

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 47

SAYI / NUMBER : 4

YIL / YEAR : 2022

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

Baş Editör / Editor-in Chief	Danışma Kurulu / Advisory Board
ÇAKIR, İbrahim; Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey	Akköse, Ahmet; <i>Atatürk University, Turkey</i> Ank, Gökşen G.; <i>Balıkesir University, Turkey</i> Atalar, İlyas; <i>Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> Baysal, A. Handan; <i>İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey</i> Bezirtzoglou, Eugenia; <i>Democritus University of Thrace, Greece</i> Bozkur, Hamza; <i>Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey</i> Çilak, Gizem Ö.; <i>Hitit 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>Neuşehir 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 İ.; <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> Kuleaşan, Hakan; <i>Süleyman Demirel University, Turkey</i> Meral, Raciye; <i>Yüzyüncü Yıl University, Turkey</i> Mete, Aylin A.; <i>Mersin University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Muhtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Mutlu, Türkan K.; <i>Çukurova University, Turkey</i> Öztürk, Fatma; <i>Kâtip Çelebi University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Sarı, Ferda; <i>Cumhuriyet University, Turkey</i> Şengün, İlkin Y.; <i>Ege University, Turkey</i> Soyer, Yeşim; <i>Orta Doğu Teknik University, Turkey</i> Toğay, Sine Ö.; <i>Bursa Uludağ University, Turkey</i> Toker, Ömer S.; <i>Yıldız Teknik University, Turkey</i> Velioglu, Murat; <i>Namık Kemal University, Turkey</i> Yemiş, Gökçe P.; <i>Sakarya University, Turkey</i> Yolaçaner, Elif; <i>Hacettepe University, Turkey</i> Yorulmaz, Aslı; <i>Adnan Menderes University, Turkey</i> Zorba, Murat; <i>Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey</i>
Editörler / Editors AVCI, Ayşe; <i>Sakarya University, Turkey</i> ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; <i>Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey</i> DEMİRKESEN, Mert; <i>İlkem, Ministry of Agriculture and Forestry, Turkey</i> DEMİROK SONCU, Eda; <i>Ankara University, Turkey</i> ERİNÇ, Hakan; <i>Niğde Ömer Halisdemir 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> YILMAZ, Merve Silanır; <i>Bitlis Eren University, Turkey</i>	
Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org	
Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli	
Hazırlayan / Prepared Sim Ajans 19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com	
Yayın Tarihi / Publication Date 15 08 2022	

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)

Sayın-Börekçi, B., Kaban, G., Kaya, M. *Functional and technological properties of Candida zeylanoides strains isolated from pastırma / Pastırmadan izole edilen Candida zeylanoides suşlarının fonksiyonel ve teknolojik özellikleri*564-575

Donmez, A., Sahin, S.N., Cikrikci-Erünsal, S. (2022). *Impact of locust bean gum / xanthan gum addition on new generation snack design from carob fruit byproducts / Keçiboynuzu gamı / ksantan gamı ilavesinin keçiboynuzu meyvesi yan ürünlerinden elde edilmiş yeni nesil atıştırmalık tasarımına etkisi* 690-704

Öztürk, H.İ. *Evaluation of physicochemical and sensorial properties in reconstituted ayran drinks from yogurt powders lyophilized under different vacuum pressures / Farklı vakum basınçlarında liyofilize edilen yoğurt tozlarından rekonstitüye edilmiş ayranlarda fizikokimyasal ve duyuşsal özelliklerin değerlendirilmesi*705-715

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Doğan-Özsungur, E., Kanca, N., Gürsoy, A. *Farklı oranlarda yayıkaltı tozu kullanılarak üretilen dondurmaların bazı özellikleri / Some properties of ice cream produced with different ratios of buttermilk powder* 591-603

Abacı, Z.M., Uluata, S. *Omega-3 yağ asidi nanoemülsiyonlarının farklı koşullarda fiziksel stabilitelelerinin belirlenmesi / Determination of physical stability of omega-3 fatty acid nanoemulsions at different conditions* 616-629

Karaman, Ç., Kumcuoğlu, S., Kaya-Bayram, S., Tavman, Ş. *Tavuk sternumundan enzimatik hidrolizasyon ile glikozaminoglikan (GAG) üretimi ve işlem parametrelerinin optimizasyonu / Production of glycosaminoglycan (GAG) from chicken sternum by enzymatic hydrolysis and optimization of process parameters* 650-662

Polat Yemiş, G. *Vanilin ve nisin in Listeria monocytogenes üzerine inhibisyon etkisinin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi / Determination of inhibitory effect of vanillin and nisin on Listeria monocytogenes by response surface methodology* ... 679-689

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Öztürk, N., Eyiler-Kaya, E. *Popüler mantarların besin değerleri ve sağlık üzerine etkileri / Nutritional values and health effects of popular mushrooms* 539-563

Savlak, N., Çağındı, Ö., Dedeoğlu, M., İnce, C., Köse, E. *Türkiye'de ve dünyada takviye edici gıdalara genel bir bakış / An overview of the dietary supplements in Turkey and the world* 576-590

Nakilcioğlu, E., Nurko, E. *Kovandaki gizli mucize: Arı poleni ve arı ekmeği ile gıdaların zenginleştirilmesi / The hidden miracle in the hive: Foods enriched with bee pollen and bee bread* 604-615

Işık, S., Işık, H., Aytemiş, Z., Güner, S., Aksoy, A., Çetin, B., Topalcengiz, Z. *Mikroyeşillikler: Besinsel içeriği, sağlık üzerine etkisi, üretimi ve gıda güvenliği / Microgreens: Nutritional content, health effect, production, and food safety* 630-649

Ankaralıgil, P., Hakgüder-Taze, B. *Vurgulu ışık ile işlenen meyve ve sebze sularının kalitesi / Quality of fruit and vegetable juices treated by pulsed light* 663-678



POPÜLER MANTARLARIN BESİN DEĞERLERİ VE SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Nurhan Öztürk*, Esen Eyiler Kaya

Akdeniz Üniversitesi, Korkuteli Meslek Yüksekokulu, Antalya, Türkiye

Geliş / Received: 23.02.2022; Kabul / Accepted: 27.05.2022; Online baskı / Published online: 21.06.2022

Öztürk, N., Eyiler-Kaya, E. (2022). Popüler mantarların besin değerleri ve sağlık üzerine etkileri. *GIDA* (2022) 47 (4) 539-563 doi: 10.15237/ gida.GD22027

Öztürk, N., Eyiler-Kaya, E. (2022). Nutritional values and health effects of popular mushrooms. *GIDA* (2022) 47 (4) 539-563 doi: 10.15237/ gida.GD22027

ÖZ

Mantarlar besin içeriği bakımından zengin bir besin kaynağı oldukları için günümüzde daha yeni yeni talep gören gıda ürünleri arasında yer almaktadır. Besin içerikleri açısından, mantarlar enerji ve yağ bakımından fakir buna karşın protein, karbonhidrat ve diyet lifi bakımından zengindir. Özellikle dengeli aminoasit içerikleri sayesinde vegan ve vejeteryan beslenme tarzına sahip kişiler tarafından tercih edilmektedir. Derleme kapsamında; dünya ve Türkiye genelinde en çok yetiştirilen ve tüketilen mantarların taksonomik isimlendirmesi, tür bakımından özellikleri ve besin içerikleri gibi mantarları tanımlayıcı özellikleri literatürdeki çalışmalarla desteklenerek sunulmuştur. Bunun yanı sıra alternatif mantar türleri tanıtılmış ve alternatif besin olarak kullanılmasının önemi vurgulanmıştır. Bu çalışma doğrultusunda besin içeriği ve sağlığa faydalı ürünler olması bakımından kişi başına düşen mantar tüketiminin artmasına katkıda bulunması hedeflenmiştir.

Anahtar kelimeler: Mantarlar, *Agaricus bisporus*, *Pleurotus*, *Lentinula edodes*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*

NUTRITIONAL VALUES AND HEALTH EFFECTS OF POPULAR MUSHROOMS

ABSTRACT

Since mushrooms are a rich source of nutrients, they are among the food products that are in demand today. In terms of their nutritional content, mushrooms are low in energy and fat, but high in protein, carbohydrates, and dietary fiber. It is especially preferred by people with a vegan and vegetarian diet, thanks to its balanced amino acid content. Within the scope of the review, the taxonomic nomenclature of the most grown and consumed mushrooms in the world and in Turkey, their characteristics in terms of species and their nutritional content, are presented by supporting the studies in the literature. In addition, alternative mushroom species were introduced and the importance of using them as an alternative food was emphasized. In line with this study, it is aimed to contribute to the increase of mushroom consumption per capita in terms of nutritional content and health benefits.

