(2):113-121. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/35357> (Erişim: 02.05.2021).

Doğan, N. (2019). TRA1 Bölgesinde (Erzurum, Erzincan, Bayburt) hanelerin kırmızı et, tavuk eti ve balık eti tüketimine yönelik mevcut durum üzerine bir araştırma. *Türk Tarım Doğa Bilim Derg*, 6(2):285-295, doi: 10.30910/turkjans.557121.

FAO (2002). Food Security: Concepts and Measurement <http://www.fao.org/3/y4671e/y4671e06.htm#bm06> (Erişim: 10.08.2021).

FAO (2020a). The State of Food Security and Nutrition in the World 2020. Transforming food systems for affordable healthy diets. Rome, FAO. Doi: <https://doi.org/10.4060/ca9692en>

FAO (2020b). Food Security Statistics. <http://www.fao.org/faostat/en/#data> (Erişim: 20.10.2020).

Güngör, E.S., Ceyhun, S.B. (2017). Erzurum ve Van illerindeki balık tüketimi ve tüketici tercihleri üzerine bir araştırma. *Alnteri J Agric Sci*, 32(2): 1-10, doi: 10.28955/alinterizbd.298341.

- Gürer, B. (2013). Türkiye’de hayvansal ürünlerde gıda güvencesinin analizi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Ekonomisi ABD, Doktora Tezi, 206 s.
- Gürer, B. (2020). Investigation of the lagged effects of livestock supports on the animal production value in Turkey *Eurasian J Agric Res*, 4 (2):144-156, <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ejar/issue/58112/822066> (Erişim:02.09.2021)
- Hatırlı, S.A., Öztürk, E., Aktaş, A.R. (2007). Kırmızı, tavuk ve beyaz et talebinin tam talep sistemi yaklaşımıyla analizi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, (6):211-221. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/sbe/issue/23199/247805> (Erişim: 01.12.2020)
- ITC (2020). International Trade Center (ITC) Trade-Map. [www.trademap.net](http://www.trademap.net) (Erişim: 01.11.2020)
- Karakaya, E., Kızıloğlu, S. (2018). Bingöl İli Kent Merkezinde Tüketicilerin Süt ve Süt Ürünleri Tüketim Alışkanlıkları. *KSÜ Tar Doğa Derg*, 21(Özel Sayı): 12-21, doi:10.18016/ksutarimdogavi.504487.
- Mutlu, S. (2007). Gıda güvenliği açısından tüketici davranışları (Adana kentsel kesimde kırmızı et tüketimi örneği). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Tarım Ekonomisi Ana Bilim Dalı, Adana, 220s. <http://traglor.cu.edu.tr/objects/objectFile/e7bSWTUE-492013-8.pdf> (Erişim: 10.08.2021)
- Ören, M.N., Bahadır, B. (2005). Türkiye’de ve OECD ülkelerinde hayvansal ürün politikaları ve bu politikalar sonucu ortaya çıkan transferler. *J Anim Prod*, 46(1):1-7. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/85125> (Erişim: 04.05.2021)
- Öztornacı, B. (2013). Türkiye’de kırmızı et arzının analizi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 91 s.
- Özyürek, S., Çebi, K., Türkyılmaz, D., Esenbuğa, N., Dağdelen, Ü., Yaprak, M. (2019). Erzinan ilinde kırmızı et tüketim alışkanlıkları ve tüketicilerin ithal kırmızı ete bakış açılarının değerlendirilmesi. *Erzinan Univ J Sci Tech*, 12(1):263-273, doi: 10.18185/erzifbed.449704.
- Sağlık Bakanlığı (2019), Türkiye Beslenme Rehberi 2015 (TÜBER), T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Yayın No: 1031, Ankara. ISBN: 978-975-590-608-9
- Saygı, H., Bayhan, B., Hekimoğlu, M.A. (2014). Türkiye’nin İzmir ve Ankara illerinde su ürünleri tüketimi, *Türk J Agric Food Sci Tech*, 3(5):248-254.
- Saygın, Ö., Demirbaş, N. (2017). Türkiye’de kırmızı et sektörünün mevcut durumu ve çözüm önerileri. *Hayvansal Üretim*, 58(1):74-80.
- Saygın, Ö., Demirbaş, N. (2018). Türkiye’de kırmızı et tüketimi: sorunlar ve çözüm önerileri. *Selçuk J Agr Food Sci*, 32(3):567-574, doi: 10.15316/SJAFS.2018.138
- Strateji ve Bütçe Başkanlığı (SBB) (2019). Onbirinci Kalkınma Planı (2019-2023), <https://www.sbb.gov.tr/wp-content/uploads/2019/07/OnbirinciKalkinmaPlani.pdf> (Erişim: 01.09.2021).
- Şen, İ., Şahin, A. (2017). Mersin’de Yaşayan Tüketicilerin Balık Tüketim Tercihlerini Demografik Faktörler Açısından Ele Alan Bir Araştırma. *AKÜ İİBF Derg*, 18(1): 33-46, doi: 10.5578/jeas.48561
- Terin, M., Hamamcı, G., Gül, T., Terin, S. (2016). Van ili kentsel alanda hanelerin balık tüketim yapısı ve satın alma davranışlarının belirlenmesi. *Ege J Fish Aquat Sci*, 33(3): 241-249. doi: 10.12714/egejfas.2016.33.3.08
- TİGEM (2020). Hayvancılık sektör raporu. Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Ankara. <https://www.tigem.gov.tr/DosyaGaleriData/Viaw/a374cc25-acc1-44e8-a546-63b4c8bce146> (Erişim: 29.08.2021)
- TOB (2021). Tarım ve Orman Bakanlığı Faaliyet Raporları. Ankara. <https://www.tarimorman.gov.tr/Konular/Plan-Program-Ve-Faaliyet-Raporlari/faaliyet-raporlar%0c4%0b1> (Erişim: 25.04.2021)
- Tosun, D. (2016). Türkiye’de kırmızı et arzının sürdürülebilirliğini etkileyen faktörlerin belirlenmesi üzerine bir araştırma: İzmir ve

Afyonkarahisar illeri örneği. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İzmir. 163s.

TÜİK (2020a). Türkiye İstatistik Kurumu. Nüfus ve Demografi İstatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=nufus-ve-demografi-109&dil=1> (Erişim tarihi: 01.11.2020).

TÜİK (2020b). Türkiye İstatistik Kurumu. Hayvancılık İstatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1> (Erişim tarihi: 01.11.2020).

TÜİK (2020c). Türkiye İstatistik Kurumu. Hanehalkı Tüketim Harcaması İstatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=gelir-yasam-tuketim-ve-yoksulluk-107&dil=1> (Erişim: 05.02.2021).

TÜİK (2021). Türkiye İstatistik Kurumu. Fiyat İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/>

VeriBilgi.do?tb\_id=46&ust\_id=13 (Erişim tarihi: 01.04.2021)

Türkmen, M., Türkmen, A., Duran, K. (2016). Giresun ilinde balık tüketiminin araştırılması. *Türk J Agric Food Sci Tech*, 4(8):712-718.

Yağmur, C., Güneş, E. (2010). Dengeli beslenme açısından Türkiye’de gıda üretimi ve tüketiminin irdelenmesi. VII. Zırrat Mühendisliği Teknik Kongresi, Ankara, Türkiye. [https://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/95f15384c2a79ce\\_ek.pdf](https://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/95f15384c2a79ce_ek.pdf) (Erişim: 30.08.2021)

Yılmaz, İ., Yılmaz, E. (2012). Türkiye’de hayvansal gıda tüketimi ve sorunlar. 10. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi, 5-7 Eylül 2012, Konya, Türkiye, 1293 s.

## LİTYUM KLORİT/DİMETİLASETAMİT ORTAMINDA NANOSELÜLOZUN ASETİK ANHİDRİT VE FARKLI YAĞ ASİTLERİ İLE ESTERİFİKASYONUNUN OPTİMİZASYONU

Özlem Erinç<sup>1\*</sup>, Hakan Erinç<sup>1</sup>, Behiç Mert<sup>2</sup>, Ayşe Özbey<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Niğde, Türkiye

<sup>2</sup> Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 22.09.2021; Kabul / Accepted: 29.11.2021; Online baskı / Published online: 15.11.2021

Erinç, Ö., Erinç, H., Mert, B., Özbey, A. (2021). Lityum klorit/dimetilasetamit ortamında nanoselülozun asetik anhidrit ve farklı yağ asitleri ile esterifikasyonunun optimizasyonu. *GIDA* (2021) 46 (6) 1467-1480 doi: 10.15237/gida.GD21118.

Erinç, Ö., Erinç, H., Mert, B., Özbey, A. (2021). Optimization of nanocellulose esterification with different fatty acids and acetic anhydride in lithium chloride/dimethylacetamide medium. *GIDA* (2021) 46 (6) 1467-1480 doi: 10.15237/gida.GD21118.

### ÖZ

Sunulan bu çalışmada buğday kepeği, mısır koçanı ve ayçiçeği tablasından mikro-akışkan tekniği kullanılarak nanofibler elde edildikten sonra farklı zincir uzunluklarına sahip yağ asitleri (C6, C12, C18, C18:1) ile farklı derecelerde esterleştirilmesinin optimizasyonu yapılmıştır. İlk olarak, selülozik materyal NaOH ile muamele edildi ve daha sonra nano-selüloz lifi elde etmek için kolloid değirmen ve mikro akışkanlaştırıcıda öğütüldü. Bu liflerde selüloz, lignin ve su tutma kapasitesi analizleri yapılmıştır. Örneklerin selüloz içeriği arttıkça su tutma kapasitelerinin arttığı belirlendi. Bu lifler, farklı esterleşme derecelerinde nanoselüloz-yağ asidi esterleri elde etmek için farklı yağ asitleri ile esterleştirildi. Bu sayede, farklı hidrofilik ve lipofilik gruplara sahip nano-selüloz yağ asidi esterleri elde edildi (esterleşme dereceleri 0,41-2,99). Reaksiyon süresinin ve kullanılan yağ asidi miktarının artırılması, esterleşme reaksiyonunun yüksek oranda gerçekleşmesini sağladı. Maksimum esterleşme derecesine sahip ürünler, 90°C'de 300 dakika sonunda anhidroglüköz birimi başına ortalama 2.45 asetil grubu ve 0.55 yağ asidi olarak elde edildi. Sonuç olarak, selülozun farklı yağ asitleri ve asetik anhidrit ile DMAc/LiCl ortamında farklı derecelerde esterleştirilmesi sağlandı.

**Anahtar kelimeler:** Nanoselüloz, esterifikasyon, yağ asitleri, asetik anhidrit

## OPTIMIZATION OF NANOCELLULOSE ESTERIFICATION WITH DIFFERENT FATTY ACIDS AND ACETIC ANHYDRIDE IN LITHIUM CHLORIDE/DIMETHYLACETAMIDE MEDIUM

### ABSTRACT

In this study, nano fibers were obtained from wheat bran, corn cob and sunflower receptacle by using micro-fluidization and then esterified with fatty acids (C6, C12, C18, C18:1) in different degrees of substitution. Firstly, cellulosic material was treated with NaOH and then milled through the colloid mill and micro-fluidizer to obtain nano-cellulose fiber. Cellulose, lignin and water holding capacity

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: ozlem\_erinc@hotmail.com

☎: (+90) 388 225 4005

☎: (+90) 388 225 0112

Özlem Erinç; ORCID no: 0000-0001-7968-000X

Hakan Erinç; ORCID no: 0000-0001-8858-4570

Behiç Mert; ORCID no: 0000-0001-8450-8810

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

analyses were made in these fiber. It was determined that as the cellulose content of the samples increased, their water holding capacity increased. These fibers were esterified with different fatty acids in different degrees of substitution to obtain nanocellulose-fatty acid esters. In this way, nanocellulose-fatty acid esters with different hydrophilic and lipophilic groups were obtained (degrees of substitution 0,41-2,99). Increasing the reaction time and increasing the amount of fatty acid used ensured that the esterification reaction took place at a high rate. Products with the maximum degree of esterification were obtained after 300 minute at 90°C with an average of 2.45 acetyl groups and 0.55 fatty substituents per anhydroglucose unit. As a result, cellulose was esterified with different fatty acids and acetic anhydride in DMAc/LiCl medium at different degrees.

**Keywords:** Nanocellulose, esterification, fatty acids, acetic anhydride

## GİRİŞ

Selüloz doğadaki en çok bulunan, D-anhidroglukopiranoz birimi (AGU) içeren doğrusal ve oldukça sert bir homopolimerdir. Selülozun yapısal özelliklerinin iyi bir şekilde anlaşılması, farklı ikame edicilerin selüloz ve türevlerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerindeki etkisini incelemeyi gerektirir. Anselme Payen, selülozun kimyasal bileşimini  $(C_6H_{10}O_5)_n$  ilk belirleyen kişidir (Wisniak, 2004). Tekrar birimi,  $\beta$ -1  $\rightarrow$  4 glikosidik bağ ile birbirine bağlanmış iki AGU halkasından  $((C_6H_{10}O_5)_n; n = 10000 \text{ ile } 15000, n, \text{ selüloz kaynağına bağlı})$  oluşmaktadır. İntramoleküler hidrojen bağları selüloz molekülünün yüksek sertlik ve sağlamlığının başlıca nedeni olup çözüldüde yüksek viskozite, yüksek kristalleşme eğilimi ve lifimsi şeritler oluşturma kabiliyetini sağlar (Kondo, 1997).

Selüloz yaygın olarak kullanılan organik çözücülerde ve su içerisinde çözünmez (Krässig, 1992). Bunun nedeni hem geniş moleküller arası ve molekül içi hidrojen bağlarının bulunması hem de hidrofobik etkileşimlerdir. Hidrojen bağlarının kırılması, polar ve polar olmayan çözücülerdeki selülozun çözünürlüğünü artırır (Medronho vd., 2012).

Selüloz morfolojik olarak iyi düzenlenmiş lifli bir yapıya sahiptir. Selüloz morfolojisi üzerine bilgi çoğunlukla elektron mikroskopisi teknikleriyle (tarama ve transmisyon elektron mikroskobu) elde edilir. Selülozun kaynağına bağlı olarak değişken boyutlu en küçük morfolojik birimi lifleridir. Üniform ve düzgün olmayan bir lifin çapı 3-20 nm aralığındadır. Mikrolif, düzgün olmayan alt birimlerden oluşmasına rağmen, en iyi tanımlanmış en küçük morfolojik selüloz

yapısıdır. Mikrolifler, çapları 10-50 nm arasında olan ve önemli ölçüde selüloz kökenli olan daha büyük morfolojik yapılar şeklinde biraraya gelir (Khanjani, 2015).

Selüloz kaynaklı hammaddelerden selüloz izolasyon işlemi iki aşamadan oluşur. Birinci aşama, hammaddenin saflaştırılması ve homojenizasyonu ön işlemleridir. Bu uygulama, selüloz kaynağına (ahşap, bitkiler, tunikat, algal ve bakteri selüloz kaynağı gibi) bağlı olarak değişmektedir (Moon vd., 2011). İkinci aşama, bu "saflaştırılmış" selüloz maddesinin mikrolifler ve / veya kristal bileşenlere ayrılmasını oluşturur. Bu aşamada mekanik işlem, asit hidrolizi ve enzimatik hidroliz gibi farklı işlemler kullanılmaktadır (Siró ve Plackett, 2010).

En bol selüloz içeren hammadde odun ve daha az oranda yıllık bitkilerdir. Bu ahşap veya bitki hücreleri 10 mikron çapında ve milimetre uzunluğundadır. Bunlar yüksek selüloz miktarına ve nispeten düşük kristal oranına (%43-65) sahiptirler. Mikrokristal selüloz (MKS), hemiselüloz içerikli hamurun asit hidroliziyle ve alkali ile nötralize edilmesi ile hazırlanır. Nihai parçacıklar yaklaşık 10-50  $\mu\text{m}$  çapındadır. Genellikle, MKS agregaları, kompozitlerde kullanım için 1-10  $\mu\text{m}$  uzunluğunda daha küçük parçacıklara ayrılır. Selüloz parçacıklarının bir başka türü, ahşap ve bitki lifi pulplarının mekanik olarak işlenmesiyle üretilen mikrolif selülozdur (MLS). Genişlik ve uzunlukları sırasıyla 10-100 nm ve 0,5-10  $\mu\text{m}$  olup yüksek en/boy oranına sahiptirler ve hem amorf hem de kristal bölgeler içerirler. Nanolif selülozun (NLS) boyutları ise sırasıyla 4-20 nm ve 500-2000 nm'dir. NLS'nin MLS'den farklılaşması, daha ince parçacık çapı üreten lifli yapı sağlama işlemine dayanır (Moon

vd., 2011). Mert vd. (2011) mısır yapraklarından elde edilen liflerin daha büyük yapılı lifler olmasından dolayı, nispeten daha kısa kısımlara sahip olan mısır koçanından elde edilen liflerden daha az su tuttuğunu bildirmişlerdir. Dolayısıyla aynı bitkiden ancak farklı kısımlarından elde edilen liflerinde farklı özelliklere sahip olduğu anlaşılmaktadır.

Nanoselüloz kristalleri kâğıt sanayii uygulamalarında temel olarak 2 dezavantaja sahiptir. Bunlardan birincisi, iki nanokristal arasında güçlü hidrojen etkileşimlerine yol açan ve jel benzeri yapı oluşturan hidroksil gruplarının sayısıdır. İkinci dezavantaj ise, kâğıt kaplama veya kompozit üretimi gibi çeşitli uygulamalarda kullanımını sınırlayan, bu malzemenin yüksek hidrofillikliğidir (Khanjani, 2015). Nitekim Mert vd. (2011) üretmiş oldukları nano liflerin çok fazla su tuttuğunu ve gıda uygulamalarında bu durumun sorun oluşturduğunu belirlemişlerdir. Bu nedenle selülozun modifikasyonu tercih edilen bir işlem olarak ortaya çıkmaktadır.

Selüloz nanoparçacıklarının yüzey yapısı (kimyası) öncelikle, doğal selülozik hammaddeden nanopartiküller hazırlamak için kullanılan ekstraksiyon işlemi ile belirlenir. Selülozun ekstraksiyonu sırasında sülfirik asit muamelesiyle selüloz nanoparçacıklarının yüzeyinde sülfat esteri oluşturulabilir (selüloz sülfatasyonu). Selülozun sülfatasyonu ile nanoselüloz dispersiyonunun stabil olması sağlanır. Bu yöntem, kristal yüzey üzerinde sülfat gruplarının zenginleştirilmesine neden olur. Fosforik asit ve hidrobromik asit gibi daha az kullanılan diğer yöntemler de bulunmaktadır. Bir diğer yöntem ise 2,2,6,6-tetrametilpiperidin 1-oksil kullanılarak yapılan oksidasyon işlemidir. Bu yöntemde, selülozdaki birincil alkol gruplarını seçici olarak oksitlemek için hipoklorit gibi bir oksidan ve 2,2,6,6-Tetrametilpiperidin 1-oksil radikali (katalizör) kullanılır. Bu yöntemle, nanolif haline getirilmiş selülozun birincil alkol grubu karboksilik aside oksitlenir (Khanjani, 2015).

Bir diğer modifikasyon yöntemi ise moleküllerin bir gaz, sıvı veya çözünmüş katıdan selüloz yüzeyine adsorbe edilmesi yoluyla sağlanır. Sürfaktanların adsorpsiyonu ile nanoparçacıkların

kovalent olmayan yüzey modifikasyonları sağlanarak stabilite artışı gerçekleşir. Bu yaklaşım, alkilfenol yapısı bulunduran fosforik asitin mono- ve di-esterlerinden oluşan sürfaktanları kullanan Heux vd. (2000) tarafından ortaya atılmıştır. Kim vd. (2009) ve Rojas vd. (2009) selüloz nanoparçacıklarını polistiren esaslı kompozitlerde dağıtmak için noniyonik sürfaktan kullanımının uygun olduğunu belirlemişlerdir. Selüloz yüzey modifikasyonunun üçüncü yöntemi, moleküllerin türetilmesi ve/veya kovalent bağlanması yoluyla sağlanır. Selüloz hidroksil gruplarına sahip olmasından dolayı alkollerle veya anhidritlerle kimyasal modifikasyonu gerçekleştirilebilmektedir. Bu sayede farklı kimyasallar kullanılarak farklı özelliklerde son ürünler üretilebilmektedir. Selülozik OH gruplarının sülfirik asit ile reaksiyonu yoluyla sülfat esterlerin oluşması yüzeyin negatif yüklü olmasını sağlar. Koagülasyon önlemek amacıyla selülozun homojen sülfasyonu, selüloz sülfatlar elde etmek için bir iyonik sıvı 1-bütül-3-metilimidazolyum klorit kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Wang vd., 2009). Heterojen sistemin en büyük problemi, amorf bölgelerdeki OH grupları ile kristal bölgelerdeki OH grupları arasındaki erişilebilirliktir ve homojen olmayan modifikasyon ile sonuçlanır. Bir başka modifikasyon örneği, polimer ekleme olup, çeşitli özelliklere sahip bir dizi farklı polimer selüloz yüzeyine eklenir. Yüzeyler ayrıca kloro ve alkoksi silanlar kullanılarak silileştirilebilir. Silanlar selüloz yüzeyine kovalent olarak bağlanmaktadır (Andresen vd., 2007).

Selüloz zincir moleküllerinin her bir glukoz birimindeki üç hidroksil grubu selüloz esterleri oluşturmak üzere inorganik ve organik asitler veya asit klorürler ve anhidritler ile reaksiyona girebilir. Polisakkaritlerin en yaygın açılması, heterojen koşullar altında karboksilik asit anhidritler ile sağlanır. Selüloz asetat, katalizör olarak sülfirik asidin kullanımı ile (ağırlıkça% 15'e kadar) selülozun asetik asit ve asetik anhidrit karışımı ile modifikasyonu yoluyla üretilmektedir. Selüloz esterlerinin reaktifliği yapıya bağlanan karboksilik asidin zincir uzunluğu arttıkça azalmaktadır (asetik> propiyonik> bütirik asit) (Liu ve Zhang, 2008).

Sunulan bu çalışmada delignifikasyon işlemi sonrasında mikro-akışkanlaştırma yöntemi ile 3 farklı kaynaktan (Buğday kepeği, mısır koçanı ve ayçiçeği tablası) nanoselüloz lifleri elde edilmiş olup, elde edilen liflerin hidroksil grupları farklı zincir uzunluklarına sahip yağ asitleri ve asetik anhidrit ile farklı oranlarda esterleştirilmesinin optimizasyonu çalışmaları yapılmıştır.

## **MATERYAL-METOT**

### **Nanoselüloz liflerinin eldesi**

#### ***Ligninin uzaklaştırılması***

Buğday kepeği, mısır koçanı ve ayçiçeği tablası 80°C sıcaklıktaki NaOH içeren alkali su (pH 12) içine konulmuş ve yapıda bulunan ligninin ayrılmasını sağlamak için 48 saat bekletildikten sonra, saf su ile suyun koyu rengi giderilene kadar yıkanmıştır.

#### ***Kolloit değirmen ile boyut küçültme işlemi***

Lignini uzaklaştırılmış lifler kolloit değirmende (IKA Magic Lab, Almanya) boyut küçültme işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla lifler 10000–11000 dev/dakika dönüş hızına sahip koloit değirmenden 3 defa geçirilerek, boyutları kolloit çözelti oluşturacak düzeylere küçültülmüştür.

#### ***Mikroakışkan cihazı ile boyut küçültme işlemi***

Kolloit değirmen ile boyutu küçültülen lifler, yüksek basınçlı bir mikroakışkan cihazından geçirilmiştir. Bu aşamada 14000–15000 psi basınç ile mikro kanallardan geçirilerek mikroakışkan özellik kazanmış ve böylece boyut indirgeme gerçekleştirilmiştir. Elde edilen lifler birimimizde bulunan dondurarak kurutma cihazı ile (-)90°C'de vakum altında kurutulmuş ve (-)85°C'de saklanmıştır.

### **Nanoselüloz örneklerinde analizler**

#### ***Lignin, protein ve selüloz tayini***

Bitkisel liflerde lignin tayini TAPPI T 13 m-54 standardına göre (Anonim, 1998) protein içeriği AOAC Official Method 920.87 (AOAC, 1998)'a göre selüloz içeriği ise Kürschner-Hoffner (1969) yöntemine göre belirlenmiştir.

#### ***Su tutma kapasitesi tayini***

Bitkisel liflerin su tutma kapasitesi analizi McConnell vd. (1974) tarafından belirlenen santrifüj metodu kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, dondurarak kurutma cihazı ile -80°C ve 0,001 mmHg basınç altında kurutulan örneklerin 1,0 gramı 15 ml distile su ile santrifüj tüpü içinde karıştırıldıktan sonra tüpler yaklaşık 10 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra, 30 dakika bekletilmiş ve 3500 devir/dakika hızla 10 dakika santrifüje tabi tutulmuşlardır. Son olarak, üstte kalan sıvı faz ayrıldıktan sonra kalan pellet tartılmıştır. Su tutma kapasitesi g H<sub>2</sub>O/g kuru selüloz olarak tanımlanmıştır.

#### ***Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri***

Elde edilen bitkisel liflerin morfolojik yapıları Zeiss/Evo 40 model taramalı elektron mikroskobu yardımıyla belirlenmiştir.

### **Nanoselüloz yağ asidi esterleri sentezinin optimizasyonu ve analizler**

#### ***Nanoselüloz yağ asidi esterleri sentezinin optimizasyonu***

Bu aşamada Vaca-Garcia ve Borredon (1999) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek kullanılmış olup bu aşamada kaproik asit (hekzanoik asit, 6:0, erime noktası -3°C), laurik asit (dodekanoik asit, 12:0, erime noktası 44°C), stearik asit (oktadekanoik asit, 18:0, erime noktası 70°C) ve oleik asit (oktadesenoik asit, 18:1, erime noktası 13°C) kullanılarak farklı özelliklerde ürünlerin eldesi sağlanmıştır.

Bu amaçla 2 g nanoselüloz örneği önce 200 mL saf su ile daha sonra 80 mL etanol (2 defa) ile yıkandıktan sonra oda sıcaklığında kurutulmuş ve daha önce hazırlanmış olan yağ asidi, asetik anhidrit ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> karışımı içerisine eklenmiş ve 75°C'de belirli sürelerde reaksiyonun gerçekleşmesi sağlanmıştır (glikoz : asetik anhidrit : H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> mol oranları sırasıyla 1 : 6 : 0.06). Reaksiyon sonrasında filtrasyon işlemi yapılmış ve elde edilen örnekler 250 mL metanol ile yıkanarak reaksiyona girmeyen yağ asitleri uzaklaştırıldıktan sonra örnekler vakumlu etüvde 60°C'de kurutulmuş ve saklanmıştır.

Bu aşamada her bir yağ asidi 6 farklı konsantrasyonda (1-10 mol) kullanılmış ve reaksiyon 6 farklı sürede (30-360 dk) gerçekleştirilmiş olup nanoselüloz-yağ asidi esterlerinin optimizasyonu Design Expert 8.0.7.1 paket programı (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, ABD) ile oluşturulan deneme deseni (D-Optimal Cubic Design) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### Esterleşme derecesinin belirlenmesi

Üretilen her bir örneğin esterleşme derecesi volumetrik yöntem (Gourson vd., 1999) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, üretimi yapılan esterler, 40 °C'de 16 saat 0,25M NaOH alkollü çözelti ile sabunlaştırıldıktan sonra N/10'luk hidroklorik asit ile titre edilmiş ve reaksiyona giren/girmeyen NaOH üzerinden aşağıdaki formül kullanılarak esterleşme derecesi belirlenmiştir.

$$\text{Esterleşme Derecesi} = \frac{M_{glik}}{(M_{\text{örnek}} / n_{ya}) - (M_{ya} - M_s)}$$

$M_{glik}$  = glukoz ünitesinin moleküler ağırlığı (162,14 g)

$M_{\text{örnek}}$  = Örnek miktarı (g)

$n_{ya}$  = yağ asidinin mol sayısı (titrasyonla hesaplanmış)

$M_{ya}$  = yağ asidinin moleküler ağırlığı (g)

$M_s$  = Su molekülünün moleküler ağırlığı (g)

#### Yağ asitleri kompozisyonu analizi

Elde edilen ürünlerde bağlanan yağ asitlerinin belirlenmesi amacıyla Christie (1989) tarafından bildirilen ve Kim ve Liu (1999) tarafından değiştirilen yağ asitlerinin asidik ortamda transesterifikasyonu metodu kullanılarak nanoselüloz-yağ asidi esterlerinden yağ asidi metil esterleri oluşturulmuştur. Bu amaçla 2 g örnek

üzerine 1,2 mL %1'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (metanolde) ilave edilmiş ve 80°C'de 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra üzerine %5'lik NaCl çözeltisinden 1,4 mL ilave edilmiş ve ayırma hunisinde 15 mL hekzan ile 2 kez ekstraksiyon yapılmıştır. Hekzan fazı üzerine %4'lük 1,2 mL potasyum bikarbonat ilave edilip sodyum sülfat varlığında vakum altında filtre edilmiştir. Elde edilen esterler daha sonra, DB 23 kapiler kolon (60 m x 0,25 mm ve 0,25 µ film kalınlığı) kullanılarak gaz kromatografisi cihazında (Shimadzu GC-2010plus) analiz edilmiştir. Analiz kapsamında miktar analizi yapabilmek için iç standart olarak margarik asit (17:0) ve taşıyıcı gaz olarak helyum (1mL/dk) kullanılmıştır.

#### İstatistik analiz

Çalışma kapsamında elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) paket programı kullanılmış olup ANOVA analizi uygulanmıştır.

#### BULGULAR ve TARTIŞMA

##### • Lignin, protein, selüloz ve su tutma kapasitesi tayini

Bitkisel liflerde lignin tayini, protein içeriği ve selüloz içeriği belirlenmiş olup sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü üzere buğday kepeğinden elde edilen lifin selüloz içeriği %50.878±0.713, lignin içeriği %0.343±0.113 ve protein içeriği %0.0163±0,080, ayçiçek tablasından elde edilen lifin selüloz içeriği %60.973±0.919, lignin içeriği %0.350±0.119 ve protein içeriği %0.168±0.080, mısır koçanından elde edilen lifin ise selüloz içeriği %78.683±0.521, lignin içeriği %0.429±0.121 ve protein içeriği %0.0818±0.004 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 1. Nanoliflerin lignin, protein ve selüloz içeriği

Table 1. Lignin, protein and cellulose contents of nanofibers

Örnek Sample	Selüloz Cellulose (%)	Lignin Lignin (%)	Protein Protein (%)	Su tutma kapasitesi Water holding capacity (g H <sub>2</sub> O/g)
BN	50.878±0.713 <sup>a</sup>	0.343±0.113 <sup>a</sup>	0.0163±0.080 <sup>a</sup>	6.76±0.033 <sup>a</sup>
AN	60.973±0.919 <sup>b</sup>	0.350±0.119 <sup>a</sup>	0.0168±0.008 <sup>a</sup>	7.19±0.066 <sup>b</sup>
MN	78.683±0.521 <sup>c</sup>	0.429±0.12 <sup>b</sup>	0.0818±0.004 <sup>b</sup>	7.67±0.057 <sup>c</sup>

BN: Buğday kepeğinden elde edilen nanolif, *Wheat bran nanofiber*

AN: Ayçiçek tablasından elde edilen nanolif, *Sunflower tray nanofiber*

MN: Mısır koçanından elde edilen nanolif, *Corn cob nanofiber*



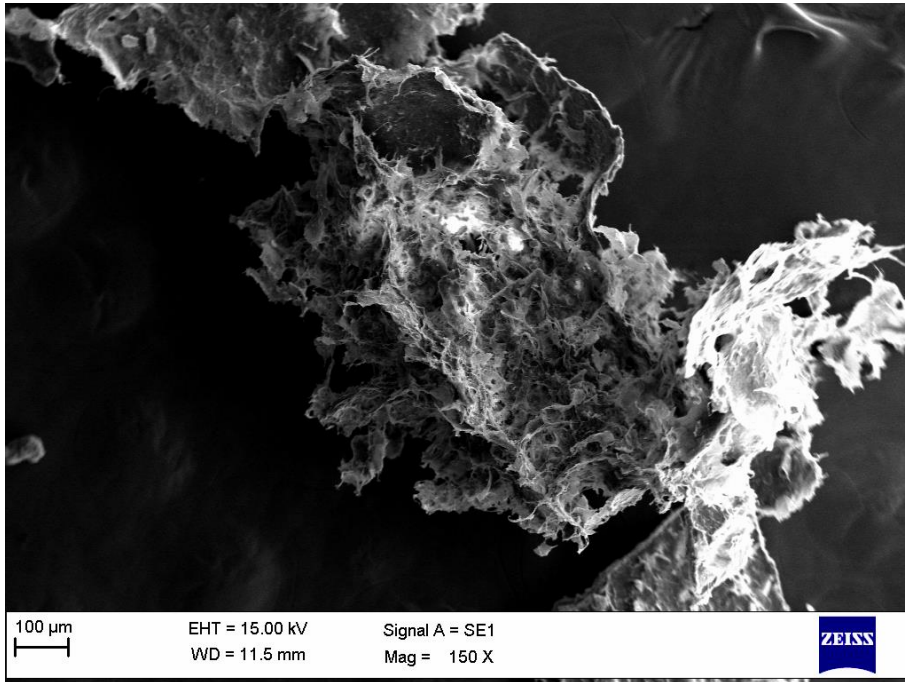
Çizelge 1'den görüldüğü üzere Ayçiçek tablasından elde edilen liflerin  $7.19 \pm 0.066$  g H<sub>2</sub>O/g su, mısır koçanından elde edilen liflerin  $7.67 \pm 0.057$  g H<sub>2</sub>O/g su ve buğday kepeğinden elde edilen liflerin  $6.76 \pm 0.033$  g H<sub>2</sub>O/g su tutma kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlardan anlaşıldığı üzere farklı kaynaklardan elde edilen nanolifler yapı olarak farklı özelliklere sahiptir. Nitekim selüloz içeriği en yüksek olan mısır koçanı lifi en yüksek, selüloz içeriği en düşük olan buğday kepeği en düşük su tutma kapasitesine sahiptir.

Jia vd., (2016) tarafından yapılan bir çalışmada mısır koçanından NaOH kullanılarak elde edilen selüloz miktarı bizim çalışmamızın sonucuna benzer şekilde %79.08 olarak belirlenmiştir. Ancak Bardak vd. (2020) delignifikasyon yapılmamış Ayçiçek tablasının %39.02 selüloz içerdiğini tespit etmişlerdir (lignin içeriği %17,01). Yine literatürde bulunan bir çalışmada delignifikasyon sonrası buğday kepeğinden bizim belirlediğimiz sonuçlardan daha az miktarda

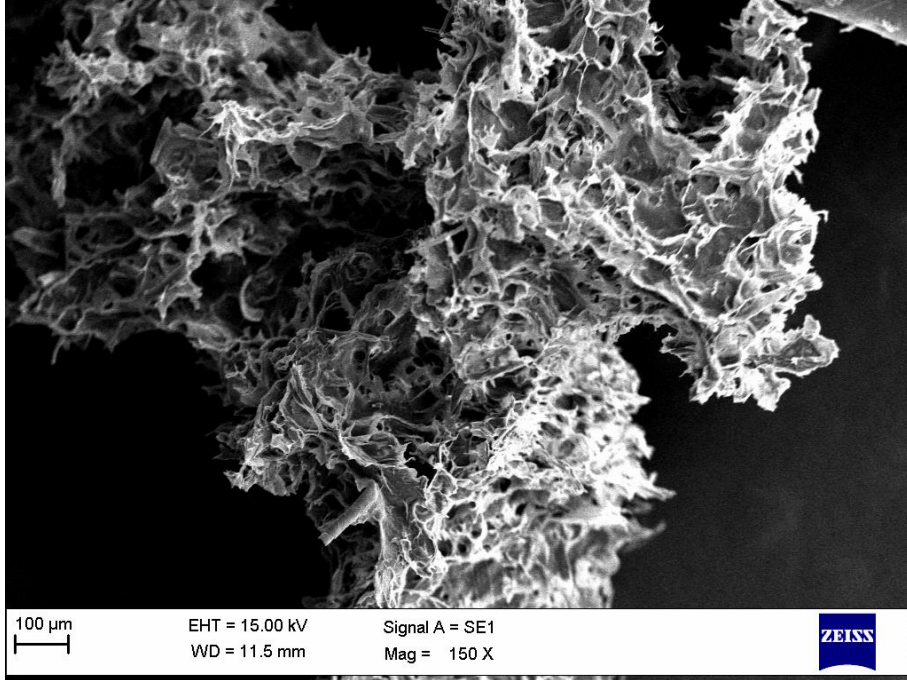
(%35.2±0.82) selüloz içeren ürünlerin elde edildiği bildirilmiştir (Behiç vd. 2011). Benzer şekilde Erinç vd. (2018) yapmış oldukları bir çalışmada buğday kepeğinden elde edilen nanoliflerin selüloz içeriğini %35.6±0.85 olarak belirlemişlerdir. Sunulan bu çalışmada elde edilen buğday kepeği nanoliflerinin Erinç vd. (2018) tarafından elde edilen nanoliflerden (su tutma kapasitesi  $5.95 \pm 0.25$  g H<sub>2</sub>O/g) daha yüksek oranda selüloz içermesi nedeniyle daha yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir.

### Taramalı elektron mikroskobu görüntü analizi

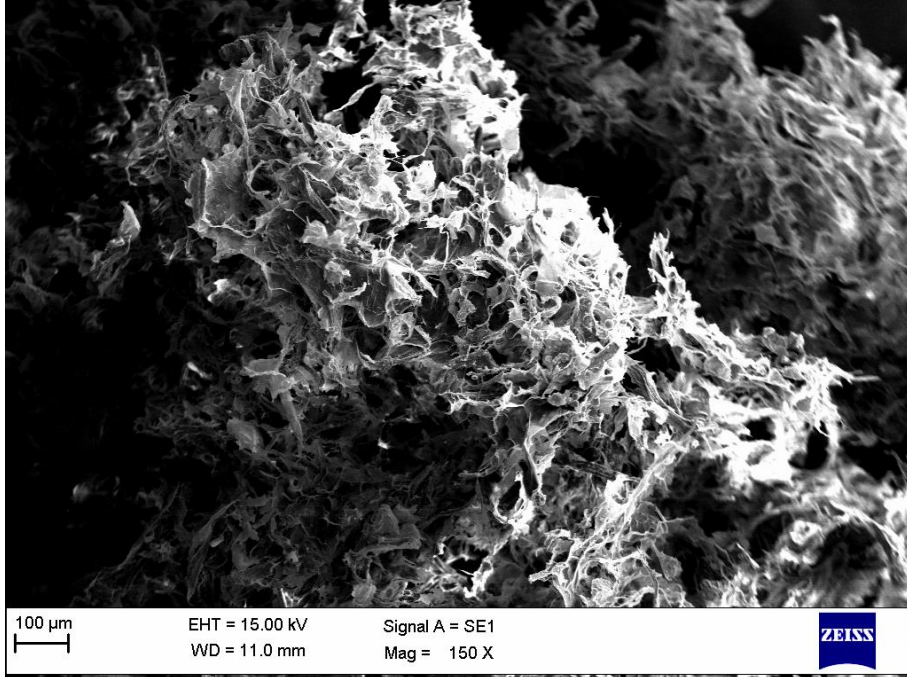
Elde edilen bitkisel liflerin taramalı elektron mikroskobu görüntülerinden de anlaşıldığı üzere her bir lif kaynağından elde edilen nano lifler benzer şekilde ipliksi yapılardan oluşmaktadır (Şekil 1-3). Bu ipliksi yapılar sayesinde nano liflerin yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu düşünülmektedir.



Şekil 1. Ayçiçeği tablasından elde edilen nanoliflerin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü  
*Figure 1. Scanning electron microscope image of nanofibers from sunflower tray*



Şekil 2. Buğday kepeğinden elde edilen nanoliflerin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü  
*Figure 2. Scanning electron microscopy image of nanofibers from wheat bran*

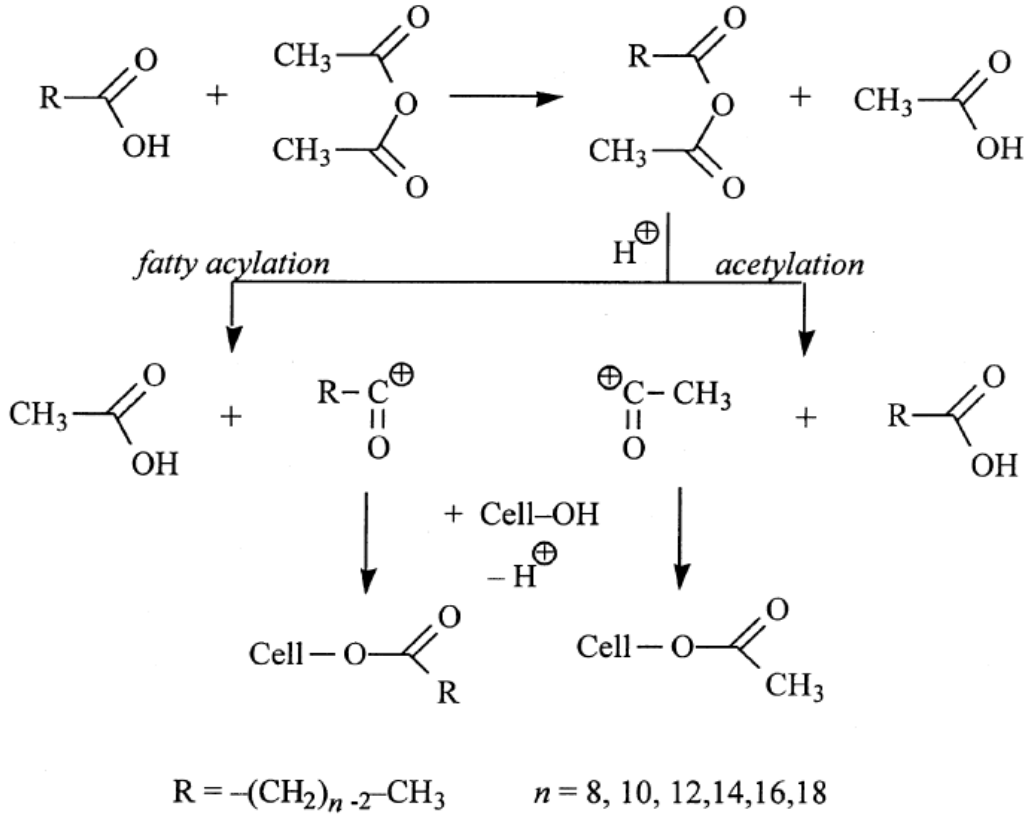


Şekil 3. Mısır koçanından elde edilen nanoliflerin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü  
*Figure 3. Scanning electron microscopy image of nanofibers from corn cob*

### Esterleşme Derecesi

Şekil 4'de görüldüğü üzere asetik anhidrit ve yağ asitleri ile selüloz esterlerinin oluşumu iki farklı yol izlemekte olup reaksiyon sonunda selülozun yağ asitleri esterleri ve selülozun asetik asit esterleri oluşmaktadır. Literatürde bulunan benzer modifikasyon yöntemi ile gerçekleştirilen birçok çalışmada (Vaca-Garcia ve Borredon, 1999; Zhang vd., 2018) asetik asidin yağ asitlerinden daha fazla oranda ester oluşturduğu ve bu oranın yaklaşık 1.5-2 asetik asit esterlerine karşılık 1-1.2 yağ asidi esteri olacak şekilde gerçekleştiği, kullanılan yağ asitleri, selüloz türevi ve reaksiyon şartlarına bağlı olarak bu oranların değiştiği bildirilmiştir. Sunulan bu çalışmada kapsamında

üretilen nanoselüloz-yağ asidi esterlerinin esterleşme dereceleri 0.41-2.99 arasında değişmiş olup üretilen nanoselüloz-yağ asidi esterlerinden uygun yöntemle yağ asidi metil esterleri elde edildikten gaz kromatografisi cihazı ile analiz edilmiş ve literatürden farklı olarak büyük oranlarda asetik asit (0.34-2.47) ve çok düşük oranlarda yağ asidi (0.07-0.55) içerdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma sonuçlarının literatürden farklı olmasının temel sebebinin nanolifler içermesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle aynı reaksiyon şartlarında farklı boyutlarda liflerin kullanımı ile farklı esterleşme derecesine sahip ürünlerin elde edileceği anlaşılmaktadır.