Keywords: Mushrooms, *Agaricus bisporus*, *Pleurotus*, *Lentinula edodes*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: ozturkn@akdeniz.edu.tr

☎: (+90) 242 643 50 00-8227

☎: (+90) 242 643 50 05

Nurhan Öztürk; ORCID no: 0000-0002-4395-7780

Esen Eyiler Kaya; ORCID no: 0000-0002-4025-4656

GİRİŞ

Mantarlar; çoğu çok hücreli ve tek hücreli ökaryotik, çıplak gözle görülebilen ve gelişmiş türleri elle toplanabilecek kadar büyük, belirgin gövdelere sahip yapılardır (Chang ve Miles 1992). Mantarları yenilebilirlik durumlarına göre kategorilere ayırırken genellikle: yenilebilir (yemelik) mantarlar; tıbbi mantarlar ve zehirli mantar türleri olarak gruplandırmak mümkün olmaktadır. Yenilebilir mantarların karpofor veya basidiokarp (yenilebilir kısmı; sap, şapka yapıları) kısımları taze olarak, kurutulularak, dondurularak, konserve yapılarak veya farklı değerlendirme şekilleri kullanılarak muhafaza edilmekte ve tüketilmektedir (Wasser 2010).

Dünyadaki mantar üretim oranında en büyük pay ile ilk sıralarda Çin, Japonya A.B.D, ve Polonya yer almaktadırlar (FAO 2021). Ülkemizde son 40 yıl içindeki kültür mantarı üretimine bakıldığında 1983 yılında yılında üretim miktarı 1400 ton iken, 2018 yılı sonunda üretim miktarı 65 bin tona yükselmiştir. 1980'li yıllarda üretim büyük oranda küçük aile işletmelerinde yapılırken, günümüzde ise üretimin %35'lik kısmı günlük 1000-9000 kg arasında değişen mantar üretim miktarı elde edilen modern tesislerde gerçekleşmektedir (Eren ve Pekşen, 2019). Dünya da ise mantar yetiştirme ve tüketim kültürü Çin, Japonya, Kore, Tayland, Amerika'da daha gelişmiş ve yaygınlaşmıştır (Feeney ve Beelman, 2004). Çin, Avrupa ve Amerika Birleşik Devletlerinin üretim miktarları dünyada ki üretim miktarının %95'ini oluşturmakta ve ülkeler arasında Çin, %77 mantar üretim payı ile lider ülke konumundadır (Eren ve Pekşen, 2019; FAO, 2019). Dünya mantar üretimi 1961 yılında yaklaşık 495 bin ton iken 2019 yılında bu miktarın yaklaşık 12 milyon tona yükselmiştir. Türkiye'de ise mantar üretim miktarı yaklaşık 49 bin tondur (FAO, 2021). Verilerden de görüleceği üzere tüm Dünya ile karşılaştırıldığında Türkiye de mantar üretim ve buna bağlı olarak da tüketim oranları oldukça düşüktür.

Besinsel olarak mantarlar, zengin protein, ham lif, mineraller, vitaminler, esansiyel amino asitler, monosakkaritler, disakkaritler, glikojen, alkoller ve kitin içeriğine sahip, ancak lipid kaynağı olarak zayıfturlar (Park ve Kwang, 2001). Mantar türleri

ayrıca kalsiyum, magnezyum, fosfor, potasyum, demir, çinko, bakır ve manganez gibi birçok mineralide içermektedir. Bu özelliklerinin yanında düşük kalorili olması, diyet ürünü olarak kullanımına olanak sağlamaktadır (Selvi ve ark., 2007). Ayrıca hayvansal gıdalardaki proteinlerde bulunan temel aminoasitleri içermesiyle de vejetaryen ve/veya vegan beslenme türünü tercih edenler için oldukça faydalı ve alternatif besin maddesi özelliği taşımaktadırlar (Verma ve ark., 1987). Et içeren yemeklerin tüketilmesi yerine aynı hacimde mantar içeren yemeklerin tüketilmesi ile hem daha fazla besinsel lif alındığı hemde aynı oranda doygunluk hissinin oluştuğu, kalori miktarının da mantar içeren yemeklerde daha düşük olduğu bildirilmektedir (Cheskin ve ark 2008).

Mantar türlerindeki en önemli besin maddesi olan protein içerikleri ile hayvansal besinlerdeki proteinler benzer aminoasit bileşimine sahip olmaktadır. Bu benzerlik açısından et, süt, yumurta gibi besinlere alternatif olarak gösterilmektedir. Doğal ortamlarda yetişen mantar türleri, kültüre alınan mantar türlerine kıyasla, daha zengin protein içeriğine ve daha fakir yağ miktarına sahiptirler (Ganesh ve ark., 2017). Çizelge 1'de derleme kapsamında incelenen tüm mantarların yetiştirildiği bölgeler ve mantarların bileşimi (Karbonhidrat, Protein, Yağ, Kül) ve içerdikleri vitamin ve mineraller ile ilgili bilgilere yer verilmiştir. Çizelge 1'de belirtilen bu değerler mantarların yetiştirildiği üretim materyallerine, doğadan toplanan mantarlarda ise toplandığı yükseklik ve toprağın özelliklerine göre değişkenlik gösterebilmektedir.

Mantarların besin olarak tüketilmelerinin yanı sıra birçok hastalığa örneğin kanser, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, insomnia, alerji, stres, astım, diyabet gibi hastalıkların önlenmesinde veya yavaşlatılmasında önemli bir etkiye sahip olduğu çalışmalarla ortaya konulmuştur (Feng et al., 2001, Jiskani 2001, Guillamón ve ark., 2010). Bu çeşitlilik ile yenilebilir mantarlardaki kimyasal bileşiklerin sağlığa yararlarının yanı sıra tıbbi amaçlı mantarlardaki biyoaktif kimyasal bileşenlerin önemini de ortaya çıkarmaktadır (Çağlarırnak 2011). Mantarlar, özellikle et ve etü

ürünlerine göre daha düşük maliyetli bir gıda olmaları ile yetersiz beslenme ile mücadelede önemli bir protein kaynağıdır. Ayrıca, kolesterolü düşürebildikleri, stresi ve bazı hastalıkları rahatlatılabildikleri düşünülmektedir (Bahl 1983). Bu çalışmada; doğada yetişen ve kültür ortamında yetiştirilen en popüler mantar türleri olan *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach 1946 (beyaz şapkalı mantar), *Auricularia auricula-judae* (Bull.) Qué. 1886 (wood ear, judae, jelly ear, kulak mantarı), *Boletus edulis* Bull. 1782 (Çörek mantarı), *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer 1951 (Enokitake, Enoki, kış mantarı), *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. 1881 (Reishi), *Griifola frondosa* (Dicks.) Gray 1821 (Maitake), *Hericiium erinaceus*

(Bull.) Pers. 1797 (Aslan yelesi), *Lactarius deliciosus* (L.) Gray 1821 (kanlıca mantarı, çıntar), *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler 1976 (shiitake, meşe mantarı), *Morcbella esculenta* (L.) Pers. 1794 (kuzugöbeği), *Pleurotus* spp. ((Fr.) P. Kumm. 1871 (Kayın mantarı), *Tuber* spp. (trüf mantarı) ve *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer 1951 (saman mantarı)'in (Sesli ve ark., 2020) tür özelliklerine, besin içeriklerine ve besinsel önemine değinilmiştir. Bu çalışmada amaç mantar türlerini tanıtmak ve yenilebilir mantarların tüketim oranının artırarak mantarın besin ürünleri arasında popülerliğini artırmaktır.

Çizelge 1 : Mantar Türlerine ait besin içerikleri

Mantar türü	Mantarın adı	Üretim	Mantarların Bileşimi	Kaynaklar
<i>Agaricus bisporus</i> (J.E. Lange) Imbach	Kültür mantarı, Çayır mantarı, Beyaz düğme mantarı	Kapalı alan kültürü ile dünyada 70 ülkede üretilmektedir.	%88-90 oranında su, B kompleks vitaminleri. Potasyum (K), Bakır (Cu), ergosterol (provitamin D2), yüksek protein, düşük yağ ve kolesterol.	MC 2007; Chang ve Miles, 2004; Beelman ve ark., 2004; Nölle ve ark. 2017.
<i>Auricularia auricula-judae</i> (Bull.) Qué	Orman Kulağı, Kulak Mantarı	Asya Ülkelerinde (Çin ve Güneydoğu Asya)	%12.5 protein, %1.7 yağ ve %66.1 gibi zengin bir oranda karbonhidrat (Üronik asit, Pektin, Kitin, Selüloz), Toplam aminoasit içeriğinin %34.7'sinin elzem aminoasitlerden oluşmakta, Makro minerallerden K, Ca, Mg, Na, P. Mikro elementlerden Fe ve Zn (50-200mg/kg), Co, Cr, Cu, Mn ve Ni (20mg/kg)	De Roman 2010; Kadnikova ve ark. 2015; Bandara ve ark. 2017.
<i>Boletus edulis</i> Bull	Çörek Mantarı, Porcini mantarı	İtalya, Doğu Avrupa, Çin, Güney Afrika ve Kuzey Amerika (Doğadan toplanmaktadır)	% 6-30 protein (Kuru ağırlıkta). Vitaminler: tiamin, riboflavin, askorbik asit, tokoferoller. Mineraller: potasyum (K) ve fosfor (P), Çözünür lif: %4.2 – 9.2, Çözünmeyen lif: %22.4 – 31.2	Watkinson ve ark., 2016, ark., 201; Manzi ve ark., 2001; Kalač, 2009.
<i>Flammulina velutipes</i> (Curtis) Singer	Enokitake, enoki, kış mantarı, altın iğne mantarı	Çin, Japonya, Kore, Tayvan kültüre alınabilmekte ve Ülkemizde doğada rastlanmaktadır.	Protein: %23.4 (kuru ağırlık). Karbonhidrat: %61.2 (kuru ağırlık), Yağ: %2.1 (kuru ağırlık). Mineral: Kalsiyum (Ca), Potasyum (K), Sodyum (Na), Magnezyum (Mg), Çinko (Zn). İz element olarak: Bakır (Cu), Manganez (Mn), Demir (Fe), Fosfor (P).	Chang ve Miles, 2004; Beluhan ve Ranogajec, 2011; Cohen ve ark 2014; Siwulski ve ark 2019.