Şekil 4. Yağ asitleri ve asetik anhidrit ile selülozun esterleşme mekanizması (Liu ve Zhang, 2008).

Figure 4. Esterification mechanism of cellulose with fatty acids and acetic anhydride (Liu and Zhang, 2008).

Çizelge 2. Elde edilen ürünlerin esterleşme dereceleri (D-Optimal Cubic Design)  
 Table 2. Esterification degrees of the obtained products (D-Optimal Cubic Design)

Yağ asidi konsantrasyonu (mol) <i>Fatty acid concentration (mole)</i>	Süre (dakika) <i>Time (minutes)</i>	Yağ asidi <i>Fatty acid</i>	Lif kaynağı <i>Fiber source</i>	Esterleşme derecesi <i>Esterification degree</i>		
				Asetik asit <i>Acetic acid</i>	Yağ Asidi <i>Fatty acid</i>	Toplam <i>Total</i>
2	30	C12:0	AT	0.43	0.09	0.52
2	30	C12:0	AT	0.44	0.09	0.52
10	30	C12:0	BK	1.11	0.24	1.35
2	30	C12:0	MK	1.59	0.32	1.90
6	30	C12:0	MK	1.43	0.29	1.72
10	30	C12:0	MK	1.29	0.27	1.56
1	120	C12:0	BK	2.06	0.42	2.48
6	120	C12:0	BK	1.63	0.33	1.95
10	180	C12:0	AT	0.54	0.11	0.65
2	240	C12:0	MK	1.92	0.40	2.32
1	300	C12:0	AT	0.74	0.15	0.89
8	300	C12:0	AT	0.58	0.12	0.70
1	300	C12:0	BK	2.25	0.46	2.71
6	300	C12:0	BK	2.42	0.50	2.92
10	300	C12:0	BK	2.29	0.47	2.76
1	300	C12:0	MK	2.41	0.49	2.90
10	300	C12:0	MK	2.42	0.50	2.91
1	30	C6:0	BK	1.30	0.25	1.55
6	30	C6:0	BK	1.16	0.22	1.38
10	30	C6:0	BK	1.37	0.26	1.63
1	30	C6:0	MK	1.51	0.30	1.82
8	30	C6:0	MK	1.39	0.27	1.66
8	60	C6:0	AT	0.59	0.11	0.71
2	120	C6:0	AT	0.65	0.13	0.77
1	180	C6:0	BK	0.37	0.07	0.44
6	180	C6:0	MK	0.39	0.08	0.47
10	240	C6:0	AT	1.06	0.21	1.27
1	300	C6:0	AT	1.20	0.23	1.43
6	300	C6:0	AT	1.94	0.38	2.31
4	300	C6:0	BK	1.80	0.35	2.14
10	300	C6:0	BK	1.92	0.37	2.29
2	300	C6:0	MK	1.22	0.24	1.45
10	300	C6:0	MK	1.97	0.38	2.35
2	30	C18:1	AT	0.40	0.09	0.49
6	30	C18:1	AT	1.00	0.21	1.21
10	30	C18:1	AT	1.16	0.25	1.40
1	30	C18:1	BK	0.35	0.07	0.42
1	30	C18:1	BK	0.34	0.07	0.41
4	30	C18:1	MK	0.83	0.17	1.00
4	30	C18:1	MK	0.80	0.17	0.97

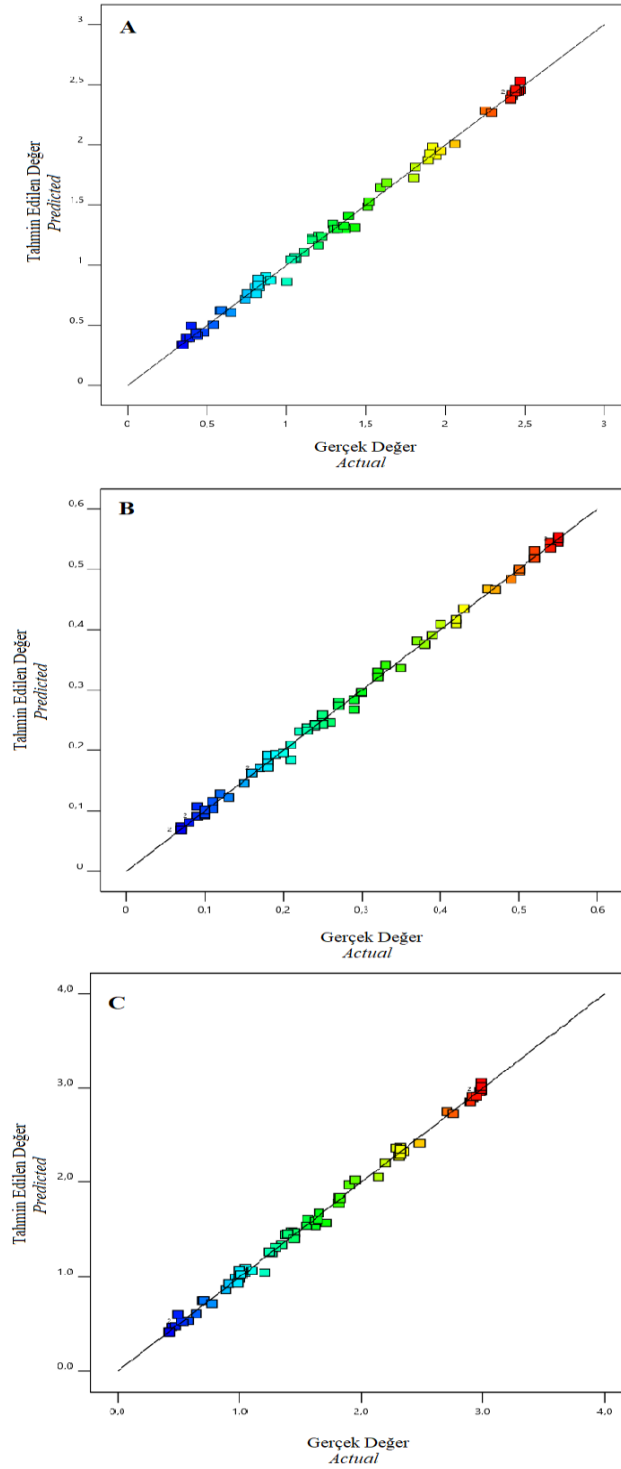
Çizelge 2. devam  
Table 2. continue

Yağ asidi konsantrasyonu (mol) <i>Fatty acid concentration (mole)</i>	Süre (dakika) <i>Time (minutes)</i>	Yağ asidi <i>Fatty acid</i>	Lif kaynağı <i>Fiber source</i>	Esterleşme derecesi <i>Esterification degree</i>		
				Asetik asit <i>Acetic acid</i>	Yağ Asidi <i>Fatty acid</i>	Toplam <i>Total</i>
1	120	C18:1	AT	0.48	0.10	0.58
4	120	C18:1	BK	0.75	0.16	0.91
10	120	C18:1	BK	0.86	0.18	1.04
8	180	C18:1	AT	0.87	0.18	1.05
10	240	C18:1	MK	1.20	0.25	1.45
1	300	C18:1	AT	1.81	0.39	2.20
10	300	C18:1	AT	2.47	0.52	2.99
1	300	C18:1	BK	1.52	0.32	1.83
8	300	C18:1	BK	2.46	0.52	2.98
1	300	C18:1	MK	1.36	0.29	1.65
6	300	C18:1	MK	2.47	0.52	2.99
1	30	C18:0	AT	0.44	0.10	0.54
10	30	C18:0	AT	1.32	0.30	1.62
1	30	C18:0	BK	0.43	0.10	0.52
10	30	C18:0	BK	1.03	0.23	1.25
8	30	C18:0	MK	1.05	0.24	1.30
4	120	C18:0	AT	0.82	0.18	1.00
10	120	C18:0	MK	0.90	0.20	1.10
4	180	C18:0	BK	0.81	0.18	0.99
1	240	C18:0	MK	0.82	0.19	1.01
1	300	C18:0	AT	1.89	0.42	2.32
10	300	C18:0	AT	2.45	0.54	2.99
10	300	C18:0	AT	2.44	0.55	2.99
1	300	C18:0	BK	1.90	0.43	2.32
10	300	C18:0	BK	2.44	0.55	2.99
10	300	C18:0	BK	2.44	0.55	2.99
4	300	C18:0	MK	2.41	0.54	2.95
10	300	C18:0	MK	2.44	0.55	2.99

BK: Buğday kepeği  
AT: Ayçiçek tablası  
MK: Mısır koçanı  
BN: *Wheat bran*  
AN: *Sunflower tray*  
MN: *Corn cob*

Çizelge 2'deki veriler Design Expert programı ile işlenerek elde edilen Şekil 5'de görüldüğü üzere tahmin edilen ve gerçek değerler bir birine oldukça yakın bulunmuş olup denemenin R<sup>2</sup> değerli 0.9966 olarak belirlenmiştir. Yine Şekil 6'da görüldüğü reaksiyon süresinin artması ve kullanılan yağ asidinin miktarının artması

esterleşme reaksiyonunun yüksek oranda gerçekleşmesini sağlamaktadır. Sonuç olarak asetik asit, yağ asitleri ve toplam esterleşme dereceleri açısından maksimum sonuçlar 10 mol yağ asidi konsantrasyonunda ve 300 dk reaksiyon süresinde elde edilmiştir.



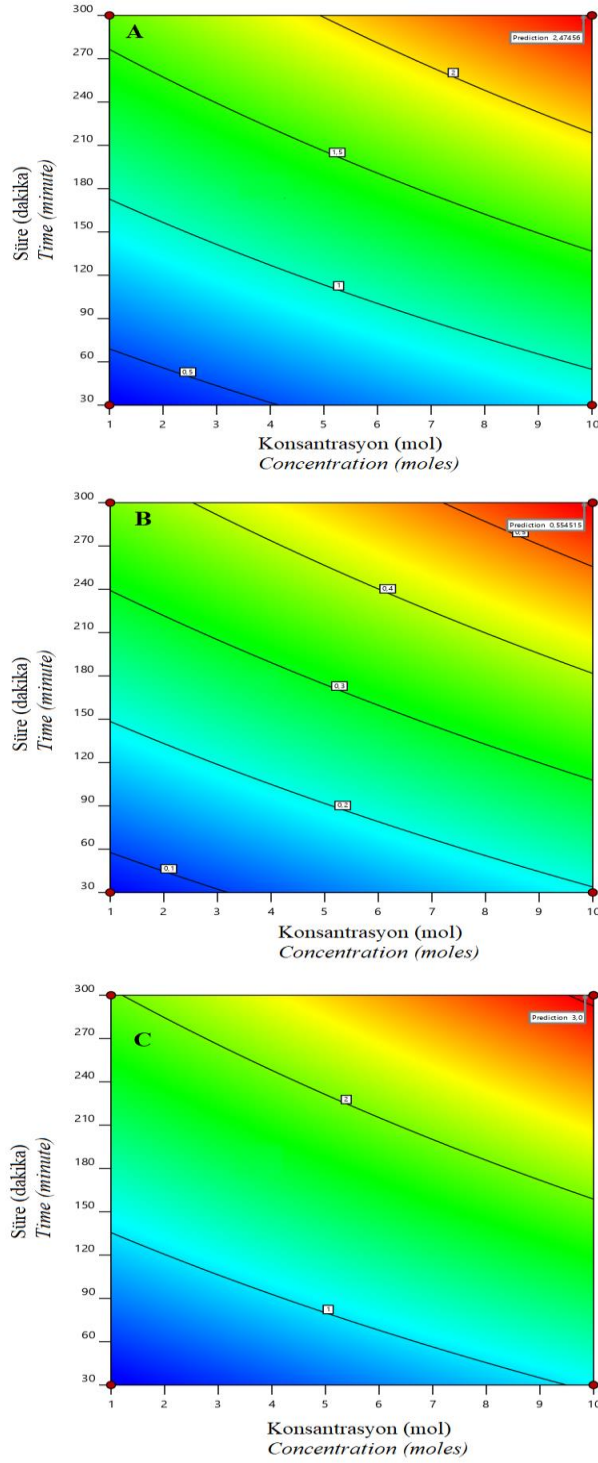
Şekil 5. Tahmin edilen ve gerçek değerler arasındaki korelasyon

Figure 5. Correlation between predicted and actual values

A: Asetik asit ile esterleşme derecesi, esterification degree with acetic acid

B: Yağ asitleri ile esterleşme derecesi, esterification degree with fatty acids

C: Toplam esterleşme derecesi, total esterification degree



Şekil 6. Reaksiyon süresi ve yağ asidi konsantrasyonu ile esterleşme dereceleri arasındaki ilişki

Figure 6. Relationship between reaction time and fatty acid concentration with degrees of esterification

- A: Asetik asit ile esterleşme derecesi, esterification degree with acetic acid  
B: Yağ asitleri ile esterleşme derecesi, esterification degree with fatty acids  
C: Toplam esterleşme derecesi, total esterification degree

**SONUÇ**

Literatür bilgilerinden anlaşıldığı üzere selüloz içeriği yüksek materyal ile yağ asitleri esterleştirilerek elde edilen farklı esterleşme derecesine sahip ürünler farklı özelliklere sahip biyo-bozunur ambalaj maddeleri olarak kullanılabilir. Ancak burada kullanılan lif kaynağı ve yağ asidi çeşidi son ürünün özelliklerini önemli ölçüde değiştirmektedir.

Sunulan bu çalışma sonucunda da farklı bitki kaynaklarından elde edilen selüloz içeriği yüksek nanoliflerin farklı özelliklere (özellikle su tutma kapasitesi) sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın devamında nanoliflerin farklı yağ asitleri ve asetik anhidrit ile DMAc/LiCl ortamında farklı derecelerde esterleştirilmesi sağlanmış olup son ürünlerin farklı oranlarda hidrofilik ve lipofilik gruplara sahip olduğu (esterleşme dereceleri 0.41-2.99) tespit edilmiştir.

Çalışmalar kapsamında reaksiyon süresinin ve kullanılan yağ asidi miktarının artırılması, esterleşme reaksiyonunun yüksek oranda gerçekleşmesini sağlamış olup maksimum esterleşme derecesi olan 3 değerine (ortalama 2.45 asetil grubu ve 0.55 yağ asidi) ulaşılmıştır. Maksimum esterleşme derecesi 10 mol yağ asidi varlığında 90°C'de gerçekleştirilen 300 dakikalık reaksiyon sonrasında gerçekleşmiştir. Çalışma sonuçlarından anlaşıldığı üzere reaksiyon süresinin ve kullanılan yağ asidi miktarının artması esterleşme reaksiyonlarının oluşumunu arttırmış ancak yağ asitlerinin nanoselüloz lifleri ile esterleşme derecesi oldukça düşük bulunmuştur.

**ÇIKAR ÇATIŞMASI**

Yazarların makale ile ilgili başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

**YAZAR KATKILARI**

BM farklı kaynaklardan nanoliflerin üretimini, HE ve ÖE nanoliflerin esterleştirme reaksiyonlarını ve analizlerini gerçekleştirmiştir. AÖ ve tüm yazarlar sonuçların yorumlanmasında katkıda bulunmuştur. Tüm yazarlar tarafından makalenin son hali okunmuş ve onaylanmıştır.

**TEŞEKKÜR**

Yazarlar, projeye destek sağladığı için TÜBİTAK'a (TOVAG 118O315) teşekkür eder.

**KAYNAKLAR**

Andresen, M., Stenstad, P., Møretro, T., Langsrud, S., Syverud, K., Johansson, L. S., Stenius, P. (2007). Nonleaching antimicrobial films prepared from surface-modified microfibrillated cellulose, *Biomacromolecules*, 8: 2149-2155.

Anonim. (1998). Tappi Test Methods, Tappi Press, Atlanta, Georgia.

AOAC. (1998). Official methods of analysis. (16th ed.) Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.

Bardak, S., Nemli, G., Bardak, T., Peker, H., Özcan, M. (2020). Ayçiçek Tablasının Yonga Levha Endüstrisinde Kullanılabilir Olanakları, *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 22 (2): 485-499.

Christie, W.W. (1989). The preparation of derivatives of fatty acids. Ch. 4 in *Gas Chromatography and Lipids: A Practical Guide*, *Oil Press*, 65-68.

Erinc, H., Mert, B., Tekin, A. (2018). Different sized wheat bran fibers as fat mimetic in biscuits: Its effects on dough rheology and biscuit quality. *Journal of Food Science and Technology*, 55: 3960–3970.

Gourson, C., Benhaddou, R., Granet, R., Krausz, P., Verneuil, B., Branland, P., Chauvelon, G., Thibault, J. F., Saulnier, L. (1999). Valorization of maize bran to obtain biodegradable plastic films, *Journal of applied polymer science*, 74(13): 3040-3045.

Heux, L., Chauve, G., Bonini, C. (2000). Nonflocculating and chiral-nematic self-ordering of cellulose microcrystals suspensions in nonpolar solvents. *Langmuir*, 16: 8210–8212.

Jia, F., Liu, H., Zhang, G. (2016). Preparation of carboxymethyl cellulose from corncob, *Procedia Environmental Sciences*, 31: 98–102.

Khanjani, P. (2015). Cellulose-based superhydrophobic surfaces and dynamics of coupled chemical systems, Aalto Üniversitesi



- Uygulamalı Fizik Bölümü Lisans Tezi, Espoo, Finlandiya.
- Kim, J., Montero, G., Habibi, Y., Hinestroza, J. P., Genzer, J., Argyropoulos, D. S., Rojas, O. J. (2009). Dispersion of cellulose crystallites by nonionic surfactants in a hydrophobic polymer matrix, *Polymer Engineering & Science*, 49(10): 2054-2061.
- Kim, Y.J. and Liu, R.H. (1999). Selective increase in conjugated linoleic acid in milk fat by crystallization, *Journal Food Science*, 64: 792-795.
- Kondo, T. (1997). The relationship between intramolecular hydrogen bonds and certain physical properties of regioselectively substituted cellulose derivatives, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 35(4):717-723.
- Krässig, H. A. (1992). Cellulose: Structure, accessibility, and reactivity, Cellulose (Copyright© 1993 Gordon and Breach Science).
- Kürschner, K., Hoffner A. (1969). Ein neues Verfahren zur Bestimmung der Zellulose in Itolzern und Zellsoffen, *Technologie und Chemie der Papier, Zellstoff-Fabrilation*, 26:125-139, Germany.
- Liu, G., and Zhang, G. (2008). Periodic swelling and collapse of polyelectrolyte brushes driven by chemical oscillation, *The Journal of Physical Chemistry B*, 112(33):10137-10141.
- McConnell, A. A., Eastwood, M. A., Mitchell, W. D. (1974). Physical characteristics of vegetable foodstuffs that could influence bowel function, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25:1457-1464.
- Medronho, B., Romano, A., Miguel, M. G., Stigsson, L., Lindman, B. (2012). Rationalizing cellulose (in) solubility: reviewing basic physicochemical aspects and role of hydrophobic interactions, *Cellulose*, 19(3):581-587.
- Mert, B., Tekin, A., Erinç, H., Koçak, G., Bigikoçin, E., Ketenoğlu, O., Şahin, E. (2011). Bitkisel Kökenli Atıklardan Mikro-Akışkan Yöntemiyle Nano boyutlarda Reoloji Düzenleyicilerin Üretilmesi: Emülsiyonlarda, kolloitlerde ve Hamur Ürünlerinde Kullanılması, TUBİTAK Proje No: 108M169.
- Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., Youngblood, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chem. Soc. Rev.*, 40:3941-94.
- Rojas, O. J., Montero, G. A., Habibi, Y. (2009). Electrospun nanocomposites from polystyrene loaded with cellulose nanowhiskers, *Journal of Applied Polymer Science*, 113(2): 927-935.
- Siró, I., Plackett, D. (2010). Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review, *Cellulose*, 17(3), 459-494.
- Vaca-Garcia, C., Borredon, M.E. (1999). Solvent-free fatty acylation of cellulose and lignocellulosic wastes. Part 2: reactions with fatty acids, *Bioresource Technology*, 70:135-142.
- Wang, Z. M., Li, L., Xiao, K. J., Wu, J. Y. (2009). Homogeneous sulfation of bagasse cellulose in an ionic liquid and anticoagulation activity, *Bioresource Technology*, 100(4):1687-1690.
- Wisniak, J. (2004). Anselme Payen. *Educ. Química*, 16:578-579.
- Zhang, Y., Wei, L., Hu, H., Zhao, Z., Huang, Z., Huang, A., Shen, F., Liang, J., Qin, Y. (2018). Tribological properties of nano cellulose fatty acid esters as ecofriendly and effective lubricant additives, *Cellulose*, 25: 3091-3103.