Çizelge 1 : devam

Mantar türü	Mantarin adı	Üretim	Mantarların Bileşimi	Kaynaklar
<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst	Reishi mantarı, Ölümsüzlük mantarı	Çin, Kore ve Japonya	% 26–28 karbonhidrat, % 3–5 ham yağ, % 59 ham lif ve % 7-8 ham protein, %1.8 kül. Mineral: Potasyum (K), Kalsiyum (Ca),	Zhao ve Zhang, 1994; Mau ve ark., 2001.
<i>Grifola frondosa</i> (Dicks.) Gray	Kumotake (bulut mantarı) ve dans eden kelebek mantarı, Maitake.	Japonya, ABD, Çin	Protein: %27 (Kuru ağırlık). B1, B2, C, D Vitamileri ve niasin, magnezyum, demir, kalsiyum ve fosfor. Yüksek oranda doymamış yağ asidi.	Stamets, 2000; Stamets, 1993; Stott ve Mohammed, 2004.
<i>Hericium erinaceus</i> (Bull.) Pers	Aslanyelesı, Dedesakalı, Kirpi Mantarı	Kuzey Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Güney Batı İngiltere, Karadeniz, Sinop	Meyve gövdesinin kurutulmuş tozunun protein % 20, karbonhidrat %61, yağ %5, kül %7, aminoasit 14.3 mg/kg kuru ağırlık, Türün miseline ait protein %42, karbonhidrat %43, yağ %6, kül %4; amino asit 30.6 mg / g kuru ağırlık.	Abdulla ve ark., 2008; Cohen ve ark., 2014.
<i>Lactarius deliciosus</i> (L.) Gray	Kanlıca Mantarı	Afrika, Avustralya, Türkiye (Doğa mantarı olarak toplanmaktadır)	Karbonhidrat 66.61g; Yağ 4.82g; Protein 17.19g, Kül 8.62g (100g Kuru ağırlıkta). Çözünmeyen besinsel lif: 26.51 g/100g kuru ağırlık Çözünür besinsel lif: 5.30g(100g kuru ağırlık) Doymamış yağ asitlerince zengin (Oleik asit, Linoleik asit) Mineral: Magnezyum (Mg), Kalsiyum (Ca), Çinko (Zn), Manganez (Mn), Demir (Fe), Bakır (Cu)	Wisitrassameewong, 2016; Xu ve ark. 2019.
<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler	Shiitake; Meşe mantarı.	Çin, Japonya, Orta Doğu, Asya, Avrupa ve Amerika	Karbonhidrat %32.8 (KA), Protein %20.8 (Kuru ağırlık), Kül %6.84 (KA). Tüm temel aminoasitleri içermektedir. Mineraller: Fosfor (P), Demir (Fe), Kalsiyum (Ca), Vitaminler: B1, B2, B12, C, A ve E Ergosterol	Zhang ve ark, 2016; Ağaoglu ve ark., 1991; Wunjuntuk ve ark 2022.
<i>Morchella esculenta</i> (L.) Pers.	Kuzugöbeği	Hindistan, Pakistan, Türkiye, Çin, Japonya, ABD, Avrupa	Karbonhidrat: 74.55 (100g KA), Protein: 11.52 (100g KA), Yağ: 2.59 (100g KA), Vitaminler: B, A, C ve D Mineraller: Kalsiyum (Ca), Demir (Fe), Bakır (Cu), Çinko (Zn), Magnezyum (Mg), Manganez (Mn), Sodyum (Na), Fosfor (P), Selenyum (Se), Potasyum (K) En yüksek oranda bulunan doymamış yap asidi: Linoleik asit.	Nitha ve ark., 2013; Heleno ve ark. 2013; Erarslan ve ark., 2021.

Çizelge 1 : devam

Mantar türü	Mantarı adı	Üretim	Mantarların Bileşimi	Kaynaklar
<i>Pleurotus</i> spp.	Kayın, İstiridye, Kavak mantarı	Tüm Dünyada yetiştirilebilmektedir.	Karbonhidrat: % 40.13-46.2 (KA), ham protein: 25.63-44.3, (KA) % yağ: 0.95-3.16 mg/g (KA), Mineraller: Kalsiyum (Ca), Demir (Fe), Potasyum (K), Magnezyum (Mg), Fosfor (P) Vitaminler: B ₁ , B ₂ , B ₃	Cohen ve ark., 2002; Rabunathan ve Swaminathan, 2003;
<i>Tuber</i> spp.	Trüf Mantarı	Avrupa, Asya, Türkiye (Akdeniz Kuşağında)	Protein: %9, karbonhidrat: %7 mineral: %8	Saka ve ark., 2017; Türkoğlu, 2015.
<i>Volvariella volvacea</i> (Bull.) Singer	Saman Mantarı	Çin	Karbonhidrat: %8 (TM), Protein: %2.70, Kül: %2.17; Yağ: %1.99 Vitaminler: B ₁ , B ₂ , B ₃ , Biotin. C vitamini açısından zengin. Kadmiyum (Cd) ve Kurşun (Pb) gibi ağır metaller içerbilir	Elawati ve ark. 2022; Roy ve ark., 2014

*KA: Kuru Ağırlık, TM: Taze mantar

*Çizelgede verilen karbonhidrat, protein, yağ, mineral ve vitaminlerle ilgili değerler, mantarların yetiştirildiği üretim materyallerine, doğadan toplanan mantarlarda ise toplandığı yükseklik ve toprağın özelliklerine göre değişkenlik gösterebilmektedir.

***Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach**

Agaricus; *Basidiomycota* bölümü, *Agaricaceae* familyasının tip cinsidir ve 500'den fazla yenilebilir ve zehirli türü bulunmaktadır (Zhao ve ark., 2016). *Agaricus* türleri genellikle “çayır mantarı” olarak adlandırılan orman zeminlerinde, çimenlerde, tarlalarda, gübre yığınlarında ve ağaç kütüklerinde toprakta yetişen hem yenilebilir hem de zehirli taksonlar içeren karasal, saprofitik mantarlardır (He ve ark., 2018a). Dünyadan alınan kayıtlar, 500'den fazla *Agaricus* cinsi türünü temsil etmektedir (Zhao 2020). *Agaricus* cinsinin birçok türü vardır ve bunlardan *Agaricus campestris*, *Agaricus bisporus* ve *Agaricus bitorquis* en çok bilinen yenilebilir türlerdendir. *A. bisporus*, dünya çapında yaklaşık 70 ülkede yaygın olarak yetiştirilmektedir (Kuo 2018). *Agaricus* türlerinin önemli ölçüde ekolojik, beslenmeyle ilgili ve tıbbi ilgi alanları vardır, ancak çeşitliliğinin kapsamı bazı bölgelerde, özellikle de subtropikal ve tropik bölgelerde yeterince bilinmemektedir (Parra, 2013).

A. bisporus yenilebilir, oldukça besleyici ve yaygın olarak tüketilen bir mantar olarak kabul edilmekte ve beyaz düğme mantarı olarak bilinmektedir (Kerrigan 2016). *A. bisporus* ilk olarak 1600 yılında

Fransa'da yetiştirilmiştir (De Leon 2003). Fransız botanikçi Joseph Pitton de Tournefort, ilk kez 1707'de *A. bisporus*'un ticari yetiştiriciliği ile ilgili raporları sunmuştur (Spencer 1985). *A. bisporus* mantarının özelliklerine bakıldığında; parlak renkli olmayan beyaz şapka, çoğunlukla pembe veya açık yaşlandıkça koyulaşan kahverengi lamelleri ve sap üzerinde yaka kısmı ile karakterize edilmektedir (Kerrigan 2016).

A. bisporus, çeşitli lignoselülozik malzemeler üzerinde yetiştirilmektedir. Bu türün yetiştirilmesinde; tavuk, at veya güvercin gübresi, buğday, saman kalıntıları, yulaf (Andrade ve ark., 2013) ve kamış mahsulleri (Alkaişi ve ark., 2016); mısır koçanı (Chang ve Miles 2004), pekmez, buğday kepeği (Baysal ve ark., 2007), şeker kamışı küspesi (Simsek ve ark., 2008) gibi birçok bitki materyalleri kullanılmaktadır.

A. bisporus'un besin içeriği bakımından Çizelge 1'de belirtilenlerin yanında provitamin D₂ UV ışınlarının etkisi ile provitamin D₂ ve devamında gerçekleşen termal izomerizasyon ile D₂ vitaminine dönüşmektedir. Kültüre alınmış mantarlar ve özellikle *A. bisporus* üretimi esnasında gün ışığı görmediğinden D₂ vitamini

içermemektedir (Nölle ve ark. 2017). Philips ve Rasor (2013) tarafından gerçekleştirilen çalışmada tüketiciler tarafından da kolaylıkla uygulanabilecek şekilde pişirmeden önce 15 dk kadar bir süre gün ışığına tutulduğunda *A. bisporus*'da D₂ vitamini oranının arttığı bulunmuştur.

A. bisporus gıda olarak yaygın yetiştiriciliğinin yanında tıbbi bir kaynak olarakta kullanılmaktadır (Kerrigan 2016). Kanada Kanser Derneği *A. bisporus*, mantarının sağlık açısından faydalı bir besin olarak önermekte ve *A. bisporus*'un yapılan çalışmalar ile meme kanseri, prostat kanseri ve yüksek tansiyona karşı önleyici etkileri olduğunu ortaya koymaktadır (MC, 2007). *A. bisporus*'un meyve veren gövdelerinin İşlenmiş Gıdalar Araştırma Birimi (Processed Foods Research Uni: PFRU) tarafından önerilen dozlarda ultraviyole ışınlamasının kemik sağlığı için gerekli olan önemli miktarda D₂ vitamini birikimi sağladığı bildirilmiştir (Roberts ve ark., 2008). Ayrıca mikrobiyal istila ve tümör gelişimine karşı insan bağışıklığını ve savunma mekanizmalarını geliştirme potansiyeline sahip olmaktadır (Ren ve ark. 2008).

***Auricularia auricula-judae* (Bull.) Quél.**

Auricularia; *Basidiomycota* bölümü *Auriculariales* takımı *Auriculariaceae* familyasına ait bir cinstdir. *Auricularia* cinsi, kıtalar arası ve kozmopolit dağılımlara sahip, dünya çapında tanınan yaklaşık 15 türle temsil edilmektedir (Looney ve ark., 2013). Bu cins, jelatinimsi, kulaktan kabuğa kadar meyve veren gövdelere sahip saprofitik mantarları içermektedir. Bunların arasında en çok *A. auricula-judae*, *A. polytricha* ve *A. fuscossuccinea* türleri Asya ülkelerinde ticari olarak yetiştirilmektedir. Bu mantar Çin ve Güneydoğu Asya'da çok popülerdir, ancak batılı tüketiciler fazla talep etmemektedir (De Roman 2010).

A. auricula-judae mantarı; meyve veren gövdenin kulağa benzer bir şekli ve kahverengi rengi ile tanınmaktadır. Ölü odun dokuları üzerinde, özellikle *Sambucus nigra* ormanında yetişmektedir (Montoya-Alvarez ve ark., 2011).

A. auricula-judae' nin ticari üretimi Çin'in kırsal kesimlerinde hızla gelişmeye başlamış ve 2010

yılında, toplam *A. auricula-judae* üretimi yaklaşık 1.2 milyon tona ulaşmıştır (Zhang ve ark., 2012). Tıbbi ve mutfak uygulamaları, dünya pazarlarında ticari talebin genişlemesiyle artış göstermiştir. Son yıllarda ise *Auricularia* türlerinin üyelerinin dünya çapındaki yıllık üretimi, endüstriyel olarak yetiştirilen tüm mutfak ve tıbbi mantarlar içerisinde en popüler dördüncü tür olarak geçmektedir (Tang ve ark., 2010).

Ayrıca, *A. auricula-judae*, zengin melanin içeriği nedeniyle Çin'de "siyah gıda" olarak giderek daha popüler hale gelmiş ve mantarın meyve veren gövdelerinin yeni tip doğal melanin için iyi bir kaynak olarak kullanılabilirliğini bildirilmiştir (Zou ve ark., 2010). Yenilebilirler bir mantar olmasına karşın Avrupa mutfak endüstrisi bu mantarı hiçbir zaman özellikle lezzetli bir gıda bileşeni olarak görmemiştir. Bununla birlikte, Doğu Asya kültürü ise bu mantarlara jelatinimsi dokuları ve sağlık özellikleri nedeniyle değer vermiştir. Kulak mantarları, çorbalar ve soslar içinde kurutulmuş halden kolayca rehidre olur ve yemeklere benzersiz ve hoş bir doku kazandırmaktadır (Mau ve ark., 1998).

Auricularia türleri, diğer yenilebilir mantarlara göre % 50 daha zengin lif içeriğine sahiptir, bu nedenle lifle birlikte gıda takviyesi olarak kullanılabilirler (Sekara ve ark., 2015). Bu tür bir takviyenin, in vivo fonksiyonel kabızlığı olan hastalarda ciddi yan etkiler olmaksızın kabızlığa bağlı semptomları önemli ölçüde iyileştirdiğini tespit etmişlerdir (Kim ve ark., 2004). Ayrıca zengin lif içeriği, proteinler, mikro elementler ve fakir yağ içeriği nedeniyle hiperlipideminin diyetetik önlenmesi için uygun olduğu saptanmıştır (Cheung 1996).

***Boletus edulis* Bull.**

Boletus cinsi en popüler yenilebilir mantarlar arasında yer almakta ve özellikle *B. edulis* türü oldukça popüler olmaktadır (Smith ve Thiers, 1971). *B. edulis*; *Basidiomycota* bölümü, *Boletales* takımı *Boletaceae* familyasına ait türdür. Gözenekli tüm mantarları içeren *Boletus* cinsi 1821'de Elias Magnus Fries tarafından tanımlanmıştır (Nuhn ve ark., 2013). *B. edulis*'in, en yaygın isimlendirmesi çörek mantarı ve porcini mantarı olarak bilinmektedir. *B. edulis*'in hoş tatlı tadı nedeniyle

Avrupa ülkeleri arasında ticarileştirilmiştir (Sitta ve Floriani, 2008). *B. türü* mantarlar dünya çapında yayılmış ve çoğunlukla soğuk-ılıman bölgelerde subtropikal ülkelerde bulunmaktadır. Avrupa'da İskandinavya'nın kuzeyinden Yunanistan'ın güneyine ve İtalya'ya kadar geniş bir yelpazede dağıtılmıştır (Assyov ve Denchev, 2004). *B. edulis* türü, yenilebilirliği yüksek (Singer 1986) ve dünya çapında oldukça fazla tüketilen başlıca ticari mantar olması açısından büyük ekonomik öneme sahiptir (Águeda ve ark., 2008). Bu mantar türleri yalnızca vahşi doğadan toplanmıştır ve bugüne kadar kontrollü bir üretim yapılmamıştır (Cannon ve Kirk 2007). Kral mantarı cep veya porcini olarak bilinen *Boletus edulis*, çok önemli bir yenilebilir yabani mantardır. İtalya, Doğu Avrupa, Çin, Güney Afrika ve Kuzey Amerika'da hasat edilmektedir (Watkinson ve ark., 2016).

Boletus; Kuzey ve Güney Yarımkürelerin ılıman bölgelerinde yaygın olarak temsil edilen ektomikorizal mantarların kozmopolit bir cinsidir. Cins, tropikal ve orta enlemlerde ormanlarda yaşayan, epigeous döllenmeye sahip 1000'den fazla tür ile mikorizal etki içermektedir (Mello ve ark., 2006). Bu mantarların neredeyse tamamı ağaçlarla simbiyotik ilişki içinde büyür ve topraktan mineral besinlerin alımına yardımcı olan mikorizalar oluşturmaktadır (Binder ve Hibbett, 2006).