## **ZEYTİN (*Olea europaea* L.) YAPRAĞININ FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ VE GIDALARDA KULLANIM POTANSİYELİ**

**Mehmet Ali Salık, Songül Çakmakçı\***

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

Geliş / *Received*: 12.10.2021; Kabul / *Accepted*: 30.11.2021; Online baskı / *Published online*: 15.12.2021

Salık, M. A., Çakmakçı, S. (2021). Zeytin (*Olea europaea* L.) yaprağının fonksiyonel özellikleri ve gıdalarda kullanım potansiyeli. *GIDA* (2021) 46 (6) 1481-1493 doi: 10.15237/gida.GD21133

*Salık, M. A., Çakmakçı, S. (2021). Functional properties and usage potentials in food of olive (Olea europaea L.) leaf. GIDA (2021) 46 (6) 1481-1493 doi: 10.15237/gida.GD21133*

### **ÖZ**

Tıbbi-aromatik bitkiler, koruyucu ve tedavi edici özelliklerinden dolayı yüzyıllardır kullanılmaktadır. Bunların fitokimyasal profillerinin belirlenmesi, kullanım alanlarının ve endüstriyel potansiyellerinin geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmalara ilgi gittikçe artmaktadır. Bu bitkilerden biri de zeytin yaprağıdır. Zeytin yaprağı; Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde (Türkiye, Yunanistan, İspanya, İtalya, Fransa, İsrail, Fas ve Tunus) halk hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsan beslenmesinde ekstrakt, bitki çayı ve toz olarak kullanılabilen zeytin yaprağı; antioksidan bileşikler, fenolikler, flavonoidler, sekoiridoitler (oleuropein), triterpenler ve karatenoitler gibi biyoaktif bileşenler açısından zengindir. Zeytin yaprağı, bileşimindeki oleuropein ve fenolik bileşiklerden dolayı antioksidan, antimikrobiyel, anti-inflamatuar, antiaterojenik, antikarsinojenik, antiviral, hipoglisemik ve nöroprotektif gibi farmakolojik etkiler göstermektedir. Biyoaktif bileşikler açısından potansiyel olan ve fitokimyasal profilleri belirlenmiş bitkisel kaynaklar ve tarımsal gıda ve yan ürünleri sağlığı korumak için nutrasötiklerin ve fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde ümit verici görünmektedir. Bu derlemede, zeytin yaprağının fitokimyasal profiline dikkat çekerek, sağlık faydaları ve gıda sanayinde kullanım potansiyeli ele alınmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Zeytin yaprağı, terapötik etki, gıda, sağlık

## **FUNCTIONAL PROPERTIES AND USAGE POTENTIALS IN FOOD OF OLIVE (*Olea europaea* L.) LEAF**

### **ABSTRACT**

Medicinal-aromatic plants have been used for centuries due to their protective and therapeutic properties. There is an increasing interest in studies on the determination of their phytochemical profiles, the development of their usage areas, and industrial potential. One of these plants is the olive leaf. Olive leaf is widely used in folk medicine in European and Mediterranean countries (Turkey, Greece, Spain, Italy, France, Israel, Morocco, and Tunisia). Olive leaf, which can be used as an extract, herbal tea, and powder in human nutrition; is rich in bioactive components such as antioxidant compounds, phenolics, flavonoids, secoiridoids (oleuropein), triterpenes, and carotenoids. Olive leaf has pharmacological effects such as antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, antiatherogenic, anticarcinogenic, antiviral, hypoglycemic, and neuroprotective due to

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ cakmakci@atauni.edu.tr

☎ (+90) 442 231 2491

☎ (+90) 442 231 5878

Mehmet Ali Salık; ORCID no: 0000-0003-4727-9830

Songül Çakmakçı; ORCID no: 0000-0003-0334-5621

the oleuropein and phenolic compounds in its composition. Plant sources and agri-food wastes and by-products with potential for bioactive compounds and proven phytochemical profiles are promising in the development of nutraceuticals and functional foods to protect health. In this review, the health benefits and use in the food industry are discussed by drawing attention to the phytochemical profile of olive leaf.

**Keywords:** Olive leaf, therapeutic effect, food, health

## GİRİŞ

Tıbbi ve aromatik bitkilerin ham bitki özlerinin gıda, ilaç ve parfümeri gibi alanlarda Antik çağlardan beri kullanıldığı (Ekren vd., 2013), günümüzde de önemli potansiyel uygulamalara sahip bu bitkilere olan talebin yılda %15-25 arttığı belirtilmektedir (Thakur ve Kumar, 2021). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından, tıbbi bitkilerin tedavi edici ve besleyici özellikleri nedeniyle tüketiciler tarafından yaygın olarak kullanıldığı, dolayısıyla tıbbi bitki ürünlerine yapılan harcamaların gittikçe arttığı belirtilmektedir (Kiani vd., 2016; Thakur ve Kumar, 2021). Tıbbi ve aromatik bitki pazarının yılda yaklaşık 14 milyar ABD Doları olduğu ve 2050 yılına kadar 5 trilyon ABD Dolarından fazla olacağı tahmin edilmektedir. Dünya çapında yaklaşık 3000 tıbbi ve aromatik bitki türünün ticareti yapılmakta, bunların 2000 türü İsviçre, Almanya ve Fransa gibi Avrupa ülkelerine ait olup (Thakur ve Kumar, 2021), Hindistan da 7000 tıbbi ve aromatik bitki türü ile önemli bir konumdadır (Prasathkumar vd., 2021).

Gelişmiş ülkelerin %60'ından fazlası, gelişmekte olan ülkelerin ise %80'i şifalı bitkilere; kültürel olarak daha kolay kabul edilmeleri, insan vücudu ile uyumlu olmaları ve olumsuz etkilerinin düşük olması nedeniyle, birinci basamak sağlık hizmetlerinde güvenmektedir (Prasathkumar vd., 2021; Thakur ve Kumar, 2021). WHO'ya göre, çeşitli tıbbi uygulamalar için 21 bin tıbbi bitki kullanılmaktadır. Hindistan'da, temel hastalıkları tedavi etmek için yaklaşık 2500 bitki türünün kullanıldığı, Dünyanın farklı bölgelerinde tıbbi uygulamalarda kullanılan 100'den fazla bitki türünün Hindistan'a ait olduğu bildirilmektedir (Prasathkumar vd., 2021). Türkiye'de ise 11700'den fazla bitki türü (yaklaşık %30'u endemik) olup (Güler vd., 2021), bunların 500 kadarı tıbbi amaçlı kullanılmaktadır (Polat, 2019).

Tıbbi ve aromatik bitkiler genellikle orman ağaçları, süs bitkileri, baharatlar ve çeşniler içinde yer almaktadır (Gahukar, 2018). Bitkilerin yaprak ve çiçek gibi kısımları fitokimyasalların ana kaynağını oluştururken; meyve, tohum, gövde, kök ve sap gibi kısımları yardımcı kaynak olarak kabul edilir. Bitki metabolitleri primer ve sekonder olmak üzere iki şekilde sınıflandırılmaktadır. Her canlı hücrede bulunan ve büyüme/gelişimde rol alan primer metabolitler içerisinde aminoasitler, proteinler, şekerler, nükleik asitler ve polisakkaritler yer almaktadır. Sekonder metabolitler ise primer metabolitlerden türetilmekte olup, çeşitli biyolojik etkilere sahip büyüme ve gelişimde etkili olmayan moleküllerden oluşmaktadır. Sekonder bitki metabolitleri terpenoitler, alkaloidler ve fenolikler olmak üzere üç tipte sınıflandırılır. Terpenoitler 40000'den fazla bileşik içeren en büyük bitki metabolitleri sınıfı olup fenolikler yaklaşık 8000 bileşik içermektedir (Prasathkumar vd., 2021). Biyoaktif bileşikler bakımından zengin bitkiler, çeşitli farmakolojik özelliklerinden dolayı bazı sağlık sorunlarına (tüberküloz, kanser, şeker hastalığı, kalp hastalıkları, yara iyileşmesi, astım, farenjit ve hipertansiyon gibi) çare olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Lubbe ve Verpoorte, 2011; Prasathkumar vd., 2021). Günümüzde önemli bir küresel sorun olan Korona virüs salgınıyla mücadelede de insanların geleneksel tıba ve bitkisel tedaviye yönelimlerinin arttığı görülmektedir (Kadioğlu ve Kadioğlu, 2021).

Tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen ekstraktlar, uçucu yağlar, renk maddeleri vb. ürünler çeşitli endüstriyel ürünlerin (bitkisel sağlık ürünleri, ilaç, kozmetik, kişisel bakım ürünleri, bitki koruma ürünleri, gıda takviye ürünleri vb.) üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır (Lubbe ve Verpoorte, 2011). Bu nedenle, nutrasötikler ve fonksiyonel gıda ürünlerine ilgi gün geçtikçe artmakta ve bu ilgi yapılan araştırma konularına da yansımaktadır. Fonksiyonel gıdalar,

araştırmacılar ve gıda endüstrisi için önemli bir odak noktası haline gelmiştir. Tüketiciler, genellikle doğal kaynaklardan elde edilen bileşenlerin kullanıldığı fonksiyonel gıdaları tercih etme eğilimindedir (Gahukar, 2018). Bu durum, biyoaktif bileşikler açısından potansiyel olan ve fitokimyasal profilleri kanıtlanmış bitkisel kaynaklar (tıbbi ve aromatik bitkiler, baharatlar, otlar vb.) ve tarımsal gıda yan ürünleri (yaprak, tohum, sap, kabuk, posa vb.) sağlığı korumak için nutrasötiklerin ve fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde ümit verici görünmektedir. Bu derlemede, tarımsal atık durumunda olan zeytin yaprağının fitokimyasal profiline dikkat çekilerek, sağlık faydaları ve gıda sanayiinde kullanım/kullanılabilir potansiyelleri hakkında genel bilgiler verilmiştir.

### **ZEYTİN YAPRAĞININ ÖZELLİKLERİ**

#### **Biyoaktif Özellikler**

Zeytin ağacı (*Olea europaea* L.), 25 cins ve 600 türden oluşan Oleaceae familyasına ait yaprak dökmeyen bir bitki olup (Arslan vd., 2021), birçok Akdeniz ülkesinde (İspanya, İtalya, Yunanistan, Türkiye, Tunus, Portekiz, Suriye, Fas ve Cezayir) yaygın olarak yetişmektedir (El ve Karakaya, 2009; Blasi vd., 2016; Arslan vd., 2021). Dünyada 2019 yılında yaklaşık 10 milyon hektar alanda (hA) 20 milyon ton zeytin üretimi yapılmıştır (FAO, 2019). Türkiye yaklaşık 880 bin hA üzerinde 1.5 milyon ton zeytin üretimi ile dünya üretiminin yaklaşık %14'ünü karşılamaktadır (FAO, 2019; TÜİK, 2019). Zeytinin farklı kısımları (meyve, yağ ve yaprak) beslenme ve tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır (El ve Karakaya, 2009; Blasi vd., 2016). Zeytin yaprakları, zeytin meyvelerinin hasadı ve zeytin ağacının budanması (toplam ağırlığının yaklaşık %25'ini oluşturmakta) sırasında veya zeytin meyvesinin yağa işlenmesi öncesindeki temizleme ve ayıklama işlemleri sırasında açığa çıkan (toplam zeytin ağırlığının yaklaşık %10'unu oluşturmakta) tarımsal ve endüstriyel bir yan üründür (Rahmanian vd., 2015; Markhali vd., 2020; Arslan vd., 2021). Bir hektar alandaki zeytin ağaçlarının budanması sonucunda; yaklaşık olarak 1500 ton yaprak ve küçük dallardan oluşan budama atıklarından %25'ini yapraklar oluşturmakta ve 375 kg zeytin yaprağı otaya çıkmaktadır (Espeso vd., 2021). Bu ortalama

veriler dikkate alındığında, Türkiye'de bir yılda yaklaşık 880 bin hA'da yaklaşık 1.3 milyon ton budama atığı elde edilmekte ve bunların yaklaşık 330 bin tonunu zeytin yaprağının oluşturduğu tahmin edilmektedir. Zeytinin, zeytinyağına işlenmesi sırasında meydana gelen %10'luk yaprak atığı da hesaplama dâhil edildiğinde 330 bin tonun üzerinde bir atık potansiyelinin olacağı ortadadır. Bu tahmini verilerden de anlaşılacağı üzere zeytin yaprakları, yüksek katma değerli ürünlerin üretiminde kullanılabilir nitelikte, potansiyel ve ucuz hammadde kaynağını oluşturmaktadır. Konunun önemi nedeniyle gerekli girişimlerin yapılması; hem çevre kirliliğinin önlenmesi, hem de zeytin yaprağının kullanım alanlarının artırılması ve endüstriyel potansiyellerinin geliştirilmesi bakımından Ülkemiz ve Dünya ekonomisine büyük katkı sağlayacaktır.

Zeytinyağı işleme sırasında açığa çıkan atıklar ve yan ürünler (kara su, posa, çekirdek, yaprak vb.) biyoaktif bileşenler bakımından önemli potansiyel kaynakları oluşturmaktadır. Zeytin yaprakları kimyasal bileşimi ve biyoaktif özellikleri bakımından katma değeri yüksek ürünlerin geliştirilmesinde kullanılabilir ucuz bir hammadde (Nunes vd., 2016). Zeytin yaprağının kimyasal bileşimi ve biyoaktif özellikleri; zeytin çeşidi, iklim koşulları, ağaç yaşı, tarımsal uygulamalar, genetik, sıcaklık ve ekstraksiyon prosedürleri gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir (El ve Karakaya, 2009; Rahmanian vd., 2015; Blasi vd., 2016). Zeytin yapraklarının biyoaktif bileşikleri arasında sekoiridoitler (oleuropein, ligstroside, dimethyloleuropein ve oleoside), flavonoidler (apigenin, kaempferol, luteolin), fenolik bileşikler (kafeik asit, tirozol, hidroksitirozol) (Rahmanian vd., 2015; Markhali vd., 2020), karotenoidler, tokoferoller ve klorofil bulunmaktadır (Souilem vd., 2017; Tarchoune vd., 2019; Markhali vd., 2020). Oleuropein; zeytin meyveleri, yaprakları ve tohumlarında en bol bulunan, kolayca ekstrakte edilebilen ve zeytin ürünlerinde karakteristik acılığı veren fenolik bir bileşiktir (Blasi vd., 2016; Nicoli vd., 2019). Zeytin yaprağı kimyasal bileşimiyle de dikkat çekmekte; ortalama olarak %46.24-49.75 su, %37.14-42.58 karbonhidrat,

%5.04-7.61 protein, %1.05-1.30 yağ ve %2.86-4.45 kül içermektedir (Boudhrioua vd., 2009). Karbonhidratlardan; glukoz, fruktoz, miyoinositol, galaktoz, galaktinol, sükröz, rafinoz, stakioz ve nişasta fraksiyonları, minerallerden ise potasyum, manganez, magnezyum ve bakır fazla miktarda bulunmaktadır (Souilem vd., 2017).

Zeytin yaprağının antioksidan aktivitesinin, fenolik profilinin ve biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi üzerine yapılmış çok sayıda araştırma mevcuttur. Bazıları aşağıda özetlenmiştir: Sevim ve Tuncay (2012), Ayvalık ve memecik zeytin yapraklarında; toplam fenolik madde miktarını (TPC) 230.64-237.73 mg kafeik asit eşdeğeri (KAE)/100 g, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) antioksidan aktiviteyi 1214.51-2027.64 µmol troloks eşdeğeri (TE)/100 g, ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) antioksidan aktiviteyi 825.38-1056.16 µmol TE/100 g olarak tespit etmişlerdir. Blasi vd. (2016), farklı İtalyan zeytin yapraklarında; TPC miktarını 40.9-66.6 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g, DPPH antioksidan aktiviteyi %40.9-86.1, ABTS antioksidan aktiviteyi 44.8-99.8 mg TE/g, oleuropein miktarını 4.30-91.8 mg/g olarak bulmuşlardır. Başka bir çalışmada ise zeytin yapraklarında; TPC 219.85-464.27 mg GAE/100g kuru ağırlık, toplam flavonoit madde miktarı (TFC) 98.4-377.06 mg kateşin eşdeğeri (CE)/100g ekstrakt, DPPH antioksidan aktivite %58.75-98.2, ABTS antioksidan aktivite %97.73-98.65 olarak saptanmıştır. Ayrıca bu örneklerde 18 adet fenolik asit tanımlanmış olup, en fazla saptanan üç fenolik asit şunlardır: oleuropein (11.38-25.08 mg/100 g kuru ağırlık), kumarik asit (0.05-32.24 mg/100 g kuru ağırlık) ve vanilik asit (1.28-11.0 mg/100 g kuru ağırlık) (Brahmi vd., 2013). Nicoli vd. (2019), 15 farklı İtalyan çeşidi zeytin yapraklarında oleuropein miktarı ile TPC, DPPH, ORAC ve süperoksit anyon süpürme antioksidan sonuçlarını sırasıyla; 7-30 g/kg kuru ağırlık, 11-49 g GAE/kg, 8.67-29.89 µmol TE/g kuru ağırlık, 0.81-4.25 µmol TE/g kuru ağırlık, 27.66-48.92 µmol TE/g kuru ağırlık olarak belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada, zeytin yaprağında kafeik asit (220.5 mg/kg), verbascoside (966.1 mg/kg), oleuropein (26471.4 mg/kg), luteoli 7-O-glikozit (4208.9 mg/kg), rutin

(495.9 mg/kg), apigenin 7-O-glikozit (2333.1 mg/kg) ve luteolin 4'-O-glikozit (1355.9 mg/kg) olmak üzere 7 farklı fenolik bileşik tanımlanarak miktarları saptanmıştır (Pereira vd., 2007). Salah vd. (2012), zeytin yaprağında oleuropein miktarı ile TPC, TFC ve DPPH antioksidan aktivite değerlerini sırasıyla; 30.76-57.24 mg/g, 73.05-144.19, mg GAE/g, 56.75-125.64 mg CE/g ve 7.90-18.64 IC<sub>50</sub> (µg/mL) olarak tespit etmişlerdir. Tarchoune vd. (2019) tarafından zeytin yaprağında; TPC 62.84-67.91 mg GAE/g, TFC 5.85-13.61 mg CE/g, ABTS antioksidan aktivite 69.05-113.84 µmol TE/g, α-tokoferol miktarı 10.12-82.37 µg/g, klorofil miktarı 506.08-829.29 µg/g ve karotenoid miktarı 26.90-44.33 µg/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada 13 adet de fenolik bileşik (oleuropein, protokateşik asit, vanilik asit, ferulik asit, hidrokstitirosol ve tirozol ana bileşikler olmak üzere) tanımlanmıştır.

### Terapötik Özellikler ve Klinik Çalışmalar

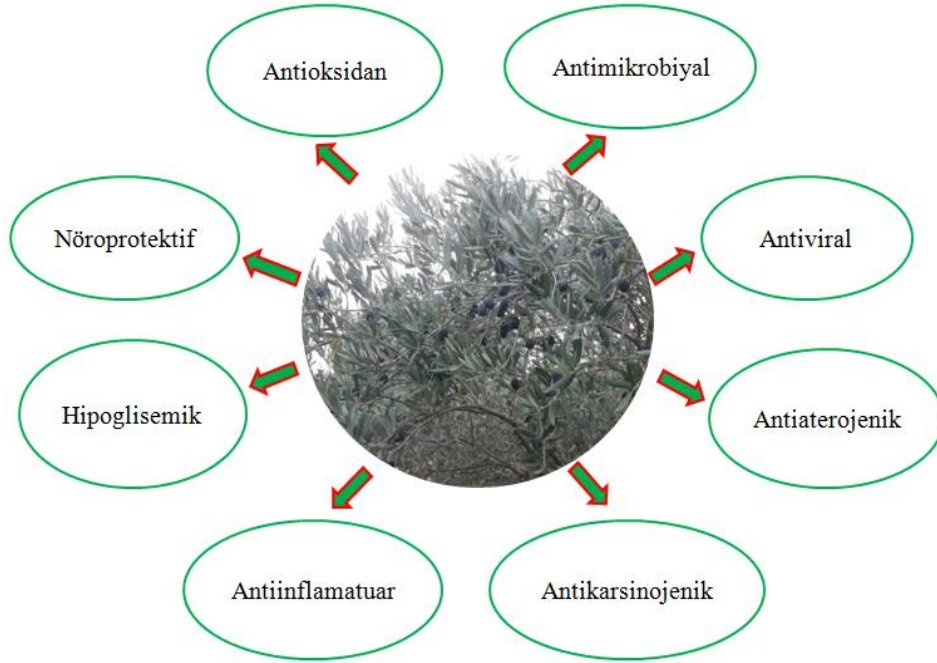
Epidemiyolojik çalışmalar, düzenli olarak meyve, sebze ve kabuklu yemiş tüketimi ile sağlıklı bir yaşam arasında belirgin bir pozitif ilişkinin olduğunu göstermektedir (Carvalho vd., 2010). Bu nedenle hem geleneksel hem de modern tıpta önemli bir yere sahip olan şifalı bitkiler, sahip oldukları fitokimyasal bileşikler sayesinde pek çok hastalığın tedavisinde fayda sağlamaktadır/kullanılmaktadır (Prasathkumar vd., 2021).

Tarımsal yan ürünlerden olan zeytin yaprağı; tıbbi ve aromatik bitki olma özelliğiyle dikkat çeken, halk hekimliğinde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanım potansiyeline sahip olan ve yapılan araştırmalar ile fitokimyasal profili belirlenmiş önemli bir kaynaktır. Zeytin yaprağına ait terapötik özellikler (Şekil 1) ile epidemiyolojik çalışmalar sonucunda elde edilen bazı klinik bulgular aşağıda özet olarak sunulmuştur.

Zeytin yaprağının (kuru ve infüzyon olarak ağızdan alındığında) halk hekimliğinde; mide ve bağırsak hastalıkları, ağız temizleyici, ishal, idrar yolu enfeksiyonları, hipertansiyon ve bronşiyal astım gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Uyulaşer ve Yıldız, 2014; Özcan ve Matthäus, 2017). Zeytin yaprağının tedavi edici özellikleri bileşiminde bulunan fitokimyasallardan

kaynaklanmaktadır (Özcan ve Matthäus, 2017). Zeytin yaprağında yapılan araştırmalar sonucunda belirlenen terapötik özellikler Şekil 1'de gösterilmiştir. Buna göre, zeytin yaprağının antioksidan, antimikrobiyel, anti-inflamatuar, antiaterojenik, antikarsinojenik, antiviral,

hipoglisemik ve nöroprotektif gibi pek çok terapötik etkiye sahip olduğu görülmektedir (Khan vd., 2007; El ve Karakaya, 2009; Rahmanian vd., 2015; Özcan ve Matthäus, 2017; Nicoli vd., 2019; Romani vd., 2019).