Boletus cinsi genellikle 5 cm veya daha fazla çapa ulaşan, düzlemden dışbükey ve kıvrık kenarlı geniş bir şapkaya sahiptir. Meyveli gövde yaşlandıkça, kenarları çatlayabilmektedir (Corner, 1972). *Boletus* türlerinin şapkaları oldukça dolgun ve geniş bir yapıdadır. Renkleri ise açık mat kahverengi, kırmızimsı kahverengi olabilmektedir. Şapka altındaki por yapıları, genç zamanlarında soluk beyaz olmakta, yaşlandıkça ise sararma meydana gelmektedir. Bu mantarların sap kısımları da şapka yapısı gibi oldukça geniş ve dolgun bir yapıdadır. Sap uzunlukları genellikle 18-20 cm ve daha fazla olabilmektedir. Yaz ve sonbahar mevsimlerinde her türlü ağaç bulunan, hemen hemen tüm ormanlarda bu tip mantarlara rastlanmak mümkündür (Barutçıyan, 2012). Şapkanın alt yüzeyinde 0,5-2 mm çap büyüklüğündeki tüpler

görülebilir ve bunlar gençken beyaz olmaktadır. Yaşlandıklarında gözenekler sarı, kırmızı veya zeytin kahverengine döner ve genellikle tüplerle aynı renkte olmaktadır (Corner, 1972). *Boletus* için en yüksek meyve gövdesi üretimi yaz sonunda veya sonbahar başında gerçekleşir. Sıcak yaz dönemi ve ardından sık sık sonbahar yağışları, sıcaklık düşüşü sağlamakta ve bu sıcaklık düşüşü ile primordia'nın olgun meyve veren vücutlara dönüşmesini teşvik etmektedir. (Hall ve ark., 1998).

B. edulis, insandaki fizyolojik süreçleri düzenlemek için bir besin takviyesi olarak düşünülebilir. Mantar pişirilip tüketildikten sonra meyve bünyelerinde düşük yağ oranı olan yüksek su içeriği de dengeli beslenme sağlamaktadır. Oligosakkaritler, analog karbonhidratlar ve lignin maddeleri olan diyet lifi bileşenleri diyabet, kabızlık, apandisit ve safra kesesi taşları gibi bir dizi hastalığı önleyebilmektedir (de Vries, 2003). *B. edulis* pirinç, buğday ve süt gibi çoğu gıda maddesinden protein içeriği bakımından önce gelmektedir (Manzi ve ark., 2001). *Boletus* spp.'lerin askorbik asitler, fenolik asit, terpenler, tokofenoller ve steroidler gibi ikincil metabolitleri aracılığı ile antioksidan, anti-kanser ve anti-inflamatuar terapötik etkilere sahip olduğu ortaya konulmuştur (Heleno ve ark., 2011). Toplam yağ asitlerinin %86-94'üne sahip linoleik, oleik ve palmitik asitlerin varlığı da *Boletus*'un antibakteriyel ve ülser önleyici ajanlar olarak farmakolojik potansiyellerine katkıda bulunmuştur (Hanus ve ark., 2008). Mantarlar, doğal tat ve aroma bileşikleri içermektedir. *B. aereus*, *B. borronisii*, *B. edulis* ve *B. reticulatus* gibi bazı yenilebilir *Boletus* türleri, tatlı tadı nedeniyle gıda aroması amacıyla da kullanılabilir (Kalač, 2009).

***Flammulina velutipes* (Curtis) Singer**

Flammulina velutipes; *Basidiomycota* bölümü *Agaricales* takımı *Physalacriaceae* familyasına ait bir türdür. *F. velutipes*; enokitake, enoki ve kış mantarı olarak isimlendirilmektedir. Yaygın bilinen ismi enokitake veya enoki mantarıdır. *F. velutipes*'in özelliklerinden biri ve kış mantarı olarak isimlendirilmesinin nedeni donma, çözülme ve daha sonra gelişime devam etme yeteneğine sahip

olmasıdır (Stamets, 2000). Çürüyen kütükler üzerinde doğada büyüyen *F. velutipes* mantarının morfolojisi başlangıçta şapkası tümsek şeklinde, daha sonra düzleşen ve genişliği 2-10 cm çapında olan pürüzsüz ve kaygan bir şapkaya sahiptir. Taze iken *F. velutipes* mantarının rengi merkezde daha koyu olmak üzere turuncudan kahverengine, sarıdan kahverengiye kadar değişmektedir. Sap uzunluğu 5-12 cm ve yüzük kısmı yoktur. Soluk sarı renkte lamellere sahiptir (Kuo, 2013). Kültüre alınan *F. velutipes* mantarının morfolojik özellikleri ise değişkenlik göstermektedir. *F. velutipes* kültürde alındığında gelişen mantarın şapkası küçük, rengi kar beyazı yaklaşık 25 cm uzunluğunda ince kadifemsi bir sapa sahip olmaktadır (Sakamoto ve ark., 2004).

F. velutipes mantarı en çok Çin, Japonya, Kore ve Tayvan'da üretilmektedir. Bu yüzden Asya mantarı olarak bilinmektedir (Chang ve Miles, 2004). Çin'de üretilen *F. velutipes* üretiminin yaklaşık %80'lik bir payı iç pazarda, geri kalan kısmı ise Güneydoğu Asya ve Avrupa ülkelerine ihraç edilmektedir (Royse ve ark., 2017). İlk ticari olarak yetiştirildiği ülkelerde Japonya ve Tayvan gibi ülkelerde modern ekipmanlı birkaç büyük işletmeler tarafından üretimi yapılmıştır (Hall ve ark., 2003). Ülkemiz de ise Ankara, Afyon, Balıkesir, Bolu, Artvin, Giresun, Kahramanmaraş, Nevşehir, Uşak, Iğdır, Isparta, Konya, Van, Gaziantep, Samsun ve İzmir gibi birçok ilde doğada görülen mantarlardan biridir (Sesli ve Denchev, 2008).

F. velutipes yetiştiriciliğinde kültüre alma çalışmalarında başlangıçta kütük uygulamaları yapılmış (San Antonio ve Hannersi, 1983), daha sonra ise özellikle talaş içerikli, pirinç kepeği, mısır koçanı ve pamuk tohumu kabukları ilave edilerek farklı formülasyonlarda yetiştirilmiştir. Talaş kullanılarak üretimde yaygın olarak; Japon kırmızı sedir ağacı, selvi ve çam talaşı kullanılmaktadır (Sharma ve ark., 2009).

F. velutipes mantarının besin içerikleri diğer mantarlar gibi zengin ve düşük kuru madde ve yağ içeriğinden dolayı kalori oranı azdır.

F. velutipes'in antitümör, antikanser ve anti-aterosklerotik aktivite, hipolipidemik, tromboz inhibisyonu, antihipertansif ve kan şekeri ile kolesterol düşürücü etkiler, hafıza ve öğrenme ile ilişkili nörotransmitterlerin geri kazanılması, yaşlanma karşıtı ve antioksidan özellikler, immünomodülatör, anti-enflamatuvar ve antibakteriyel etki gibi birçok sağlık açısından etkinliği bulunmuştur (Karaman ve ark., 2010; Hu ve ark., 2019).

***Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.**

Ganoderma lucidum, Basidiomycota bölümü, Polyporales takımı, Polyporaceae familyasına ait türdür. Polyporaceae familyasındaki türler meşe, akçağaç, amerikan çınarı ve dişbudak gibi ağaçlar üzerinde gelişerek çürümelere neden olan Basidiomycetes'lerdendir (Adaskaveg ve ark., 1993). *Ganoderma* türleri, ekonomik anlamda önemli olan birçok bitkide, bazı bitki hastalıklarına (Zhao, 1989) neden olmasına rağmen başta Çin, Kore ve Japonya'nın yer aldığı birçok Asya ülkelerinde uzun yıllardan beri üretilerek geleneksel tıpta kullanılan ürünler içerisinde yer almaktadır. *Ganoderma* türleri içerisinde en çok bilinen *G. lucidum* ölümsüzlük mantarı veya Reishi olarak isimlendirilmektedir (Zhao ve Zhang, 1994). *G. lucidum* 40-200mm çapında, oval, böbrek şeklinde, düzensiz bir yuvarlak şeklinde ya da flabeliform şeklinde bir şapkaya sahiptir. Sap kısmı çoğunlukla şapkata lateral olarak bağlanmaktadır (Atienza ve ark. 2013).

Doğadaki düzensiz dağılımı ve tıbbi bitki olarak *G. lucidum*'a olan talebin artması nedeniyle, bu mantarı yetiştirmek için birçok girişimde bulunulmuştur (Chang ve Buswell 2008). *Ganoderma* cinsinin farklı üyeleri, büyüme ve yetiştirme için farklı koşullara ihtiyaç duymaktadır (Mayzumi ve ark., 1997). Ayrıca, farklı coğrafi bölgelerde farklı türler tercih edilmektedir. Örneğin Güney Çin'de siyah *G. lucidum* popülerken, Japonya'da kırmızı *G. lucidum* tercih edilmektedir. *G. lucidum*, sıcak ve nemli koşullar altında büyümekte ve Doğu'nun subtropikal bölgelerinde birçok yabancı tür bulunmaktadır. 1970'lerin başından beri, *G. lucidum*, mantarın önemli bir kaynağı haline gelmiştir. *G. lucidum*'un yapay ekimi, tahıl, talaş, ağaç kütükleri (Boh ve

ark., 2007) ve mantar kalıntıları (Riu ve ark., 1997) gibi alt tabakalar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

G. lucidum mantarı sağlık açısından her türlü hastalığın tedavisinde kullanılmakta ve etkili olduğu bilinmektedir (Liu, 1999). Günümüzde, antitümör (Yuen ve Gohel, 2005), anti-anjiyojenik (Jana ve Acharya, 2020), anti-mikrobiyal (Cör ve ark., 2018), anti-hipertansif (Shevelev ve ark., 2018), hipokolesterolemik (Rahman ve ark., 2020), anti-histamin (Garuba ve ark., 2020), hepatoprotektif (Zhao ve ark., 2019) ve radyoprotektif (Atienza ve ark., 2013) gibi yararlı etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. Diğer özelliklerinin yanı sıra radyoprotektif etkisi ekstraktlarda ve izole polisakkarit bileşenlerinde de (Chen ve ark., 2019) saptanmıştır. Bu mantarda bulunan biyoaktif bileşenler, hepatopati, nefrit, hipertansiyon, hiperlipemi, artrit, nevrastenî, uykusuzluk, bronşit, astım, mide ülseri, ateroskleroz, lökopeni, diyabet, anoreksi ve kanser gibi farklı patolojileri tedavi etmek için çok sayıda sağlık özelliğine sahiptir (Batra ve ark., 2013). Özellikle bazı kanser türleri, karaciğer yetmezliği, herpetik enfeksiyonlar, HIV gibi hastalıkların tedavisinde etkili olduğu araştırmalarla desteklenmiştir (Liu ve ark., 2002).