Şekil 1. Zeytin yaprağının terapötik özellikleri (Khan vd., 2007; El ve Karakaya, 2009; Rahmanian vd., 2015; Özcan ve Matthäus, 2017; Nicoli vd., 2019; Romani vd., 2019; Markhali vd., 2020) (Anti-Inflamatuar: İltihap ve ödem giderici, Antiaterojenik: Deride oluşan şişlikleri ve kızarıklıkları giderici, Hipoglisemik: Kan şekeri düşürücü, Nöroprotektif: Nöron/sinir hücresi koruyucu)

Perrinjaquet-Moccetti vd. (2008), zeytin yaprağı ekstraktının (ZYE) insanlarda takviye edici gıda olarak kullanımı üzerine yapmış oldukları araştırmada; ikizlerden oluşan bir grup insana 8 hafta boyunca günde iki kez olmak üzere 500 mg veya 1000 mg ZYE takviyesi uygulamışlardır. Araştırma sonucunda; 1000 mg ZYE takviyesinin kan basıncını düşürdüğü, her iki konsantrasyon ZYE takviyesinin lipit profili üzerinde yararlı etkiler göstererek, plazma LDL, toplam-kolesterol ve trigliserit düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir. Böylece yapılan araştırma, insanlarda ZYE'nin antihipertansif ve kolesterol düşürücü etkilerini doğrulamıştır.

Jemai vd. (2009), zeytin yaprağından elde edilen oleuropein ve hidrokstirozol ekstraktının Wistar

fareleri üzerinde antidiyabetik ve antioksidan etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla, 4 hafta boyunca diyabetik farelere 8 ve 16 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde oleuropein ve hidrokstirozol ekstraktı verilmiştir. Araştırma sonucunda her iki dozun da hipoglisemik ve hipolipidemik etkiler sergilediği, lipit peroksidasyon sürecini azalttığı ve antioksidan savunma sistemini geliştirdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, diyabet gibi oksidatif strese bağlı metabolik hastalıkların sıklığının azaltılmasında potansiyel antioksidan kaynağı olarak zeytin ağacı yan ürünlerinin önemini bir kez daha ortaya koymuştur.

Susalit vd. (2011), Evre-1 hipertansiyonu olan hastalarda tedavi amaçlı kullanılan kaptopril

(anjyotensin dönüştürücü bir enzim inhibitörü) yerine, ZYE kullanım olanaklarını araştırmışlardır. Bu amaçla, hastalara 8 hafta boyunca günde iki kez 500 mg ZYE ile 12.5 mg (ilk iki hafta) ve 25 mg (son altı hafta) kaptopril ağızdan verilmiştir. Araştırma sonucunda günde iki kez 500 mg (toplamda 1000 mg) ZYE verildiğinde; Evre-1 hipertansiyonlu hastalarda sistolik (büyük tansiyon) ve diyastolik (küçük tansiyon) kan basınçları ile kan trigliserit düzeyini etkili bir şekilde düşürdüğü tespit edilmiştir. Sonuç olarak, ZYE'nin kan basıncını düşürme etkisi kaptopril ile benzer bulunmuş olup, günde 1000 mg ZYE'nin karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını etkilemeden ağızdan alınmasının güvenli ve tolere edilebilir olduğu görülmüştür.

Wainstein vd. (2012), diyabetik insanlarda ve farelerde hipoglisemik bir ajan olarak ZYE'nin etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla, Tip-2 diyabetli hastalara 14 hafta boyunca günde bir kez ağızdan 500 mg ZYE verilmiştir. Araştırma sonucunda, ZYE ile tedavinin diyabetli hastalarda glukoz homeostazını normalleştirdiği belirlenmiştir. Hayvan deneylerinde ise ZYE'nin nişasta sindirimini ve emilimini azalttığı belirlenmiş ancak bu durum istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Benzer şekilde yapılan başka bir araştırmada ise orta yaşlı fazla kilolu erkeklerde insülin duyarlılığı üzerine zeytin yaprağı polifenollerinin etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, deneklere 12 hafta boyunca günde bir kez 51.1 mg oleuropein ve 9.7 mg hidroksitirozol oral olarak verilmiştir. Araştırma sonucunda, zeytin yaprağı polifenollerini ile yapılan takviyenin, metabolik sendrom geliştirme riski taşıyan aşırı kilolu orta yaşlı erkeklerde insülin duyarlılığını ve pankreas  $\beta$ -hücresi salgılama kapasitesini önemli ölçüde iyileştirdiği saptanmıştır (de Bock vd., 2013).

Papachristodoulou vd. (2016), oleuropein'nin PC-3 prostat kanseri hücreleri ile Doksorubisin (DXR)'in (kanser tedavisinde kullanılan güçlü bir antrasiklin antibiyotik) toksik etkisi üzerine etkisini araştırmışlar ve sonuçta oleuropein'nin, prostat kanseri hücrelerinin çoğalmasını önlediğini ve DXR'nin sitotoksik (hücreyi öldüren ya da fonksiyonunu durduran) dozunu önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir.

Gür vd. (2020), ZYE'nin diyabetik fareler üzerine olan antidiyabetik ve antioksidatif etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla, farelere 14 gün boyunca 0.25 ve 0.50 mg/kg ZYE ağızdan verilmiştir. Araştırma sonucunda; uygulama sonrasında her iki dozun da alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) ve alkalen fosfataz (ALP) düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir. Yapılan *in-vivo* analizler, ZYE'nin oksidatif stresin kısıtlanması ve antioksidan aktivitelerin güçlendirilmesi sayesinde anti-diyabetik etkiye sahip olabileceğini göstermiştir.

Ruzzolini vd. (2018), oleuropein'in insan BRAF Melanom (bir çeşit cilt kanseri) hücreleri üzerindeki antikanser etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, oleuropein'in A375 insan melanom hücreleri üzerinde kemoterapötiklerin sitotoksik etkisini artırdığı tespit edilmiştir.

Sudjana vd. (2009), ZYE'nin *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyel etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Başka bir araştırmada ise ZYE'nin *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus* (Gram +), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* (Gram -) bakterileri ile *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans* mantar türlerine karşı antimikrobiyel etki gösterdiği saptanmıştır (Pereira vd., 2007). Kolcuoğlu ve Halkman (2021) da ZYE'nin *E. coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis*, *E. coli* biyotip-1, *Listeria monocytogenes* ve *S. aureus* (en yüksek inhibisyon bu türde belirlenmiş) patojenlerine karşı antimikrobiyel etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

### Toksosite

Çeşitli araştırmalarda, tıbbi bitkiler ve bitki kaynaklı ürünlerin modern sentetik ilaçlara göre insan vücudu için daha güvenli ve daha az zararlı olduğu öne sürülmektedir. Bu nedenle, şifalı bitkilerin tarih boyunca tüm dünyada, çeşitli hastalıkların geleneksel tedavisinde uzun süredir kullanıldığı bilinmekte olsa da, bitkilerin ve bitkisel kaynaklı sentetik ilaçların olumsuz etkileri göz ardı edilmemelidir (Ravanbakhsh vd., 2016). Yapılan literatür araştırması sonucunda; zeytin yaprağının veya bu yapraklardaki karakteristik bileşiklerin (oleuropein ve hidroksitirozol gibi)

doğrudan insan ve hayvan deneklerinde toksikolojik olarak değerlendirilmesi üzerine yapılmış çalışmaların çok sınırlı olduğu görülmüştür. Ancak, bu bitkilerin bazı terapötik özelliklerinin araştırıldığı çalışmalarda, zeytin yaprağının; tedavi edici özelliklerinin olduğu, karaciğer ve böbrekte her hangi bir toksik etki oluşturmadığı ve hatta bu organların fonksiyonlarını iyileştirdiği bildirilmektedir (Susalit vd., 2011).

Yapılan bir çalışmada, oleuropein'in farelerde letal dozunun (LD<sub>50</sub>), ağızdan uygulama sonrasında (3000 mg/kg), vücuda enjeksiyondan sonrasına (1000 mg/kg) göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Markhali vd., 2020). Farelerde subkronik toksite üzerine %35 oranında hidrokortisone içeren zeytin ekstraktının (H35) etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise 90 gün boyunca farelere 125, 250 ve 500 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde H35 uygulanmıştır. Araştırma sonucunda gözlenen en düşük yan etki düzeyi (LOAEL) ve gözlenmeyen yan etki düzeyi (NOEL) sırasıyla 500 mg/kg ve 250 mg/kg vücut ağırlığı olarak saptanmıştır (Heilman vd., 2015).

### Gıdalarda Kullanım Potansiyeli

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda; gıda kaynaklarını artırmak, fonksiyonel yeni gıda ürünleri geliştirmek, sentetik gıda katkı maddelerine alternatif doğal kaynaklar bulmak ve atık sorunlarını çözmek gibi amaçlarla biyoaktif bileşikler açısından potansiyel olan tarımsal gıda ve yan ürünleri ile gıda işleme yan ürünleri ve atıklarının yaygın bir şekilde araştırma konusu olduğu görülmüştür (Nunes vd., 2016; Romani vd., 2019; Markhali vd., 2020). Bu bağlamda, fitokimyasal profili belirlenmiş ve tarımsal atık durumunda olan zeytin yaprağı önemli bir potansiyel olup kozmetik (parfüm, kolonya, krem, sabun, şampuan vb.) ve ilaç endüstrilerinde yaygın bir kullanım alanına sahip görünmektedir.

Geleneksel olarak; zeytin yapraklarının (taze, kuru veya infüzyon çay şeklinde) daha çok çeşitli hastalıkların tedavisinde tıbbi amaçlarla kullanıldığı bilinmektedir (Özcan ve Matthäus, 2017). Gelişen gıda endüstrisi ve teknoloji ile birlikte bilimsel araştırmalar sonucunda, zeytin ağacı yan ürünlerinin farklı formlarda/şekillerde gıda endüstrisinin çeşitli alanlarında gıda formülasyonlarına dâhil edilerek insan beslenmesinde de kullanım potansiyeli olduğu görülmektedir.

Zeytin ağacı yan ürünlerinin ana biyoaktif bileşikleri ile gıda endüstrisinde potansiyel teknolojik fonksiyonları Çizelge 1'de özet olarak verilmiştir. Buna göre, sadece zeytin yaprağının değil diğer zeytin yan ürünlerinin de biyoaktif bileşiklerce zengin olduğu ve gıda endüstrisinde kullanım potansiyellerinin olduğu görülmektedir. Teknolojik olarak, zeytin yaprağının daha çok antioksidan ve antimikrobiyel özelliklerinden faydalanılmaktadır (Nunes vd., 2016). Zeytin yaprağının gıda endüstrisinde kullanım alanları ve uygulamalarına ait bazı araştırma sonuçları özet olarak Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelgeden, zeytin yaprağının gıda endüstrisinde oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda, zeytin yaprağının genel olarak gıdalarda; antioksidan ve biyoaktif bileşiklerce zenginleştirme yapmak, oksidasyon stabilitesini artırarak raf ömrünü uzatmak ve fonksiyonel yeni ürünler üretmek gibi amaçlarla kullanıldığı görülmektedir. Araştırma sonuçlarından; zeytin yaprağının, belirlenen amaçlara ve teknolojik özelliklere ulaşılması bakımından, kayda değer bir potansiyel taşıdığı ve gıda formülasyonlarında rahatlıkla kullanılabilirdiği/kullanılabileceği sonucu çıkarılabilir. Ayrıca zeytin yaprağının; bitkisel çay, gıda takviyesi, kurutulmuş yaprak (bütün ve öğütülmüş), ekstrakt ve tablet şeklinde ticari ürünleri tüm dünyada mevcuttur (Özcan ve Matthäus, 2017; Romani vd., 2019; Arslan vd., 2021).



Çizelge 1. Zeytin ağacı yan ürünlerinin ana biyoaktif bileşikleri ile gıda endüstrisinde potansiyel teknolojik fonksiyonları

Zeytin yan ürünleri	Biyoaktif bileşimler	Teknolojik ve fonksiyonel etkiler
Zeytin posası	Fenolik bileşimler, Pektik polisakkaritler, Lignoselülozik lifler	Fenolik bileşimlerin kapsüllemesi, Antioksidan özellikler, Jelleştirici ve stabilize edici maddeler, Yağ ikamesi, Gıda ambalajı için biyokompozitler, Şeker kaynağı, Gıda zenginleştirme
Zeytin yaprağı	Fenolik bileşimler	Gıda ambalajı için biyolojik olarak parçalanabilen filmler, Antimikrobiyel özellikler, Antioksidan özellikler
Zeytin değirmeni atık suları	Fenolik bileşimler, Pektik polisakkaritler	Emülsifiye edici özellikler, Yağ tutma özelliği, Stabilize edici maddeler, Gıda zenginleştirme
Zeytin çekirdeği	Fenolik bileşimler, Hemiselüloz, Selüloz, Lignin, Biyoaktif peptitler	Jelleştirici maddeler, Emülsifiye edici özellikler, Kıvam artırıcı, Disperse edici ajanlar, Antioksidan özellikler, Şeker-alkol üretimi (ksilitol), Şeker kaynağı, Gıda zenginleştirme

Nunes vd. (2016)

Çizelge 2. Zeytin yaprağının gıda endüstrisinde bazı kullanım alanları ve uygulamaları

Gıda grubu	Gıda ürünü	Uygulama ve konsantrasyon	Genel etkiler	R
Süt ve ürünleri	Pastörize süt	%1, 2 ve 5 yaprak ekstraktı	Fonksiyonel ve raf ömrü uzatılmış ürün elde edilmesi	1
	Probiyotik süt ve yoğurt	%0.2, 0.4 ve 0.6 yaprak ekstraktı	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ve <i>Bifidobacterium bifidum</i> 'un büyümesi ve canlılığını artırma	2
	Meyveli yoğurt	%0.1, 0.2 ve 0.4 yaprak ekstraktı	Antioksidan ve mineraller açısından zenginleştirilmiş fonksiyonel ürün elde edilmesi	3
	Yoğurt	%1, 2 ve 4 yaprak ekstraktı	Antioksidan kapasitesi artırılmış ve duyuşal özellikleri geliştirilmiş ürün elde edilmesi	4
	Kefir	%0.10, 0.15 ve 0.35 yaprak ekstraktı	Antioksidan kapasitesi artırılmış fonksiyonel ürün elde edilmesi	5
Et ve ürünleri	Köfte	%0.5, 1, 1.5 ve 2 öğütülmüş kuru yaprak	Depolama stabilitesi artırılmış ürün eldesi	6
	Kuzu eti	Biyo-film bileşiminde, %2.5 öğütülmüş kuru yaprak	Aktif ambalaj olarak kullanıma uygunluk ve raf ömrü artırılmış ürün eldesi	7
	Sığır kuşbaşı eti	%1, 2 ve 3 yaprak ekstraktı	Mikrobiyolojik ve oksidatif stabilitesi artırılmış ürün eldesi	8
	Köfte	%0.1, 0.2 ve 0.3 yaprak ekstraktı	Doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilme	9
	Tavuk eti	%0.25, 0.50 ve 1 yaprak ekstraktı	Doğal antioksidan ve antimikrobiyel kaynağı olarak kullanılabilme	10
	Köfte	%0.05 yaprak ekstraktı	Duyuşal özellikleri geliştirilmiş ürün ve antimikrobiyel kaynağı olarak kullanılabilme	11

Çizelge 2. devam

Gıda grubu	Gıda ürünü	Uygulama ve konsantrasyon	Genel etkiler	R
Meyve, sebze ve ürünleri/ İçecekler/ Soslar	Meyveli içecek	5, 10, 15, 20 ve 25 mg/100 g yaprak ekstraktı	Fonksiyonel içecek eldesi	12
	Sebze ezmesi	0.5 ve 1 g/kg yaprak ekstraktı	Duyusal özellikleri geliştirilmiş ve depolama stabilitesi artırılmış ürün eldesi	13
	Kombucha çayı	%1, 2.5 ve 5 öğütülmüş kuru yaprak	Antioksidan kapasitesi artırılmış fonksiyonel içecek eldesi	14
	Bitki çayı	%2 öğütülmüş kuru yaprak (infüzyon)	Fonksiyonel yeni ürün eldesi	15
	Soğuk çay	%0.10 ve 0.15 yaprak ekstraktı	Antioksidan kapasitesi artırılmış fonksiyonel içecek eldesi	16
	Salça	500 ve 1000 mg/kg yaprak ekstraktı	<i>Aspergillus flavus</i> 'a karşı antifungal etki ve raf ömrü uzatılmış ürün eldesi	17
Hububat ürünleri	Ekmek	%5 ve 10 yaprak ekstraktı	Duyusal ile tekstürel özellikleri geliştirilmiş ve depolama stabilitesi artırılmış ürün eldesi	18
	Atıştırmalık ekmek çubukları	400 mg/kg yaprak ekstraktı	Fonksiyonel ve duyuşal özellikleri geliştirilmiş ürün eldesi	19
	Soya yağı	100, 200 ve 300 mg/kg yaprak ekstraktı	Oksidatif stabilitesi artırılmış ürün eldesi	20
Yemeklik yağlar	Zeytinyağı	%2 ve 4 yaprak	Oksidatif stabilitesi artırılmış ürün eldesi	21
	Zeytinyağı	%3 yaprak	Oksidatif stabilitesi artırılmış ve besleyici özelliği geliştirilmiş ürün eldesi	22

R: Referanslar; 1: Palmeri vd. (2019), 2: Marhamatizadeh vd. (2013), 3: Peker ve Arslan (2016), 4: Won-Young vd. (2020), 5: Okur (2021), 6: Acar (2018), 7: Martiny vd. (2020), 8: Aytul vd. (2004), 9: Rubel vd. (2021), 10: Saleh vd. (2020), 11: Kolcuoğlu ve Halkman (2021), 12: Kranz vd. (2010), 13: Difonzo vd. (2019), 14: Değirmencioğlu vd. (2020), 15: Işık (2017), 16: Arslan vd. (2021), 17: Jafari vd. (2017), 18: Moghaddam vd. (2020), 19: Difonzo vd. (2018), 20: Mohammadi vd. (2016), 21: Doğru (2019), 22: Tarchoune vd. (2019).

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde, insanların yaşam tarzlarındaki değişiklikler ile birlikte çeşitli faktörler (bilinçlenme, sağlıklı beslenme üzerine yapılan açıklamalar, bilimsel gelişmeler, sentetik katkı maddelerine duyulan şüphe ve doğal kaynaklara artan ilgi vb.) tüketicilerin sağlık, beslenme ve refah anlayışlarında değişime neden olmuştur/olmaktadır. Bu nedenle, "fonksiyonel ürün" ve konuyla ilgili araştırmalara ilgi/talep her geçen gün artmaktadır. Fonksiyonel gıda kavramıyla ilişkili olarak, biyoaktif bileşiklerce zengin ve fitokimyasal profilleri belirlenmiş olan tıbbi ve aromatik bitkiler oldukça önemlidir. Bu nedenle akılcı ve sürdürülebilir çözümler aramaya yönelik araştırmacılar, biyoaktif bileşiklerce zengin ve atık durumunda olan tarımsal yan ürünlerin gıdalarda değerlendirilmesi üzerine

odaklanmıştır. Bunlardan önemli biri de tarımsal bir yan ürün olan ve fitokimyasal içeriğiyle dikkat çeken zeytin yaprağıdır. Zeytin yaprağı üzerine yapılan literatür okumaları sonucunda; antioksidan ve fenolik bileşikler bakımından oldukça zengin olduğu, bileşimindeki fitokimyasallar sayesinde pek çok terapötik etkiye sahip olduğu ve gıda uygulamalarında kullanım potansiyellerinin olduğu görülmüştür. Zeytin yaprağını değerlendirmek, hem fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş ürünler elde etmeye hem de atık sorunlarını çözmeye katkı sağlayarak katma değer oluşturacaktır. Bu nedenlerle, zeytin yaprağının gıda endüstrisindeki uygulamaları artırılabilir/çeşitlendirilebilir. Ayrıca zeytin yaprağının veya benzer özellikteki bitkilerin gıda ortamındaki etkilerinin de histolojik ve toksikolojik değerlendirmeler ile kontrol edilmesi

büyük önem taşımakta ve bu alanda multidisipliner çalışmaların yapılması gerekmektedir.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

### YAZAR KATKILARI

Yazarlar makalenin yazımına eşit oranda katkı yapmışlar ve makalenin yayın aşamasındaki süreçte gerekli kontrolleri yapıp son halini onaylamışlardır.

### KAYNAKLAR

Acar, G. (2018). Sığır eti köftelerinin depolama stabilitesi üzerine farklı oranlarda zeytin yaprağı ilavesinin etkisi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 33 s.

Arslan, E.E., Karademir, G., Berkaş, S., Çam, M. (2021). Zeytin yaprağı ekstraktı içeren soğuk çay üretimi. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 9(3): 843-849. doi:10.21923/jesd.904344.

Aytul, K.K., Korel, F., Arserim-Uçar, D.K., Uysal, I., Bayraktar, O. (2004). Efficacy of olive leaf extract for enhancing quality of beef cubes. In proceedings of the 54 th International Congress of meat science and technology. (pp. 51) South Africa: Cape Town, 51.

Blasi, F., Urbani, E., Simonetti, M.S., Chiesi, C., Cossignani, L. (2016). Seasonal variations in antioxidant compounds of *Olea europaea* leaves collected from different Italian cultivars. *J Appl Bot Food Qual*, 89: 202-207. doi: 10.5073/JABFQ.2016.089.025.

Boudhrioua, N., Bahloul, N., Ben Slimen, I., Kechaou, N. (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Ind Crops Prod*, 29(2-3): 412-419. doi: 10.1016/j.indcrop.2008.08.001.

Brahmi, F., Mechri, B., Dhibi, M., Hammami, M. (2013). Variations in phenolic compounds and antiradical scavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different

seasons. *Ind Crops Prod*, 49: 256-264. doi: 10.1080/10412905.2016.1166157.

Carvalho, M., Ferreira, P.J, Mendes, V.S., Silva, R., Pereira, J.A, Jerónimo, C., Silva, B.M. (2010). Human cancer cell antiproliferative and antioxidant activities of *Juglans regia* L. *Food Chem Toxicol*, 48(1): 441-447. doi: 10.1016/j.fct.2009.10.043.

de Bock, M., Derraik, J.G.B., Brennan, C.M., Biggs, J.B, Morgan, P.E, Hodgkinson, S.C., Hofman, P.L., Cutfield, W.S. (2013). Olive (*Olea europaea* L.) leaf polyphenols improve insulin sensitivity in middle-aged overweight men: A randomized, Placebo-Controlled, Crossover Trial. *Plos One*, 8(3): e57622, 1-8. doi: 10.1371/journal.pone.0057622.

Değirmencioğlu, N., Yıldız, E., Guldaz, M., Gurbuz, O. (2020). Health benefits of kombucha tea enriched with olive leaf and honey. *J Obes Chronic Dis*, 4(1): 1-5. doi:10.17756/jocd.2020-031.

Difonzo, G., Pasqualone, A., Silletti, R., Cosmai, L., Summo, C., Paradiso, V.M, Caponio, F. (2018). Use of olive leaf extract to reduce lipid oxidation of baked snacks. *Food Res Int*, 108: 48-56. doi: 10.1016/j.foodres.2018.03.034.

Difonzo, G., Squeo, G., Calasso, M., Pasqualone, A., Caponio, F. (2019). Physico-chemical, microbiological and sensory evaluation of ready-to-use vegetable pâté added with olive leaf extract. *Foods*, 8(4): 138, 1-12. doi: 10.3390/foods8040138.

Doğru, E. (2019). Zeytin yaprağı ilavesi ile Ayrılık çeşidi zeytin meyvesinden üretilen natürel zeytinyağının oksidatif stabilitesinin belirlenmesi. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, Türkiye, 40 s.

Ekren, S., Yerlikaya, O., Tokul, H.E., Akpınar, A., Açu, M. (2013). Chemical composition, antimicrobial activity and antioxidant capacity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Afr J Microbiol Res*, 7(5): 383-388. doi: 10.5897/AJMR12.1765.

- El, S.N., Karakaya, S. (2009). Olive tree (*Olea europaea*) leaves: Potential beneficial effects on human health. *Nutr Rev*, 67(11): 632-638. doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00248.x.
- Espeso, J., Isaza, A., Lee, J.Y., Sørensen, P.M., Jurado, P., Avena-Bustillos, R.J., Olaizola, M., Arboleya, J.C. (2021). Olive leaf waste management. *Front Sustain Food Syst*, 5: 1-13. doi: 10.3389/fsufs.2021.660582.
- Gahukar, R.T. (2018). Management of pests and diseases of important tropical/subtropical medicinal and aromatic plants: A review. *J Appl Res Med Aromat Plants*, 9: 1-18. doi: 10.1016/j.jarmp.2018.03.002.
- Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), (2019). Bitkisel Üretim İstatistikleri, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Erişim Tarihi: 10.10.2021).
- Güler, O., Polat, R., Karaköse, M., Çakıoğlu, U., Akbulut, S. (2021). An ethnoveterinary study on plants used for the treatment of livestock diseases in the province of Giresun (Turkey). *S Afr J Bot*, 142: 53-62. doi: 10.1016/j.sajb.2021.06.003.
- Gür, F., Ağgül, A.G., Gülaboğlu, M. (2020). Su ile hazırlanan zeytin yaprağı özütünün ratlarda streptozotosin kaynaklı oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(4): 2406-2415. doi: 10.21597/jist.784425.
- Heilman, J., Anyangwe, N., Tran, N., Edwards, J., Beilstein, P., López, J. (2015). Toxicological evaluation of an olive extract, H35: Subchronic toxicity in the rat. *Food Chem Toxicol*, 84: 18-28. doi: 10.1016/j.fct.2015.07.007.
- Işık, E. (2017). Farklı yöntemlerle kurutulmuş zeytin yaprağından üretilen bitki çayının biyoaktif bileşenleri, antioksidan kapasitesi ve duyuşal beğenisi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale, Türkiye, 63 s.
- Jafari, S.M., Ghanbari, V., Dehnad, D., Ganje, M. (2017). Neural networks modeling of *Aspergillus flavus* growth in tomato paste containing microencapsulated olive leaf extract. *J Food Saf*, 38:1 2396, 1-10. doi: 10.1111/jfs.12396.
- Jemai, H., El Feki, A., Sayadi, S. (2009). Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *J Agric Food Chem*, 57(19): 8798-8804. doi: 10.1021/jf901280r.
- Kadıoğlu, B., Kadıoğlu, S. (2021). Medicinal and aromatic plants consumption habits of consumers in the coronavirus pandemic. *Atatürk Univ J Agricultural Faculty*, 52(3): 325-334. doi: 10.17097/ataunizfd.860913.
- Khan, M.Y., Panchal, S., Vyas, N., Butani, A., Kumar, V. (2007). *Olea europaea*: A phytopharmacological review. *Pharmacogn Rev*, 1(1): 114-118.
- Kiani, S., Minaei, S., Ghasemi-Varnamkhasi, M. (2016). Application of electronic nose systems for assessing quality of medicinal and aromatic plant products: A review. *J Appl Res Med Aromat Plants*, 3(1): 1-9. doi:10.1016/j.jarmp.2015.12.002.
- Kolcuoğlu, G., Halkman, A.K. (2021). Çeşitli bitkisel ekstraktlar ve kombinasyonlarının köftede antimikrobiyel etkisinin araştırılması. *Gıda*, 46(5), 1092-1104. doi: 10.15237/gida.GD21084.
- Kranz, P., Braun, N., Schulze, N., Kunz, B. (2010). Sensory quality of functional beverages: Bitterness perception and bitter masking of olive leaf extract fortified fruit smoothies. *J Food Sci*, 75(6): 308-311. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01698.x.
- Lubbe, A., Verpoorte, R. (2011). Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Ind Crops Prod*, 34(1): 785-801. doi: 10.1016/j.indcrop.2011.01.019.
- Marhamatizadeh, M.H., Ehsandoost, E., Gholami, P., Mohaghegh, M.D. (2013). Effect of olive leaf extract on growth and viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* for production of probiotic milk and yoghurt. *Intl J Farm and Alli Sci*, 2(17): 572-578. doi: 10.3923/pjn.2010.787.793.
- Markhali, F.S., Teixeira, J.A., Rocha, C.M.R. (2020). Olive tree leaves-a source of valuable

- active compounds. *Processes*, 8: 1177, 1-18. doi:10.3390/pr8091177.
- Martiny, T.R., Raghavan, V., Moraes, C.C., Rosa, G.S.D., Dotto, G.L. (2020). Bio-based active packaging: Carrageenan film with olive leaf extract for lamb meat preservation. *Foods*, 9(12): 1759, 1-14. doi: 10.3390/foods9121759.
- Moghaddam, M.F.Z., Jalali, H., Nafchi, A.M., Nouri, L. (2020). Evaluating the effects of lactic acid bacteria and olive leaf extract on the quality of gluten-free bread. *Gene Rep*, 21: 100771. doi: 10.1016/j.genrep.2020.100771.
- Mohammadi, A., Jafari, S.M., Esfanjani, A.F., Akhavan, S. (2016). Application of nano-encapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil. *Food Chem*, 190: 513-519. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.05.115.
- Nicoli, F., Negro, C., Vergine, M., Aprile, A., Nutricati, E., Sabella, E., Miceli, A., Luvisi, A., De Bellis, L. (2019). Evaluation of phytochemical and antioxidant properties of 15 Italian *Olea europaea* L. cultivar leaves. *Molecules*, 24(10): 1998, 1-12. doi: 10.3390/molecules24101998.
- Nunes, M.A., Pimentel, F.B., Costa, A.S., Alves, R.C., Oliveira, M.B. (2016). Olive by-products for functional and food applications: Challenging opportunities to face environmental constraints. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 35: 139-148. doi: 10.1016/j.ifset.2016.04.016.
- Okur, Ö.D. (2021). An evaluation of the quality characteristics of kefir fortified with olive (*Olea europaea*) leaf extract. *Br Food J*, doi: 10.1108/BFJ-07-2021-072.
- Özcan, M.M., Matthäus, B. (2017). A review: Benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Eur Food Res Technol*, 243: 89-99. doi: 0.1007/s00217-016-2726-9.
- Palmeri, R., Parafati, L., Trippa, D., Siracusa, L., Arena, E., Restuccia, C., Fallico, B. (2019). Addition of olive leaf extract (OLE) for producing fortified fresh pasteurized milk with an extended shelf life. *Antioxidants*, 8(8): 255, 1-14. doi: 10.3390/antiox8080255.
- Papachristodoulou, A., Tsoukala, M., Benaki, D., Kostidis, S., Gioti, K., Aligiannis, N., Pratsinis, H., Kletsas, D., Skaltsounis, A., Mikros, E., Tenta, R. (2016). Oleuropein is a powerful sensitizer of doxorubicin-mediated killing of prostate cancer cells and exerts its action via induction of autophagy. *J Cancer Res Treat*, 4(4): 61-68. doi: 0.12691/jcrt-4-4-2.
- Peker, H., Arslan, S. (2016). Effect of olive leaf extract on the quality of low fat apricot yogurt. *J Food Process Preserv*, 41: e13107, 1-10. doi: 10.1111/jfpp.13107.
- Pereira, A.P., Ferreira, I.C., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P.B., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A., Pereira, J.A. (2007). Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Molecules*, 12(5): 1153-1162. doi: 10.3390/12051153.
- Perrinjaquet-Moccetti, T., Busjahn, A., Schmidlin, C., Schmidt, A., Bradl, B., Aydogan, C. (2008). Food supplementation with an olive (*Olea europaea* L.) leaf extract reduces blood pressure in borderline hypertensive monozygotic twins. *Phytother Res*, 22(9): 1239-1242. doi: 10.1002/ptr.2455.
- Polat, R. (2019). Ethnobotanical study on medicinal plants in Bingol (City center) (Turkey). *J Herb Med*, 16: 100211. doi: 10.1016/j.hermed.2018.01.007.
- Prasathkumar, M., Anisha, S., Dhriya, C., Becky, R. (2021). Therapeutic and pharmacological efficacy of selective Indian medicinal plants-A review. *Phytomedicine Plus*, 1(2): 100029. doi: 10.1016/j.phyplu.2021.100029.
- Rahmanian, N., Jafari, S.M., Wani, T.A. (2015). Bioactive profile, dehydration, extraction and application of the bioactive components of olive leaves. *Trends Food Sci Technol*, 42: 150-172. doi:10.1016/j.tifs.2014.12.009.
- Ravanbakhsh, A., Mahdavi, M., Jalilzade-Amin, G., Javadi, S., Maham, M., Mohammadnejad, D., Rashidi, M.R. (2016). Acute and subchronic toxicity study of the median septum of *Juglans regia* in wistar rats. *Adv Pharm Bull*, 6(4): 541-549. doi: 10.15171/apb.2016.068.

- Romani, A., Ieri, F., Urciuoli, S., Noce, A., Marrone, G., Nediani, C., Bernini, R. (2019). Health effects of phenolic compounds found in extra-virgin olive oil, by-products, and leaf of *Olea europaea* L. *Nutrients*, 11(8): 1776, 1-33. doi: 10.3390/nu11081776.
- Rubel, S.A., Yu, Z.N., Murshed, H.M., Ariful Islam, S.M., Sultana, D., Rahman, S.M.E., Wang, J. (2021). Addition of olive (*Olea europaea*) leaf extract as a source of natural antioxidant in mutton meatball stored at refrigeration temperature. *J Food Sci Technol*, 58(10): 4002-4010. doi: 10.1007/s13197-020-04863-y.
- Ruzzolini, J., Peppicelli, S., Andreucci, E., Bianchini, F., Scardigli, A., Romani, A., la Marca, G., Nediani, C., Calorini, L. (2018). Oleuropein, the main polyphenol of olea europaea leaf extract, has an anti-cancer effect on human BRAF melanoma cells and potentiates the cytotoxicity of current chemotherapies. *Nutrients*, 10(12): 1950, 1-17. doi: 10.3390/nu10121950.
- Salah, M.B., Abdelmelek, H., Abderraba, M. (2012). Study of phenolic composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia. *Med Chem*, 2(5): 107-111. doi: 10.4172/2161-0444.1000124.
- Saleh, E., Morshdy, A.E., El-Manakhly, E., Al-Rashed, S.F., Hetta, H., Jeandet, P., Yahia, R., El-Saber Batiha, G., Ali, E. (2020). Effects of olive leaf extracts as natural preservative on retailed poultry meat quality. *Foods*, 9(8): 1017, 1-12. doi: 10.3390/foods9081017.
- Sevim, D., Tuncay, Ö. (2012). Ayvalık ve memecik zeytin çeşitlerinin yaprağı ve meyvelerinin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktiviteleri. *Gıda*, 37 (4): 219-226.
- Souilem, S., Fki, I., Kobayashi, I., Khalid, N., Neves, M.A., Isoda, H., Sayadi, S., Nakajima, M. (2017). Emerging technologies for recovery of value-added components from olive leaves and their applications in food/feed industries. *Food Bioproc Tech*, 10, 229-248. doi: 10.1007/s11947-016-1834-7.
- Sudjana, A.N., D'Orazio, C., Ryan, V., Rasool, N., Ng, J., Islam, N., Riley, T.V., Hammer, K.A. (2009). Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *Int J Antimicrob Agents*, 33(5): 461-463. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2008.10.026.
- Susalit, E., Agus, N., Effendi, I., Tjandrawinata, R.R., Nofiarny, D., Perrinjaquet-Moccetti, T., Verbruggen, M. (2011). Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-1 hypertension: comparison with captopril. *Phytomedicine*, 18(4): 251-258. doi: 10.1016/j.phymed.2010.08.016.
- Tarchoune, I., Sgherri, C., Eddouzi, J., Zinnai, A., Quartacci, M. F., Zarrouk, M. (2019). Olive leaf addition increases olive oil nutraceutical properties. *Molecules*, 24(3): 545, 1-15. doi: 10.3390/molecules24030545.
- Thakur, M., Kumar, R. (2021). Microclimatic buffering on medicinal and aromatic plants: A review. *Ind Crops Prod*, 160: 113144. doi: 10.1016/j.indcrop.2020.113144.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), (2019). Bitkisel Üretim İstatistikleri, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2019-30685> (Erişim Tarihi: 10.10.2021).
- Uyulaşer, V., Yıldız, G. (2014). The historical development and nutritional importance of olive and olive oil constituted an important part of the mediterranean diet. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 54(8): 1092-1101. doi: 10.1080/10408398.2011.626874.
- Wainstein, J., Ganz, T., Boaz, M., Bar Dayan, Y., Dolev, E., Kerem, Z., Madar, Z. (2012). Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *J Med Food*, 15(7): 605-610. doi: 10.1089/jmf.2011.0243.
- Won-Young, C., Da-Hee, K., Ha-Jung, L., Su-Jung, Yeon., Chi-Ho, Lee. (2020). Quality characteristic and antioxidant activity of yogurt containing olive leaf hot water extract. *CyTA J Food*, 18(1): 43-50. doi: 10.1080/19476337.2019.1640797.



## BESLENMEDE FARKINDALIK

Y. Birol Saygı<sup>1\*</sup>, Irmak Saygı<sup>2</sup>

<sup>1)</sup> Bahçeşehir Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, İstanbul, Türkiye

<sup>2)</sup> Brunel University London College of Health, Medicine and Life Sciences  
Post-Graduate Studies, London, UK

Geliş / Received: 02.08.2021; Kabul / Accepted: 12.12.2021; Online baskı / Published online: 18.12.2021

Saygı, Y.B., Saygı, I. (2021). Beslenmede farkındalık. *GIDA* (2021) 46 (6) 1494-1504 doi: 10.15237/gida.GD21109.

*Saygı, Y.B., Saygı, I. (2021). Mindful Eating. GIDA (2021) 46 (6) 1494-1504 doi: 10.15237/gida.GD21109.*

### ÖZ

Farkındalık, kişinin mevcut deneyimine tam dikkat ve farkındalık getirme kapasitesidir. Beslenmede farkındalık yemek seçimine ve yemek yeme deneyimine dikkat getirir. Bugün, farkındalık ve buna yardımcı teknikler günlük hayattaki binlerce insanın depresyon, kronik kaygı gibi klinik problemlerin yanında problem çözme, duygu regülasyonu gibi sıklıkla karşılaşılan ruhsal ve bilişsel sorunlarla baş etmesine yardımcı olarak kişilerin daha ana odaklı ve bilinçli şekilde yaşamasına yardımcı olmuştur. Yemek insanoğlunun yaşamını sürdürmesi için gereken en temel unsurlardan biridir ve beslenme bütün canlılar için günlük rutinin ayrılmaz bir parçasıdır. Bu bağlamda da farkındalık durumunun beslenmeyi etkilemesi, aynı şekilde beslenmenin farkındalığı arttıracak tekniklerde kullanılabilmesi kaçınılmazdır. Buna bağlı ortaya çıkabilecek sorular beslenmede farkındalığın kökeni, kişi üzerinde etkileri ve uygulamalarını kapsamaktadır. Söz konusu çalışma güncel verilerle bu bağlamı ve oluşabilecek soruları aydınlatmayı amaçlamıştır.

**Anahtar kelimeler:** Farkındalık, beslenmede farkındalık, beslenme alışkanlıkları, psikolojik yaklaşımlar

## MINDFUL EATING

### ABSTRACT

Mindfulness is the capacity to bring full attention and awareness to one's current experience. Correspondingly, Mindful eating brings attention to food choice and eating experience. Today, mindfulness and its assistive techniques have helped thousands of people, including the clinical population, in their daily lives to cope with clinical problems such as depression and chronic anxiety, as well as frequently encountered mental and cognitive problems such as problem solving and emotion regulation in addition to helping people to live more focused and consciously. Food is one of the most basic elements required for the survival of human beings, and nutrition is an integral part of the daily routine for all living things. In this context, it is inevitable that the mindfulness affects food choices and eating habits as well as the food's role on mindfulness meditations which can increase awareness. Due to this fact, the arise of the questions regarding the origins, effects and applications of mindful eating become inevitable. Therefore, this aforementioned study aimed to clarify this concept and related questions based on the latest findings.

**Keywords:** Mindfulness, mindful eating, eating habits, psychological approaches

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: yasarbirol.saygi@sad.bau.edu.tr

☎: (+90) 532 294 98 57

Y. Birol Saygı; ORCID no: 0000-0001-9829-960X

Irmak Saygı; ORCID no: 0000-0002-8051-7987

## FARKINDALIK

### Farkındalığın Kökeni

Bugün yaygın olarak İngilizce karşılığı olan Mindfulness tercih edilse de Türkçe ismiyle Öz-Farkındalık, Bilinçli Farkındalık ya da Farkındalık, kavram olarak kökenini Budizm'den alır. Buna göre de Pali dilindeki karşılığı Sampajañña'dır. Bu kavram yine Pali dilindeki sati (farkındalık) ve samprajanya (açık, temiz algılama) kelimelerinin birleşiminden türetilmiştir (Schuman-Olivier vd., 2020). Farkındalık geleneksel anlamıyla kişinin dikkatini şimdiki anda toplayarak kendi benliğindeki ve benliğinin dışındaki durumları yargılamaksızın kabullenebilme kapasitesini işaret eder (Grecucci vd., 2015). Bununla birlikte Farkındalık meditasyonları olarak bilinen bir kısım uygulama da bu farkındalığı arttırmak için geçmişten bugüne kullanılmaktadır. Tekrardan not edilmelidir ki farkındalık zihinsel bir durumdur, farkındalık uygulamaları ya da meditasyonları zihni bu duruma getirmeye ya da bu durumu arttırmaya yarayan tekniklere denmektedir. Bu noktada beslenmede farkındalığın sezgisel yeme (intuitive eating) ile karıştırılmaması önemlidir. Sezgisel yeme resmi olarak 1995 yılında iki diyetisyen tarafından ortaya konmuş bir kavramdır ve diyetlere başka bir ifadeyle gıdaları iyi, kötü diye etiketlemeye karşı çıkan yaklaşımı ifade eder. Bu kapsamda da beslenme için kişilerin odağının temelde açlık ve tokluk duyguları üzerine çevrilmesi gerektiğini belirtir. Beslemede farkındalıkla karşılaştırıldığında her iki yaklaşımda da kişinin mevcut beslenmeyle bağıntılı bedensel algısına odaklanmak unsur olarak öne çıksa da sezgisel yeme kapsamında beslenmede farkındalıkta olduğu gibi kendisiyle özdeşleşmiş bir teknik, uygulama veya meditasyon barındırmaz (Kerin vd., 2019; Warren vd., 2017).

Kökeni eski olsa da farkındalık bugünkü popülerliğini çoğunlukla Farkındalık Bazlı Stres Azaltma (MBSR) ve Farkındalık Tabanlı Bilişsel Terapi (MBCT) programlarının geliştiricisi Prof. Dr. Jon Kabat-Zinn'e borçludur (Kabat-Zinn, 1991; Wielgosz vd., 2019). Kabat-Zinn'in çalışmaları halk popülerliğinin ötesinde Farkındalık kavramının psikoloji literatüründe yer alması açısından önemlidir. Başta Kabat-Zinn'in

çalışmalarını yürüttüğü Massachusetts Teknoloji Üniversitesi olmak üzere bugün Oxford ve Harvard Üniversiteleri dahil pek çok üniversitenin bilimsel olarak Farkındalık üzerine çalışan spesifik bölümleri mevcuttur.