***Grifola frondosa* (Dicks.) Gray**

Grifola frondosa, Basidiomycota bölümü, Polyporales takımı Grifolaceae familyasına ait türdür. Yenilebilir bir mantar türü olan *G. frondosa*, maitake (Mayuzumi ve Mizuno, 1997), Kumotake (bulut mantarı) (Stamets, 2000) ve dans eden kelebek mantarı (Stamets, 1993) olarak değişik şekillerde isimlendirilmiştir. Maitake mantarı geniş yapraklı ağaçların ölü kütüklerinde bulunan beyaz çürükçül bir mantardır (Imazeki ve Hongo, 1985). *G. frondosa* üretimi için açık hava yatak kültürü, şişe kültürü ve torba kültürü olmak üzere üç yöntem kullanılmaktadır. En yaygın konukçu türleri arasında kayın, meşe, akçağaç, karaağaç ve siyah sakız bulunmaktadır (Stamets, 2000).

Yenilebilir mantarların çoğunun bir gövde üzerinde tek bir şapka varken, *G. frondosa* çok sayıda üst üste binen şapkalar tarafından oluşturulan benzersiz bir şekle sahiptir. Çapı 10-30 cm olan büyük etli çok gözenekli sporokarp;

yaprak şeklinde bir yığın oluşturmak için diğer şapkalar ile örtüşen 3-7 cm çapında bir yığın olan birçok dallanmış gövdeden oluşur. Şapkaların alt tarafında beyaz gözeneklerde 4 x 6 µm boyutunda sporlar bulunmaktadır. Genç mantarların tüylü yüzeyi koyu gri-kahverengi renktedir ve mantarlar olgunlaştıkça ve yaşlandıkça daha açık gri-kahverengiye dönüşmektedir. Daha açık renkli çeşitleride vardır ve bazıları olgunlaştıkça açık sarı veya beyazımsı olmaktadır. Olgun mantarların etli kısmı her zaman krem beyazdır ve sıkı ve esnek bir dokuya sahiptir (Bon, 1987).

Maitake, hem tadı hem de iddia edilen tıbbi özellikleri açısından değerli olan yenilebilir bir mantardır. Maitake yetiştiriciliği ile ilgili mevcut bilgiler, Japonya ve ABD'de yaygın olarak kullanılan Japon torba sisteminin Avustralya'da ticari maitake üretimi için uygun olabileceğini göstermektedir. Bu yetiştirme sistemi, farklı oranlarda pirinç kepeği, mısır unu veya buğday kepeği ile, iyileştirilmiş geniş yapraklı ağaçlardan bir talaş alt tabaka olarak kullanılmaktadır (Mayuzumi ve Mizuno, 1997; Shen ve Royse, 2001). *G. frondosa*, pirinç veya buğday kepeği gibi besin kaynaklarını tamamlayan geniş yapraklı ağaçların talaşları üzerinde yetiştirilerek büyük ölçekte yetiştirmeyi ve tüm yıl boyunca hasat yapmayı mümkün kılmıştır (Sasaki et al., 1995).

G. frondosa, Asya'da daha iyi bilinen özel bir mantardır. Japon, Çin veya Batı tarzı yemek pişirme ve aynı zamanda besleyici özelliklere sahip uluslararası mutfığa uygun lezzetli ve sıkı dokulu bir mantar olduğu için talep görmektedir (Mizuno and Zhuang, 1995). Ayrıca kurutulmuş Japon *G. frondosa* kapsülleri Amerika Birleşik Devletleri tıbbi alandada kullanılmıştır (Maitake Products Inc., 2001). *G. frondosa*'nın meyve gövdesinin tamamı veya bir kısmından elde edilen ekstraktlar; anti-kanser (Mizuno ve Zhuang, 1995; Nanba ve Kubo, 1997), anti-diyabetik (Horio ve Ohtsuru, 2001), antikolesterol (Fukushima ve ark., 2001), hepatoprotektif özellikleri (Ooi, 1996) olduğu belirtilmiştir.

***Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.**

Hericium erinaceus, Basidiomycota bölümü, Russulales takımı Hericiaceae familyasına ait türdür. *Hericium*

spp.; Kuzey Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'da çürüyen ağaçlarda yaygın olarak bulunan saprofitik mantar türleridir ve *Hericium* cinsinin üyeleri aynı zamanda Avrupa ve Asya'nın bazı kısımlarında da yaygın bulunmaktadır. Doğu Kuzey Amerika'da yaygın olan üç *Hericium* türü mevcuttur. Bunlar *H.erinaceus*, *H. americanum* ve *H. coralloides*'tir . Cinsin tüm üyeleri, aşağıya doğru basamaklı dikenlerle kaplı az çok küresel beyaz meyve gövdelerinden oluşmaktadırlar (Abdulla ve ark., 2008).

Ağaçların gövdelerinde, dallarında ve kütüklerinde büyüyen bir omurga mantarı olan *H. erinaceus*, kuzey yarımkürede bulunabilir ve orta Avrupa'da nadiren, güney İngiltere'de ise oldukça yaygın çeşitlilik göstermektedir (Pegler, 2003). *H. erinaceus* özellikle Japonya ve Kuzey Amerika ülkelerinde yaygın görülen, nadiren Avrupa kıtasında bulunan bir makrofungus türüdür (Dahlberg ve ark., 2010). Ülkemizde ise Batı Karadeniz ve Sinop ilinde türe ait kayıtlar bulunmuştur (Afyon ve ark., 2005).

H. erinaceus'da g-aminobütirik asit (GABA), ergothioneine ve lovastatin gibi bazı potansiyel biyoaktif bileşiklerin de rapor edildiği bulunmuştur (Cohen ve ark., 2014). *H. erinaceus*'un tadı son derece iyi olmakla birlikte, aynı zamanda birkaç tıbbi özelliği de bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, anti-tümör aktiviteleri (Mizuno ve ark., 1995), antioksidan özellikleri (Wong ve ark., 2007), antimikrobiyal etkileri (Wong ve ark., 2009a), NG 108-15 hücre hattında nörit büyümesinin uyarılması (Wong ve ark., 2009b), antidiyabetik etkisi (Doğan ve ark., 2021) ve sinir yenilenmesi etkileri bildirilmiştir (Wong ve ark., 2011). Bu mantarın özleri hem nörit büyümesini uyarıcı etkilere sahiptir (Wong ve ark., 2009b) hem de yapılan ön çalışmalar ile, bu mantarın mide ülseri önleme etkileri olduğuda ortaya konulmuştur (Abdulla ve ark., 2008). Ayrıca *H. erinaceus*'un içerdiği hericenonenler ile HeLa kanser hücrelerinin büyümesini engelleyici etkilerinin ve içerdiği β -glukanlar ile de immünomodulatör aktivite oluşturması gibi olumlu etkileri ile ticari üretimi oranları hızla artış göstermiştir (Khan ve ark., 2013).

***Lactarius deliciosus* (L.) Gray**

Lactarius deliciosus; *Basidiomycota* bölümü, *Russulales* takımı *Russulaceae* familyasına ait türdür. Bu türlerin özelliklerinden biri kesildiklerinde veya hasar gördüklerinde dışarı salgıladıkları lateks ile karakterize edilmektedir. *Lactarius* türleri, Avrupa'da en önemli şapkali mantar türlerinden biri olarak kabul edilmekte ve Afrika, Avustralya ve diğer ülkelerde de görülmektedir (Wisitrassameewong, 2016).

Lactarius türü mantarların şapkaları genç dönemde konveks iken yaşlandıkça orta kısmın çukurlaşarak huni şekline dönüşmekte ve şapka çapı 5-14 cm'dir. Genellikle mantar rengi turuncunun çeşitleri tonları şeklindedir ve mantar yüzeyinde olgunlaştıkça yeşilimsi lekelerde görülmektedir. Doğada, yağmurlu yaz ve sonbahar mevsimlerinde genellikle iğne yapraklı ağaçların etrafında ortaya çıkmaktadır. En çok bilinen *L. deliciosus*, *L. salmonicolor* ve *L. deterrimus* türleri türleri yerel halk tarafından kanlıca ve çıntar olarak tanınmaktadır. *L. deliciosus*, iğne yapraklı ağaçlık alanlarda, özellikle çamların altında yetişen bir ektomikorizal bir mantar türüdür. Mantar hasar gördüğü yerlerden sızan safran renkli özsuyu, kap yüzeyindeki havuç renkli lekelerin eşmerkezli halkaları ve yaşlandıkça yeşile dönme eğilimi ile kolayca tanınmaktadır (Anonymous, 2012).

Lactarius türlerinden yenilebilenleri doğada ortaya çıktığı dönemlerde oldukça rağbet gören ve yoğun biçimde tüketilmekte olan mantarlardan biridir. Bu nedenle bu cinse ait yenilebilen türleri yüksek bir pazar payına sahiptirler. Genellikle görüldükleri zaman sonbahar aylarıdır. Lezzetli olan mantar türünün bir diğer etkisi de bu cinse ait mantarların turuncu sütlerinin içeriğindeki lactariviolin ile antimikrobiyal etkiye sahip olmasıdır (Altuntaş ve ark., 2016).

***Lentinula edodes* (Berk.) Pegler**

Lentinula edodes; *Basidiomycota* bölümü *Agaricales* takımı *Omphalotaceae* familyasına ait türüdür. *L. edodes* bilinen adıyla shiitake mantarı dünyada ki kültüre alınan mantar türlerinin içinde üretim oranı olarak %10 paya sahiptir (Anonymous, 2005). Üretim oranlarında ilk sırada Çin yer

alırken daha sonra Japonya, Orta Doğu, Asya, Avrupa ve Amerika ülkelerinde üretim hızı artış gösteren shiitake mantarı daha çok taze ve kurutulularak tüketimde tercih edilmektedir (Royse, 2001). Shiitake, yaprak döken ağaçların çürüten odunlarında, özellikle shii ağacında, daha sonra kestane, kavak, meşe, akçaağaç, kayın, sığla, demir, gürgen ve dut gibi ağaçlarda gruplar halinde büyümektedir. Doğal dağılımı Güneydoğu Asya'daki ılık ve nemli iklim koşulları olmaktadır (Wasser, 2004).

L. edodes ticari olarak, tipik olarak doğal ortamlarına benzer koşullarda ya yapay substratta ya da meşe gibi sert ağaç kütüklerinde yetiştirilir (Vane 2003). *L. edodes* kültüre alındıktan sonra torba kültürü üretim sistemiyle talaş, yonga gibi sentetik ortamlar üzerinde bütün bir yıl boyunca yetiştirilebilmektedir (Chen, 2001). Torba kültürü yetiştiriciliğinde değişik ülkelerde ana üretim materyali olarak değişik yetiştirme formülasyonları geliştirmiş ve kullanılmıştır. Yetiştirme ortamı olarak meşe, çam, kayın, akçaağaç, kavak, huş gibi ağaç türlerinin talaşı, kahve pulpu, ayçiçeği tohum kabuğu, hububat samanı, mısır koçanı, çay artığı, pamuk tohumu atıkları gibi birçok tarımsal artıklar shiitake yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır (Curvetto ve ark., 2002).

L. edodes'in kimyasal bileşimindeki protein, vitamin ve mineral içeriği bakımından zengin olması ve ayrıca içeriğinde bulunan Lentinan maddesinin yapılan çalışmalarda 'Sarcoma-180' kanser tedavisinde etkili olumlu sonuçlar vermesiyle tıp alanında da kullanılmaktadır. Bu olumlu sonuçları *L. edodes*'in popülerliğini ve tüketim oranını arttırmaktadır (Ağaoğlu ve ark., 1991;). Uzak Doğu ülkelerinde tıp alanında bazı çalışmalarda (Hobbs, 1995) ve antitümör etkinliğinden dolayı birçok araştırma programında kanser tedavisinde kullanılmaktadır (Ağaoğlu ve ark, 1991). Shiitake mantarının tok tutma özelliği ile kilo kontrollerini desteklediği (Zhang ve ark, 2016), antioksidan etkisinin bulunduğu (Fukushima ve ark, 2001), kanseri önleyici ve kanseri tedavisinde kullanılan ilaçların oluşturduğu kromozom hasarını iyileştirmesini desteklediği (Fang ve ark, 2006), kardiyovasküler

hastalıklarda kolesterol düşürücü etkisinin bulunduğu (Enman ve ark, 2007), antibakteriyel etkisinin (Kitzberger ve ark, 2009) ve antimikrobiyal etkilerinin bulunduğu (Hearst ve ark, 2009) çalışmaları ortaya konulmuştur.

***Morchella esculenta* (L.) Pers.**

Morchella esculenta, *Ascomycota* bölümü, *Peziizales* takımı, *Morchellaceae* familyasına ait türdür. *M. esculenta*, dünyada bulunan ekonomik açıdan etkili yabani mantar türlerinden biridir. Yaygın olarak Guchi, kuzugöbeği, gerçek kuzugöbeği, sarı kuzugöbeği, sünger kuzugöbeği gibi isimlerle bilinmektedir. Bu mantar çok pahalıdır, bu nedenle "dağda yetişen altın" olarak da bilinmektedir (Dörfelt, 2013).

M. esculenta silindirik yapıdan oluşur. Üst kısım, toplam bitki ağırlığının % 70-80'ini oluşturan şapka kısmından oluşmaktadır. Şapkalı yaklaşık 3-9 cm uzunluğunda, 2-5 cm genişliğinde, yuvarlak veya düzensiz çukurlar mevcuttur. Sarı, kahverengi, soluk veya siyah renk gösterir. Alt kısım, toplam mantar ağırlığının % 20-30'unu oluşturan sap kısmıdır. Yaklaşık 1-4 cm uzunluğunda, 0,5-3 cm kalınlığında ve içi boştur. Beyazımsı ila soluk gri renktedir, ancak olgunlaştığında grimsi kahverengi olmaktadır (Hamayun ve ark., 2003). *M. esculenta* genellikle yoğun iğne yapraklı ormanlarda, humus bakımından zengin tınlı topraklarda bulunur. Soğuk ortamlar birlikte doğal olarak tepelik yüksekliklerde büyür. Orman habitatında yaklaşık 2500-3500 m yükseklikte bulunur (Ali ve ark., 2011). Genellikle sert ağaç ve iğne yapraklı ağaçlarla mikorizal veya saprofitik bir ilişki gösterirler (Hamayun ve ark., 2006). Yetiştirme zamanı Mart'tan Temmuz'a kadardır (Wagay ve Vyas, 2011). *M. esculenta*, ilkbahar ve yaz başında toplanmaktadır. Ascocarp 6.5-8 cm yüksekliğinde ve 4.4-7.5 cm çapında olduktan sonra toplanmalıdır (Hamayun ve ark., 2006). *M. esculenta*'nın ticarileşmesinin temel sorunu, ömrünü kısaltan nem içeriğidir. Bu yüzden uygun şekilde kurutulmalı ve saklanmalıdır. Kapalı odada muhafaza edilmelidir. Kuzugöbeğinin en iyi saklama tekniği, onları biraz havalandırma ile kurutmaktır. Bu mantarlar çoğunlukla Fransa, Belçika, İsviçre, Avusturya, Almanya ve Orta

Doğru'ya ihraç edilmektedir (Hamayun ve ark., 2006).

M. esculenta, polisakkaritler, proteinler, eser elementler, diyet lifleri ve vitaminler dahil olmak üzere birçok biyoaktif maddeye sahip olduğu için hem besleyici hem de tıbbi değerler açısından besleyicidir (Litchfield ve ark., 1963). *M. esculenta*'nın meyve veren gövdesi, antioksidan aktivite göstermektedir (Elmastas ve ark., 2006). *M. esculenta* miseli, antioksidan aktiviteler sergileyen beta-karoten ve linoleik asit içermektedir (Mau ve ark., 2004). *M. esculenta*'nın polisakkaritlere sahip olmasına bağlı olarak antiinflamatuvar ve antitümör aktivitelerine sahip olduğu kanıtlanmıştır (Nitha ve ark., 2013). *M. esculenta*'dan ekstrakte edilen bazı polisakkaritler potansiyel olarak tümöre dirençlidir (Li ve ark., 2013). *Morchella* türleri 2000 yıldan beri Geleneksel Çin tıbbında ve ayrıca Malezya ve Japonya'da birçok hastalığın tedavisi için kullanılmaktadır (Hobbs, 1995).