### Farkındalığa Psikolojik Yaklaşımlar

Bununla birlikte literatürde de farkındalık kavramına farklı yaklaşımlar söz konusudur (Çizelge 1). Bunlardan biri Kabat-Zinn'in kavramın geleneksel kökenlerine uygun pasif yaklaşımında Farkındalık terimi, belirli bir şekilde bilinçli olarak mevcut anda ve yargısız olarak dikkat etmek" olarak tanımlanmıştır. Buna karşılık Harvard Üniversitesi'nden Prof. Dr. Ellen Langer'ın öncülüğünde farkındalığa aktif yaklaşım mevcuttur. Langer, Farkındalığı Mindlessness (kişinin kendindeki ve çevresindeki durumlara karşı bilinçsizliği) durumunun aksi olarak şimdiki anın tamamen farkında, ona dahil olduğumuz ve değişiklikleri de fark etmeye açık olduğumuz esnek bir zihinsel durum olarak tanımlar (Langer, 2000). Langer'ın tanımındaki aktiflik dikkatin anın farkında olabilmek adına mevcut bir duruma aktif olarak yönlendirilmesi, başka bir ifadeyle farkındalığın bir araç olarak kullanılması gerekliliğinden gelir. Buna rağmen, Gelenek ve Kabat-Zinn mevcut durumların herhangi birine odaklanmadan hepsini yargısızca kabullenmeyi işaret eder (Compton ve Hoffman, 2018).

### Farkındalığın Kişilere Etkileri

Farkındalık hali nedir ve farkındalık uygulamaları ne işe yarar, nasıl çalışır? Farkındalık zihinsel bir durumu ifade ettiğinden deneyimseldir ve kavramsal olarak açıklamak oldukça zordur. Bilişsel olarak farkındalık pasif yaklaşımla kişilerin çevresindekileri yargılamadan kabul etmesini sağlar. Odağın şimdiki çevrede olması dikkatin anda toplanmasına geçmişin ve geleceğin yarattığı stres ve kaygıyı azaltarak şu anın keyfine varabilmeye yardımcı olur. Aktif yaklaşımın da amacı aynıdır. Fakat bu yaklaşımda dikkati anda toplayabilmek için kişinin andaki bir varlık veya durumla etkileşmesini gereklilik koşar.

Farkındalığın, özellikle farkındalığa dair tekniklerin psikolojik müdahale (intervention) olarak uygulandığı deneyler sonucunda



katılımcılarda görünen bilişsel yansımalarını başlıca kişi raporlarından almak mümkündür. Bununla birlikte son yıllardaki nörobilim çalışmaları da bu konuda literatüre önemli katkılarda bulunmuştur. Örnek olarak 2012 yılında Harvard Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden Prof. Dr. Gaëlle Desbordes ve arkadaşları tarafından fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRI) kullanılarak gerçekleştirilen çalışma göstermiştir ki iki aylık farkındalık meditasyonu eğitimi alan katılımcıların öncesi ve sonrası görüntülemelerinde katılımcılara duygusal yoğunluktaki resimler sunulduğunda beyinde duyguların işlenmesinde temel bir rol oynayan amigdalanın aktivitesinde önemli bir azalma görülmüştür (Powell, 2018). Bunu 2018 yılında

takip eden Prof. Dr. Benjamin Shapiro ve meslektaşları tarafından gerçekleştirilen 12 depresyon hastası üzerinde gerçekleştirilen ve Kabat-Zinn tarafından geliştirilen Farkındalık Tabanlı Bilişsel Terapi (MBCT)'nin etkisini araştıran başka bir çalışmada da sadece amigdalaya bağlı strese değil, katılımcıların bilişsel, ruhsal ve nöral mekanizmalarında da iyileşme gözlemlendiği rapor etmiştir. Ek olarak, farkındalık uygulamalarının, katılımcıların raporlarıyla fMRI'leri (beyinde utanç gibi düşüncesele geliştirilmiş duyguların regülasyonunda önemli rol oynayan anterior singulat korteksin aktivitesi) incelendiğinde 'beyinde sessizleşme' denilebilecek, spekülatif olarak faydalı bir etkisi bulunmuştur (Deliperi vd., 2011).

Çizelge 1. Farkındalığa (Mindfulness) psikolojik yaklaşımlar

<i>Pasif Yaklaşım</i>	<i>Aktif Yaklaşım</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Her iki yaklaşım için de farkındalık öğrenebilen bir beceri olarak tanımlanır.</li> <li>- Her iki yaklaşım için odak mevcut andadır.</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Budist geleneğe uygundur.</li> <li>- Kişilerin anı yargılamadan kabul etmesini öğütler.</li> <li>- Önemli temsilcisi Jon Kabat-Zinn'dir.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Farkında olma hali Mindlessness (kişinin kendindeki ve çevresindeki durumlara karşı bilinçsizliği) durumunun aksi olarak tanımlanır.</li> <li>- Dikkati anda toplayabilmek için kişinin andaki bir varlık veya duruma etkileşmesini gereklilik koşar.</li> <li>- Önemli temsilcisi Ellen Langer'dır.</li> </ul>

## BESLENMEDE FARKLILIK

### Beslenmede Farkındalığın Kökeni

Farkındalık, dikkati şimdiye yönelmeyi gerektirdiğinden günlük hayatın kaçınılmaz bir parçasıdır ve etkileri de yine günlük hayatta gözlemlenebilir. Bugün, farkındalık ve buna yardımcı teknikler günlük hayattaki binlerce insanın depresyon, kronik kaygı gibi klinik problemlerin yanında problem çözme, duygu regülasyonu gibi sıklıkla karşılaşılan ruhsal ve bilişsel sorunlarla baş etmesine yardımcı olarak kişilerin daha ana odaklı ve bilinçli şekilde yaşamasına yardımcı olmuştur. Yemek insanoğlunun yaşamını sürdürmesi için gereken en temel unsurlardan biridir ve beslenme bütün canlılar için günlük rutinin ayrılmaz bir parçasıdır. Bu bağlamda da farkındalık durumunun beslenmeyi etkilemesi, aynı şekilde beslenmenin

farkındalığı arttıracak tekniklerde kullanılabilmesi kaçınılmazdır. Literatürde beslenmede farkındalığın ilk kez 90'ların sonunda Kristeller ve Hallet'in Farkındalık Tabanlı Beslenme Terapisi (MB-EAT)'nin Tıkanırçasına Yeme Bozukluğu (Binge Eating Disorder) teşhisi konmuş obeziteli kadınlar üzerine etkisini araştırmasında karşılaşılar (Burton. 2020; Ives-Deliperi vd. 2011; Kristeller, 2015; Warren vd., 2017).

### Beslenmede Farkındalığa Psikolojik Yaklaşımların Uygulanması

Bahsedildiği üzere, farkındalıkta pasif ve aktif yaklaşımlarının her ikisinin de merkezinin şimdi olmasının yanında aktif yaklaşım günlük durum ve objelerle etkileşimi gerektirir. Bu kapsamda beslenme farkındalıkta iki şekilde yer alabilir. İlk olarak beslenmede farkındalığa, genel farkındalığa

uygun nitelikte zihinsel bir durum olarak ulaşmaktan söz edilebilir. Bu zihinsel durum da kişinin duyuşsal ve bilişsel deneyimlerine odaklanarak (pasif yaklaşımda yargılamadan) andaki beslenmesine olan yaklaşımına denk gelmektedir. İkinci olarak aktif yaklaşımda gıdaların, farkındalığı arttırmak için bir araç; yemek yemenin de farkındalığı arttıracak bir teknik olarak kullanılması ön plandadır. Bu kapsamda da şimdideki gıdalla ve yemek yeme aktivitesiyle etkileşim farkındalık durumuna erişebilmek için gereklidir.

Gıdalar ve beslenme aktivitesi genel olarak duyuşsal değerlendirme parametreleri çerçevesinde bir deneyimdir. Bütün bu duyuşlar gıdalla ilgili kişinin anılarını ve beklentilerini kapsayan algının devreye girerek bilişsel olarak beslenmeyi neredeyse önceden belirlenmiş hale getirir. Başka bir ifadeyle gıdayı tüketirken alınan tadın büyük bir kısmı daha öncesinde bu gıdaya dair hafızada kaydedilmiş duyuşlardan alınan ve beyin tarafından yorumlanmış verilerden gelir. Bu evrimsel bir savunma mekanizması olup kişinin sevdiği ve “güvenli” gördüğü gıdaları yemeye devam edip, sevmediği ve “güvenmediği” gıdalardan kaçınmasını sağlamaktadır. Beslenmede farkındalık, bu çerçevede bu algıyı kırmayı amaçlamaktadır. Detaylandırılırsa, beslenmede dikkati andaki duyuşlara odaklayarak mevcut gıdaya yönelik anlık veri almak ve bu yolla kişi örnek olarak bir elmayı yerken bunu öncekilerden kalan verileri eleyerek söz konusu elmanın farkına varabilmeyi ve bunu takdir edebilmeyi amaçlar (Hong vd., 2011). Ayrıca pasif yaklaşımda olduğu üzere deneyimi yargılamamak bahsedilen ilkel savunma mekanizmasının etkisini azaltarak daha önceden sevilmeyen bir gıdaya dair tercihleri tekrar değerlendirmek gibi beyinde bir takım bilinçli aktiviteye aracılık eder.

### **Farkında Olmadan (Mindless) Beslenme**

Beslenmede farkındalık literatürde ve popüler kültürde aktif yaklaşıma uygun olarak daha çok farkındalık durumuna ulaşmaya yardımcı bir teknik olarak kullanımı incelenmiştir. Bununla birlikte aktif farkındalığın savunucusu Langer için farkındalık (mindfulness), farkında olmama (mindlessness) durumunun karşısındadır. Bugün

beslenmede farkındalık açısından farkında olmama durumunun literatürde çeşitli karşılıklar bulabilmektedir.

Bunlar içinde en bilinenlerden biri Türkçede tıkanırçasına yeme bozukluğu (TYB) olarak bilenen psikolojik rahatsızlıktır. TYB, kendini sık ve sürekli yeme nöbetleriyle gösteren aşırı miktarda gıda tüketimini içeren ve yeme üzerinde kontrol azlığı gibi bağımlılık ile örtüşen özellikleri bulunan bir psikolojik rahatsızlıktır. Amerikan Psikiyatri Derneği (American Psychiatric Association, APA) tarafından Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel Sınıflandırma Elkitabının (DSM)’in dördüncü basısında TYB’den ilk defa başka türlü adlandırılmayan yeme bozukluklarının altında bahsedilse de elkitabının en son yayımlanan beşinci basısında “Beslenme ve Yeme Bozuklukları” altında ayırıcı kriterleriyle birlikte ayrı bir yeme bozukluğu olarak tanımlanmıştır (Anon., 2010; Anon., 2011; Anon., 2013; Kristeller, 2014; Miller, 2017). Türk popülasyonunu kapsayan çalışmalar TYB’nin Türk toplumunda en yaygın olarak karşılaşılan yeme bozukluğu olduğunu göstermektedir. TYB’nin toplumda görülme sıklığı yapılan çalışmalara göre %0.7 ile %6.6 arasında değişmektedir. Tahmin edilebileceği üzere TYB obez kişilerde (%8) daha sık gözlemlenmektedir (Turan vd., 2015).

Yine bu karşılıklardan belki de daha güncel olanı zombi yeme (zombie eating)’dir. Teknoloji çağının sonuçlarından biri denebilecek Zombi yeme, ekranlara bakarken yemek yemeyi ifade etmektedir ve günümüz toplumunda oldukça yaygındır. Amerikan yiyecek markası Snack Factory® Pretzel Crisps® aracılığı ile OnePoll Araştırma Şirketi tarafından 2000 Amerikalı katılımcı ile gerçekleştirilen ve katılımcıların yeme alışkanlıklarını gözlemleyen çalışmada popülasyonun %91’inin yemek yerken telefon, televizyon, tablet ve bilgisayar gibi ekranlar ile meşgul olduğunu rapor edilmiştir. Dahası bu kişilerinde %49’u bu tutumlarının düzenli olarak tanımlanmıştır. Yine söz konusu 2000 kişinin %86’sı ne ve neyi ne kadar yediklerini unutacak kadar ekran ile meşgul olduklarını belirtmiştir. Ek

olarak yakın zamanda çocuklar ve genç yetişkinler arasında ekrana bakma süresi ve beslenme alışkanlıkları arasındaki bağlantıyı inceleyen bir araştırma katılımcıların %87.5'inin günlük bazda ekran başındayken en az bir öğün veya atıştırma yiyerek tükettiğini göstermiştir. Özellikle genç yetişkinlerin günlük kalori alımının neredeyse yarısının (%42,3) ekran başında gerçekleştiği rapor edilmiştir (Ericson, 2020; Gervis, 2020; Hanh ve Cheung, 2015; Jensen vd., 2020; Pearson vd., 2017).

### **Beslenmede Farkındalığın Kişi Üzerinde Etkileri**

Kısaca, gıda üzerinde kontrolsüzlük hissinin sıklıkla karşılaştığı TYB ve odağın ekranlarda olduğu zombi yemenin de dahil olduğu farkında olmadan yeme, farkındalığın gereklilikleri olan dikkati şimdiki gıdaya ve beslenmeden uzak, dolayısıyla farkındalığın sunduğu faydalar olarak bilinç eylemlerinin, kişinin çevreye ve kendine dair farkındalığının artması, geçmiş ve geleceğin yarattığı stresin azaltılması ve en önemlisi anın keyfine varmanın önündeki engel şeklinde sunulmaktadır. Bu şekilde beslenmede farkındalığın andaki duyuma ve deneyime odaklanması görünürde gıdanın ve beslenmenin öteki, daha teknik kısmını görmezden gelmeye denk düşmektedir. Gıdaların kalori, karbonhidrat, yağ veya protein içeriğinin ve bu içeriklerin diyetlerin kapsamında olduğu gibi beden üzerindeki uzun vadeli sonuçlarının değerlendirilmesinin söz konusu deneyim ile çok az ilgisi vardır. Öyle ki beslenmede farkındalığın duygu regülasyonundaki ve psikolojik iyi olma hali üzerinde olumlu etkisi bilimsel olarak gösterilebilse de farkındalığın kilo vermek gibi amaçlarla kullanılabilmesi tartışmalıdır (Anon, 2020; Kidwell vd., 2015; Olson and Emery, 2015; Pintado-Cucarella ve Rodríguez-Salgado, 2016).

Beslenmede farkındalık uygulamalarında mevcut trendler değerlendirildiğinde kilo vermek temel amaç olarak görülmektedir. Yine de beslenmede farkındalık uygulamaları gerçekleştiren kişilerde kilo vermek beklenen bir sonuçtur. Bağlı olarak 2015 yılında farkındalık ve kilo verme arasındaki bağı araştıran 19 çalışmanın sistematik incelemesinde bu çalışmaların 13

tanesinde farkındalık uygulamalarından faydalanan katılımcılarda önemli kilo kayıpları gözlenmiştir. Lakin söz konusu çalışma farkındalık ve kilo verme arasında doğrudan bilimsel bir bağ belgelenemediği ve gelecek çalışmalara ihtiyaç duyulduğu vurgulanmıştır (Olson ve Emery, 2015). Yine 2017 yılında Cambridge Üniversitesince yayımlanan makalede incelen obez popülasyonu içeren 16 çalışmanın 8'inde kilo kaybı görüldüğü, ek olarak sadece 3 tanesinde istatistiksel anlamda ciddi kilo kaybı gözlemlendiği belirtilmiştir. Bununla birlikte farkındalığın sadece kilo vermek için değil, gerektiğinde kilo almak içinde kullanılabilirliğini göstermiştir (Kidwell vd., 2015). Sonuç olarak her ne kadar ortaya yeterli bilimsel bağ konamamış olsa da farkındalığın beslenmede tutumlar üzerinde etkili olabileceği ve beslenmede farkındalık ile kilo vermek veya almanın beslenmede farkındalık kavramının ve tekniklerinin psikolojik ve fizyolojik açlık işaretlerine dikkat etmek, yemek yerken gıdanın bedende duyulara ve duygulara hitabını takip etmek dikkat etmeyi gerektirmesini kapsamıyla yakından ilişkili olabileceği görünmektedir (Abdul Basir vd., 2021; Dalen vd., 2010; Dunn vd., 2018; Gidugu ve Jacobs, 2019; Hudnall, 2019; Lofgren, 2015; Mantzios ve Wilson 2015 ve 2017; Tronieri vd. 2018). Obez popülasyon haricinde klinik dışındaki popülasyon üzerinde yapılan bir çalışmada sekiz haftalık müdahale şeklinde sunulan beslenmede farkındalığın bilişsel esnekliği arttırdığı ve bu şekilde kompulsif yemeyi azalttığı not edilmiştir (Janssen vd., 2018) ki bu yine beslenmede farkındalığın beslenme alışkanlıklarının değişimi ve kilo kontrolü üzerindeki etkisini çözmek için anahtar niteliğinde olabilir.

### **Beslenmede Farkındalığı Geliştirme Amacıyla Kullanılan Uygulamalar**

Beslenmede farkındalığı çeşitli yollar ile geliştirilebilir. Bu bağlamda farkındalık meditasyonları veya programlarını, bunların bir parçası olarak beslenmeye uygulanabilir; MB-EAT gibi doğrudan beslenmede farkındalığı amaçlayan programlara veya da yemek bazında olmak üzere mini meditasyon denilebilecek uygulamalara başvurulabilir.

Warren ve meslektaşlarının (2017) incelemiş olduğu çalışmalarda, beslenmede farkındalığı arttırmak amacıyla MBCT gibi genel farkındalığı arttırma uygulamaları düşünüldüğünde doğrudan beslenmede farkındalıkla bağıntılı olarak 90'ların sonunda Kristeller ve Hallet tarafından geliştirilen MB-EAT programı gelmektedir. Kristeller'in ifadesiyle programın temel amacı süper boy porsiyonlarla yaşadığımız dünyada odağı miktardan, kaliteye çekmektir. Böylece küçük porsiyonlardan maksimum verimi almak amaçlanır. MB-EAT programı, beslenmede farkındalığı arttırmak ve farkında olmadan beslenmenin etkilerini azaltmak için tasarlanmıştır. Beslenmede farkındalık egzersizleri, özellikle fiziksel açlık ve tokluk ipuçlarına, genel gıda alımına ve aşırı yemenin fiziksel, bilişsel, sosyal-çevresel ve duygusal tetikleyicilerine odaklanır. Program boyunca genel

farkındalık ve rehberli yeme meditasyonlarının yanında kişilerin gün için rahatlıkla uygulayabilecekleri mini meditasyonlar öğretilir (Choi ve Lee, 2020; Fletcher, 2014; Kristeller vd., 2014 ve 2021).

Mini meditasyonlar kapsamında MB-EAT programının mucitlerinden Kristeller'dan (2015) örnek verilebilir (Çizelge 2). Söz konusu egzersiz, kişilerin tat duyusuna odaklanmak için tasarlanmıştır. Egzersizdeki amaç diğer bütün farkındalık uygulamaları ile ortak olarak anın tadını çıkarmak ve ek olarak küçük porsiyonlarda yemek yeme keyfini maksimum seviyeye çıkarmaktır. Bu noktada kişilerin bedenlerine de dikkati artacağından sezgisel yeme kavramıyla da uyumlu olarak açlık, tokluk hissine karşı da daha duyarlı olması beklenecektir.

Çizelge 2. Örnek beslenmede farkındalık egzersizi

Bir dahaki yemek yiyişinizde önünüzdeki gıdaların sadece birine odaklanın, seçtiğiniz gıdanın kompleksten ziyade sade bir aromaya sahip olması egzersizi daha efektif kılacaktır.

- İlk ısırıkta seçtiğiniz gıdanın tadına odaklanın.
- Sonra, ikinci yudumdayken çiğneme sırasında gıdanın tadının nasıl değiştiğine odaklanın ve kendinize sorun: Çiğneme süreci devam ettikçe gıdadan aldığınız keyif arttı mı azaldı mı yoksa aynı mı kaldı? Hangi noktadan itibaren gıdanın tadı kaybolmaya başladı?
- Sonraki yudumlarınızda da aldığınız her yudumda tadın nasıl değiştiğine odaklanmaya devam edin.

Bununla birlikte beslenmede farkındalık uygulamaları beslenmenin sadece gıda tüketim kısmını kapsamak zorunda değildir. Bu konuda Nelson (2017), Kabat-Zinn'in rehberliğinde gerçekleştirilen üzüm yemeye dair meditasyonu örnek verir (Çizelge 3). Söz konusu meditasyonda gıdanın tadının haricindeki duyulara hatta bilişe de hitabı söz konusudur. Bu açıdan söz konusu meditasyon beslenmenin, sadece yemenin ötesinde daha kapsamlı bir süreç olduğunu vurgulamaktadır.

### Beslenmede Farkındalığın Ölçülmesi

Yapılan çalışmalarda kişilerin beslenmede Farkındalıklarını ölçmek için kullanılan araçlardan Framson ve meslektaşları tarafından 2009 yılında hazırlanan Beslenmede Farkındalık Anketi (The Mindful Eating Questionnaire, MEQ) literatürde kavramı doğrudan ölçen tek ölçüt konumundadır.

Anket, dörtlü likert ölçeği şeklinde düzenlenmiş 28 madde ve 5 alt faktörden oluşmaktadır. Söz konusu alt faktörler, disinhibisyon (disinhibition), farkındalık (awareness), dış etkenler (external cues), duygusal cevap (emotional response) ve dikkat dağılması (distraction) şeklindedir. Söz konusu çalışmada ve bunun üzerine ileriki çalışmalarda, anketin güvenilirliğinin (Cronbach Alpha skoru) istatistiki olarak kabul edilebilir seviyede olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmalara Köse ve Arkadaşları tarafından 2016 yılında MEQ'in Yeme Farkındalığı Ölçeği adı altında Türkçe uyarlaması da dahildir. Bununla birlikte anketin Türkçe çevirisi, Türk kültürüne uygun olarak 7 alt-faktör altında toplanmış (Disinhibisyon, Duygusal Yeme, Yeme Kontrolü, Odaklanma, Yeme Disiplini, Farkındalık ve Enterferans) ve madde sayısı 30'a çıkarılmıştır (Köse, 2016 ve 2020; Köse ve Ark., 2016; Köse

ve Çıplak, 2020). Bu ölçek kullanılarak Kuseyri ve Kızıltan (2019) tarafından Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimler Fakültesi üniversite öğrencileri üzerinde gerçekleştirilen çalışmada katılımcıların yeme farkındalığı ve beden kütle indeksleri (BKİ) arasında istatistiksel olarak önemli negatif bir korelasyon bulunmuştur. Aynı doğrultuda obez olarak sınıflandırılan kişilerde yeme farkındalığının daha düşük olduğu not edilmiştir.

Ayrıca bir not olarak Durukan ve Gül tarafından (2019) yapılan çalışma MEQ'in Türkçe çevirisi ile BKİ arasında istatistiksel olarak önemli bir bağ bulmuştur ( $p<.00$ ,  $P <0.05$ ). Söz konusu bulgu, anketin güvenilirliğini arttırmanın yanında yazarlar tarafından da not edildiği üzere beslenmede farkındalığın uzun süreli kilo kontrolünde önemli bir etken olabileceğine işaret etmektedir.

Çizelge 3. Örnek rehberli beslenmede farkındalık egzersizi

Üzümü yemeden önce:
<ul style="list-style-type: none"><li>- Üzümü elinize alın ve hemen ağızınıza atmadan hemen önünüzde tutun.</li><li>- Bir an için dünyaya ilk defa geldiğinizi, dünyada hiçbir deneyiminiz olmadığını ve her şeyin sizin için yeni olduğunu varsayın. Dolayısıyla kendinizi deneyimden, bilgiden ve bunlardan kaynaklanan yargı, korku ve beklentilerden arındırmaya çalışın.</li><li>- Bu süreçte derin nefesler alarak sakinleşin ve bütün odağınızı elinizdeki üzüme getirin.</li><li>- Şimdi, üzümü elinizde tutarken önce ağırlığını inceleyin.</li><li>- Yüzeyini inceleyerek hem yüzeyinin görüntüsünü hem de hissiyatına odaklanın.</li><li>- Üzümü burnunuza yaklaştırarak koklayın.</li><li>- Üzümü parmaklarınız arasında dolaştırarak, ortaya çıkan sese dikkat edin, elinizden kayan dokusuna dikkat etmeye çalışın.</li><li>- Bu sırada üzüme dair deneyimlerinizin, duyumlarınızın ne olduğu ve bu sürede hislerinizin nasıl değiştiğini fark etmeye çalışın.</li></ul>
Üzümü yerken:
<ul style="list-style-type: none"><li>- Üzümü yemeden hemen önce bir iki saniye için dudaklarınızın arasında tutarak bedeninizde olan değişimleri gözlemleyin.</li><li>- Üzümü ağızınıza aldığınızda hemen çiğnemeyerek bir süre ağızınızda dolaştırın ve tadıyla yine bedeninizin verdiği tepkiye odaklanın.</li><li>- Üzümünden ilk başta küçük bir ısırık alıp sonrasında çiğnerken bu ilk an ile çiğnemenin devamında üzümün duyularınızdaki ve düşüncelerinizdeki değişime dikkat edin. Tat çiğneme süresince nasıl değişti? Üzüm açlık ve tokluk hissinize nasıl etki etti?</li><li>- Meditasyonun etkisini maksimuma çıkarmak için üzümü yutmadan önce iyice çiğnediğinizden emin olun.</li></ul>
Üzümü yedikten sonra:
<ul style="list-style-type: none"><li>- Üzümü yuttuktan sonra gözlerinizi bir süre için kapatarak bu deneyimin sizde yarattığı değişime odaklanın.</li></ul>

## SONUÇ

Yapılan araştırma sayısı ve bu çalışmalarda işaret edilen bilimsel öğeler, farkındalığın insan hayatına olan istatistiksel olarak önemli etkisini göstermektedir. Farkındalık insanların depresyon, kronik kaygı gibi klinik problemlerin yanında

problem çözme, duygu regülasyonu gibi sıklıkla karşılaşılan ruhsal ve bilişsel sorunlarla baş etmesine yardımcı olarak kişilerin daha ana odaklı ve bilinçli şekilde yaşamasına yardımcı olmuştur (Deliperi vd., 2011; Desbordes vd., 2012; Warren vd., 2017). Farkındalık üzerine yapılan çalışmalarla

kıyaslandığında beslenmede farkındalık çalışmalarının sayıca oldukça az olduğu gözlemlenebilir. Bu çalışmalara bakarak ilk olarak incelenen makaleler, beslenmede farkındalık bir parçası olmak üzere farkındalığın insanların yeme davranışlarını değiştirebileceğine dair makul kanıtlar sunmaktadır. Bununla birlikte beslenmede farkındalık uygulamalarının kişilerin ruhsal sağlıklarına olumlu etkide bulunduğu not edilmiş, kişiler genel farkındalık ve beslenmede farkındalık uygulamalarının gıda seçimlerine etkisi olduğunu belirtmiştir. Maalesef beslenmede farkındalığın kilo verme üzerine etkisini inceleyen çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Ek olarak beslenmede farkındalık ile ilgili çalışmaların çoğunluğunun obez kişiler üzerinde yapılması sonuçları topluma genelleyebilmeyi zorlamaktadır. Türk popülasyonunu kapsayan çalışmalarda benzer şekilde bilgilendirici olsa da beslenmede farkındalık ve Türk toplumu arasındaki muhtemel bağları araştırmak için gelecek araştırmalar önem arz etmektedir. Diğer bir önemli nokta da ölçüm aletlerinin çeşitlendirilmesi gerekliliğidir. Literatür incelendiğinde Türkiye’de ve Dünya genelinde MEQ beslenmede farkındalık için en sık başvurulan ölçüt konumundadır. Bu ölçütün kişilerin raporlarına dayanması yanlılığa (bias) açık olması anlamına gelmektedir (Baer vd., 2006). Buna bağlı olarak kişilerin beslenmede farkındalık seviyelerini anlamak için söz konusu anket ve gelecektekiler nörobilimsel çalışmalar gibi tamamlayıcı fiziksel veriler ile desteklenmelidir.

Bu çalışmayla da gelecekte yapılabilecek çalışmalar için Türk beslenme ve psikoloji literatürüne katkı sağlamak amaçlanmıştır. Ayrıca bu çalışmayla modern yaşamla artan farkında olmama halinin beslenme üzerindeki etkisi gösterilmeye çalışılarak, gelecekte yine bu alanda yapılacak çalışmaların ve uygulamalarının önemi vurgulanmak istenmiştir.

#### KAYNAKLAR

Abdul Basir, S. M., Abdul Manaf, Z., Ahmad, M., Abdul Kadir, N. B., Ismail, W. N. K., Mat Ludin, A. F., Shahar, S. (2021). Reliability and Validity of the Malay Mindful Eating Questionnaire (MEQ-M) among Overweight and Obese Adults. *Int J*

*Environ Res Public Health*, 18(3), 1021., doi:10.3390/ijerph18031021

Anon (2010). Mindful Eating Discovering a Better Relationship with Your Food, University of Wisconsin Integrative Medicine Department of Family Medicine.

Anon (2011). Diabetes: Mindful eating, University of Michigan, Comprehensive Diabetes Center.

Anon (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders, Am Psychiatr Assoc, 5th edition (DSM-IV), text rev. Washington, DC.

Anon (2020). 8 steps to mindful eating, *Harv Health*. <https://www.health.harvard.edu/staying-healthy/8-steps-to-mindful-eating>. (Erişim tarihi: 25.07.2021)

Baer R. A., Smith G. T., Hopkins J., Krietemeyer J., Toney L. (2006). Using self-report assessment methods to explore facets of mindfulness. *Assess*; 13(1): 27-45.

Burton, E. T., Smith, W. A. (2020). Mindful Eating and Active Living: Development and Implementation of a Multidisciplinary Pediatric Weight Management Intervention. *Nutr*, 12(5), 1425. <https://doi.org/10.3390/nu12051425>

Choi, S., Lee, H. (2020). Associations of mindful eating with dietary intake pattern, occupational stress, and mental well-being among clinical nurses. *Perspect Psychiatr Care*, 56(2), 355-362. <https://doi.org/10.1111/ppc.12441>

Compton, W. C., Hoffman, E. (2018). Positive psychology: The science of happiness and flourishing (3rd ed.). Thousand Oaks, Canada: *SAGE Pub*.

Dalen, J., Smith, B. W., Shelley, B. M., Sloan, A. L., Leahigh, L., Begay, D. (2010). Pilot study: Mindful Eating and Living (MEAL): weight, eating behavior, and psychological outcomes associated with a mindfulness-based intervention for people with obesity. *Elsevier*, 18:260-264

Desbordes G., Negi L. T., Pace T. W., Wallace B. A., Raison C. L., Schwartz E. L. (2012). Effects of mindful-attention and compassion meditation training on amygdala response to emotional stimuli in an ordinary, non-meditative state. *Front*

- Hum Neurosci* 6:292. doi:10.3389/fnhum.2012.00292
- Dunn, C., Olabode-Dada, O., Whetstone, L., Thomas, C., Aggarwal, S., Nordby, K., Thompson, S., Johnson, M. (2018). Mindful Eating and Weight Loss, Results from a Randomized Trial, *J Fam Med Community Health*, 5(3): 1152, 7 s.
- Durukan, A., Gül, A. (2019). Mindful eating: Differences of generations and relationship of mindful eating with BMI. *Int J Gastronomy Food Sci*, 18, p.100172.
- Erickson, M. (2020). Eating while distracted: How to break the habit of 'zombie eating'. <https://www.jdnews.com/news/20190919/eating-while-distracted-how-to-break-habit-of-zombie-eating> (Erişim Tarihi: 18.04.2021)
- Fletcher, M. (2014). Starting a Mindful Eating Practice, The Center for Mindful Eating. [www.thecenterformindfuleating.org](http://www.thecenterformindfuleating.org), (Erişim tarihi: 22.06.2021)
- Framson, C., Kristal, A. R., Schenk, J. M., Littman, A. J., Zeliadt, S., Benitez, D. (2009). Development and validation of the mindful eating questionnaire. *J Ame Diet Assoc*, 109(8), 1439–1444. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2009.05.006>
- Gervis, Z. (2020). 88 percent of Americans are zombie eaters who can't munch without staring at a screen. <https://www.swnsdigital.com/2019/07/88-percent-of-americans-are-zombie-eaters-who-cant-munch-without-staring-at-a-screen/> (Erişim Tarihi: 18.04.2021)
- Gidugu, V., Jacobs, M. L. (2019). Empowering individuals with mental illness to develop healthy eating habits through mindful eating: results of a program evaluation, *Psychol Health Med*, 24 (2):177–186
- Grecucci, A., Pappaianni, E., Siugzdaite, R., Theuninck, A., Job, R. (2015). Mindful Emotion Regulation: Exploring the Neurocognitive Mechanisms behind Mindfulness. *Biomed Res Int*, 2015, 670724. doi:10.1155/2015/670724
- Hanh, T. N., Cheung, L. (2015). *Savor: Mindful Eating, Mindful Life*. HarperCollins Pub, New York (NY).
- Hong, P., Lishner, D., Han, K., Huss, E. (2011). The Positive Impact of Mindful Eating on Expectations of Food Liking. *Mindfulness*, 2(2), 103-113. <https://doi.org/10.1007/s12671-011-0048-3>
- Hudnall, M. (2019). Mindful Eating in Nutrition Counseling for Eating Behaviors: What Research Suggests, Today's Dietitian, *The Mag Nutr Prof*, 18.
- Ives-Deliperi, V. L., Solms, M., Meintjes, E. M. (2011) The neural substrates of mindfulness: an fMRI investigation. *Soc Neurosci*, 6, 231–242
- Janssen, L., Duif, I., van Loon, I., de Vries, J., Speckens, A., Cools, R., Aarts, E. (2018). Greater mindful eating practice is associated with better reversal learning, *Sci Rep*, 8(1), <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24001-1>
- Jensen M. L., Dillman Carpentier, F., Corvalán C. (2020). Screen time and eating during screen time: associations with dietary intake in children and adolescents, 20 January 2020, preprint (Version 1) *Res Square* [<https://doi.org/10.21203/rs.2.21352/v1>]
- Kabat-Zinn J (1991). Full Catastrophe Living. New York, N.Y, *Dell Pub*.
- Kerin, J., Webb, H., & Zimmer-Gembeck, M. (2019). Intuitive, mindful, emotional, external and regulatory eating behaviours and beliefs: An investigation of the core components. *Appetite, Elsevier*, 132, 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2018.10.011>
- Kidwell, B, Hasford, J., Hardesty, D. (2015). Emotional ability training and mindful eating. *J Marketing Res* LII, 105–119
- Köse, G. (2016). Yeme Farkındalığı Ölçeği. TOAD Türkiye Ölçme Araçları Dizini. <https://toad.halileksi.net/olcek/yeme-farkindaligi-olcegi-yfo-30> (Erişim tarihi: 17.06.2021)
- Köse, G. (2020). Can Mindful Eating Help Us When We Struggle With Eating? Mindful Eating Replaces Diets. *Turk J Sport Exercise*, 22 (1): 72-77.

- Köse, G., Çıplak, E. (2020). Mindful eating questionnaire: eating control, emotional eating and conscious nutrition trio, *Prog Nutr*; Vol. 22, N. 2, 7.
- Köse, G., Tayfur, M., Birincioğlu, İ., Dönmez, R. A. (2016). Yeme Farkındalığı Ölçeğini Türkçeye Uyarlama Çalışması. *Bilişsel Davranışçı Psikoterapi ve Araştırmalar Derg*, 3(3): 125-134. doi:10.5455/JCBPR.250644
- Kristeller J. (2015). *The Joy of Half a Cookie*. New York, N.Y., *Perigee*
- Kristeller, J. L., Epel, E. (2014). Mindful eating and mindless eating: The science and the practice, in A. le, C. T. Ngnoumen, & E. J. Langer (Eds.), *The Wiley Blackwell handbook of mindfulness*, s. 913–933. *Wiley Blackwell*. <https://doi.org/10.1002/9781118294895.ch47>
- Kristeller, J. (2021). Know Your Hunger. <https://www.balancedlivingpsychology.com/media-podcasts-2/mindful-eating-by-mb-eat-founder-jean-kristeller/> (Erişim tarihi: 29.07.2021)
- Kristeller, J., Wolever, R. Q., Sheets, V. (2014). Mindfulness-Based Eating Awareness Training (MB-EAT) for Binge Eating: A Randomized Clinical Trial. *Mindfulness*, 5, 282–297. <https://doi.org/10.1007/s12671-012-0179-1>
- Kuseyri G., Kızıltan G. (2019). Üniversite Öğrencilerinde Yeme Farkındalığı ve Sezgisel Yeme Davranışının Beslenme Durumu Üzerine Etkisi, *Baskent Univ Sağlık Bilim Fakül Derg*, 4(3), s. 202-2019.
- Langer, E. J., Moldoveanu, M. (2000). The construct of mindfulness. *J Soc Issues*, 56(1), s. 1–9. <https://doi.org/10.1111/0022-4537.00148>
- Lofgren, I. E. (2015). Mindful Eating: An Emerging Approach for Healthy Weight Management, *Ame J Lifestyle Med*, 9(3): s. 212-216.
- Mantzios, M., Wilson, J. C. (2015). Mindfulness, Eating Behaviours, and Obesity: A Review and Reflection on Current Findings. *Curr Obes Rep*, 4(1), s. 141–146. <https://doi.org/10.1007/s13679-014-0131-x>
- Miller C. K. (2017). Mindful Eating With Diabetes. *Diabetes Spectrum: Am Diabetes Assoc*, 30(2), s. 89–94. <https://doi.org/10.2337/ds16-0039>
- Nelson J. B. (2017). Mindful Eating: The Art of Presence While You Eat. *Diabetes Spectrum: Am Diabetes Assoc*, 30(3): 171–174. <https://doi.org/10.2337/ds17-0015>
- Pearson, N., Griffiths, P., Biddle, S., Johnston, J., McGeorge, S., Haycraft, E. (2017). Clustering and correlates of screen-time and eating behaviours among young adolescents, *BMC Pub Health*, 17(1), <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4441-2>
- Pintado-Cucarella, S., Rodríguez-Salgado, P. (2016). Mindful eating and its relationship with body mass index, binge eating, anxiety and negative affect, *J Behav Health Soc Issues*, 8, s. 19–24
- Powell, A. (2018). When science meets mindfulness. *Harv Gazte*. (Erişim tarihi: 26.07.2021)
- Schuman-Olivier, Z., Trombka, M., Lovas, D. A., Brewer, J. A., Vago, D. R., Gawande, R., Dunne, J. P., Lazar, S. W., Loucks, E. B., Fulwiler, C. (2020). Mindfulness and Behavior Change. *Harv Rev Psychiatr*, 28(6):371–394. <https://doi.org/10.1097/HRP.0000000000000277>
- Shapero, B. G., Greenberg, J., Pedrelli, P., de Jong, M., Desbordes, G. (2018). Mindfulness-Based Interventions in Psychiatry. *Focus (Am Psychiatr Pub)*, 16(1): 32–39. <https://doi.org/10.1176/appi.focus.20170039>
- Tronieri, J., Wadden, T., Pearl, R., Berkowitz, R., Alamuddin, N., Chao, A. (2020). Mindful Eating, General Mindful Awareness, and Acceptance as Predictors of Weight Loss. *Mindfulness*, 11(12): 2818-2827. <https://doi.org/10.1007/s12671-020-01493-5>
- Turan, S., Poyraz, C. A., Özdemir, A. (2015). Binge Eating Disorder/ Tikanırcasına Yeme Bozukluğu. *Curr Approaches Psychiatr*, 7(4): 419. <https://link.gale.com/apps/doc/A558921391/AONE?u=anon~13b44af1&sid=googleScholar&xid=b030c6e5>



Warren, J., Smith, N., Ashwell, M. (2017). A structured literature review on the role of mindfulness, mindful eating and intuitive eating in changing eating behaviours: Effectiveness and associated potential mechanisms. *Nutr Res*

*Rev*, 30(2): 272-283.  
S0954422417000154

doi:10.1017/

# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Akbulut Çakır, Ç., Bozkurt, A. *Effect of mineral salt replacers on the physicochemical, microbial and sensory properties of yogurt drink, ayran* / Mineral tuz ikame maddelerinin ayranın fizikokimyasal, mikrobiyal ve duyuşsal özellikleri üzerine etkisi ..... 1386-1396
- Leyluhan Yurtseven, B., Çıkrıkçı Erünsal, S., Öztop, M.H. *Investigation of several factors on enzymatic hydrolysis of sugar beet pulp and corn cob: Statistical analyses of the experimental results* / Şeker pancarı küşesi ve mısır koçanının enzimatik hidrolizinde farklı faktörlerin etkisinin incelenmesi: Deney sonuçlarının istatistiksel analizleri ..... 1369-1385
- Sallan, S., Kaban, G., Kaya, M. *Effects of black pepper and sodium ascorbate on volatile compounds of sucuk* / Karabiber ve sodyum askorbatın sucuğun uçucu bileşikleri üzerine etkileri ..... 1358-1368
- Çorapçı, B. *Quality of black scorpionfish (scorpaena porcus, linnaeus 1758) meat cooked in different cooking materials* / Farklı pişirme materyalleri içinde pişirilen iskorpit balığı (*Scorpaena porcus*, Linnaeus 1758) etinin kalitesi ..... 1415-1424
- Coşansu, S., Toupal, S., Aslan, Ö. *Growth kinetics and survival of Lactobacillus acidophilus in black rice milk Lactobacillus acidophilus'un siyah pirinç sütünde gelişme kinetiği ve canlılığı* ..... 1440-1449

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Yüksekdağ, H., Yüksekdağ, Z. *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus zn541 ve Streptococcus thermophilus z1052 suşlarında beta galaktozidaz aktivitesi ve optimizasyon* / Beta galactosidase activity in Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus zn541 and streptococcus thermophilus z1052 strains and optimization ..... 1331-1342
- Gürer, B. *Türkiye'de nüfusun yeterli ve dengeli beslenmesi açısından hayvansal gıda arz ve talebinin değerlendirilmesi* / Evaluation of the supply and demand for animal products in terms of sufficient and balanced nutrition in Turkey ..... 1450-1466
- Fincan, M., Çiftçi, Y. *Vurgulu elektrik alan ön işlemleri ile dereotundan fenoliklerin ekstraksiyonu: Dondurup çözündürme, ısı işlemi, mikrodalga ön işlemleri ve solvent ekstraksiyonu ile karşılaştırılması* / Extraction of phenolics from dill leaf with pulsed electric field pretreatment: Comparison with freeze than, heat treatment, microwave pretreatments and solvent extraction ..... 1343-1357
- Erkoç, S., Özcan, İ., Özyiğit, E., Kumcuoğlu, S., Tavman, Ş. *Yumurta ikamesi olarak kullanılan çiya ve keten tohumu jelinin pankek hamuru reolojisi ve ürün özellikleri üzerine etkisinin incelenmesi* / Investigation of the effects of chia and flaxseed gel used egg replacers on pancake batter rheology and product properties ..... 1397-1414
- Kaya, B., Zorba, N. N., Caner, C. *Kitosan bazlı etil pirüvat filmlerin fizikokimyasal, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-quorum sensing özelliklerinin belirlenmesi* / Determination of physicochemical, antioxidant, antimicrobial and anti-quorum sensing properties of chitosan films incorporated with ethyl pyruvate films . 1425-1439
- Erinç, Ö., Erinç, H., Mert, B., Özbey, A. *Lityum klorit/dimetilaseta mit ortamında nanoselülozün asetik anhidrit ve farklı yağ asitleri ile esterifikasyonunun optimizasyonu* / Optimization of nanocellulose esterification with different fatty acids and acetic anhydride in lithium chloride/ dimethylacetamide medium ..... 1467-1480

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Salık, M., A., Çakmakçı, S. *Zeytin (Olea europaea L.) yaprağının fonksiyonel özellikleri ve gıdalarda kullanım potansiyeli* / Functional properties and usage potentials in food of olive (olea europaea L.) leaf ..... 1481-1493
- Saygı, Y. B., Saygı, I. *Beslenmede farkındalık* / Mindful eating ..... 1494-1504