***Pleurotus* spp.**

Pleurotus; *Basidiomycota* bölümü, *Agaricales* takımı *Pleurotaceae* familyasına ait cinistir. *Pleurotus* cinsi içinde 40 farklı tür mevcuttur. *Pleurotus*'un kökenine bakıldığında ilk olarak Almanya'da Birinci Dünya Savaşı sırasında oluşan gıda açığını kapatmak için insanların hem geçim kaynağı olarak üretilmiş ve ilk yetiştirme raporları da Kaufer tarafından ortaya konulmuştur (Olake ve Adebayo 2015). *Pleurotus* spp.; istiridye mantarı, kayın mantarı, kavak mantarı veya hiratake olarak adlandırılır. Latince ise "Pleurotus," kulak arkası, "ostreatus" ise istiridye şeklinde olan anlamına geldiği için daha çok istiridye mantarı olarak isimlendirilmektedir (Cohen ve ark., 2002). Dünyada genellikle tropikal, subtropikal ve ılıman bölgelerde doğal olarak ağaç üzerinde yetişen ve kültüre alındığında kolayca yetiştirilebilen bir mantar türü olarak geçmektedir (Chirinang ve Intarapichet, 2009). *Pleurotus* cinsi içerisinde en çok kültürü yapılan türler ise *P. ostreatus*, *P. florida* ve *P. sajor-caju*'dur (Khan ve ark., 1981). Ayrıca *Pleurotus* cinsi mantarlar içerisinde lezzeti ve tıbbi alanda doğal antioksidan ve anti-diyabetik gıda olma potansiyeli bulunan *P. eryngii* türüne olan talepte hızla artmaktadır (Doğan ve Doğan, 2021).

Bunlar içerisinde *Pleurotus ostreatus* türü ise en yaygın üretimi yapılan tür olarak bilinmektedir (Khan ve ark., 1981).

Pleurotus türleri bütün ılıman iklim bölgelerinde; kavak, meşe, kayın, akçağaç, karağaç, ıhlamur, ceviz, söğüt ve kestane gibi birçok ağaç türünün çürümüş gövdelerinde yabani olarak kendiliğinden gelişip yetişmektedir (Ağaoğlu ve Güler, 1991). *Pleurotus* türleri güçlü misel yapısı nedeniyle, lignin ve selüloz içeren organik materyaller üzerinde fermantasyona gerek duymadan rahatça gelişip ürün vermesi ile kültüre alındığından birçok endüstriyel ve tarımsal artıkların kullanımına olanak sağlamıştır. Şeker pancarı artıkları (Yuying, 1989), pamuk sapı ve pamuk artıkları (Leong, 1980), çeltik sapları (Ma-Renwei, 1988) ve kolza sapı ve kolza artıkları (Ginterova ve ark., 1987) gibi birçok endüstriyel ve tarımsal atıklar bitkisel materyal olarak kullanılmıştır.

Pleurotus türleri, çeşitli ülkelerde sağlık alanında bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. *Pleurotus* mantarlarının içerdiği kimyasal bileşikler; antibiyotik, antibakteriyel, antiviral, antitümör, bağışıklık sistemini güçlendirici, antikolesterol ve antioksidan özellikleri mevcuttur (Cohen ve ark., 2002). *Pleurotus* spp.'nin önemli miktarda β -glukan içermesinden dolayı bağışıklık sistemini güçlendirerek kanser hücrelerinin gelişimini engelleyerek kanser tedavisinde, bağışıklık sistemi hastalıklarında ve ilaç tedavisinden sonra bağışıklık sisteminin yeniden güçlendirmek için uyarıcı etkide bulunduğu ortaya konulmuştur (Daba ve Ezeronye, 2003).

***Tuber* spp.**

Yeraltında yetişen trüf türleri, *Ascomycetes* sınıfı *Tuberaceae* familyasının aittir (Bonito vd., 2009). Trüf mantarı; yenilebilen, yenmeyen, zehirli ve yalancı trüf olmak üzere birçok tür mevcuttur. Bunlar içerisinde *Tuber magnatum*, *Tuber melanosporum* ve *Tuber aestivum* türleri dünya mutfaklarında en çok popüler olanlardır (Saka ve ark., 2017). Trüf mantarı birçok yer yüzeyi mantarından farklı olarak yer altında patates benzeri yapılarla sahip mikorizal bir mantardır (Trappe ve ark., 2009). Trüf mantarı bütün gelişim safhalarını yer altına tamamlamaktadır. Diğer

mantarlardan farklı olarak sporlarını çevreye yayabilmek için hayvanlara ihtiyaç duymaktadırlar. Trüf, toprak altındaki yumruya benzeyen, içerisinde spor taşıyan ve yeraltında bulunan mantarın tüketilen kısmına verilen isimlendirmedir. Trüf mantarlarının meyve kısmı toprağın içinde dağınık halde gelişen misellerin yoğunlaşmış olduğu yapılarıdır (Türkoğlu, 2015). Türkiye'de bugüne kadar 67 trüf mantarına ait 23 cins ve 15 familya tespit edilmiştir (Doğan ve Öztürk, 2006; Castellano ve Turkoglu, 2012; Turkoglu ve ark., 2015; Sen ve ark., 2016). Aydın, Denizli, Muğla, Antalya ve Burdur illerinde ayrıca çok yaygın olan ve ekonomik öneme sahip 12 Tuber türü tespit edilmiştir (Korkmaz ve Türkoğlu 2016).

Trüf mantarları meşe, fındık, çam, ıhlamur gibi ağaçların kökleriyle simbiyotik yaşayarak ektomikorizal ortaklık ile faydalı bir ilişki meydana getirmektedir (Saka ve ark., 2017). Bu mikorizal etki ile trüf aşı fidan üretimi ve ticareti yeni endüstriyel alan meydana getirmiştir (Çaka ve Türkoğlu, 2016).

Trüf mantarları taze ve işlenmiş ürün olarak, baharat olarak trüf yağı ve parfümeri endüstrisi olarak farklı değerlendirilme potansiyeline sahip bir üründür (Geloğlu ve ark., 2014). Bu yer mantarına en büyük ilgi steroller, seramidler veya fenolik bileşikler gibi çok çeşitli mikokimyasal bileşiklerin ortaya çıkmasından kaynaklanmaktadır (Gao ve ark., 2004). Yapılan çalışmalar, trüf'lerde fenolikler, favonoidler ve polisakkaritler gibi çeşitli biyoaktif bileşikler tanımlanmış ve bunların antikanser (Beara ve ark., 2014), antioksidan (Hamza ve ark., 2016), antimikrobiyal (Janakat ve ark., 2004), antidiyabetik ajanlar olarak potansiyellerini ortaya çıkarmıştır (Kuo ve ark., 2011; Shao ve ark., 2010). Trüf içindeki biyoaktif bileşikler, anti-depresanlar, kolesterol düşürücü ve bağışıklık uyarıcı gibi diğer tıbbi kullanımlarda da etkinliğini güçlendirmekte ve linoleik asidin kan kolesterolünü düşürücü etkisinin olduğunda rapor edilmiştir (Ramsden ve ark., 2013; Horrobin ve Huang, 1987).

***Volvariella volvacea* (Bull.) Singer**

Volvariella volvacea; Basidiomycota bölümü Agaricales takımı Pluteaceae familyasına ait türdür. *V. volvacea*,

Çin mantarı veya saman mantarı olarak da bilinmektedir. Ayrıca çeltik saman mantarı olarak bilinir çünkü en iyi çeltik samanında yetişmektedir (Chang, 1969). *V. volvacea*'nın verimi, kullanılan yetiştirme yöntemlerine ve substratlara bağlıdır. *V. volvacea* normalde çeltik samanında ve selüloz, hemiselüloz ve lignin içeren birkaç diğer bitki atığı üzerinde yetiştirilmektedir (Roy ve ark., 2014). *Volvariella volvacea*'nın Çin'de yıllık üretimi 330 bin ton olmuş ve bu da küresel üretimin % 80'inden fazlasını oluşturmuştur (Bao ve ark., 2013). Son yıllarda, *V. volvacea* toplam üretimin % 5'i ile dünyadaki en iyi ticari mantarlara katkıda bulunan en çok tercih edilen kültür mantarlarından biri haline gelmiştir (Roy ve ark., 2014).

V. volvacea tipik olarak iğne başı, küçük düğme, düğme, yumurta, uzama ve olgun aşamalar olan altı olgunluk aşamasından oluşur. Farklı gelişim aşamaları, farklı morfolojik ve anatomik özelliklere sahiptir. *V. volvacea*'nın iğne başı ve küçük düğme aşamaları, substrat üzerinde iç içe geçmiş hif büyümesinin gelişmesiyle başlar. İğne başı daha kalın bir örtüye sahiptir ve kenarda eşit derecede beyazdır ve merkezin altında daha koyu renktedir (Ahlawat ve Tewari, 2007). Minik düğme evresinde, üstte kahverengi evrensel peçe ile dikey bir kesikle geri kalan kısmında beyaz; şapka altında lameller bulunmaktadır (Chang ve Miles, 2004). Şapka kısmı düğme aşamasından daha küçük boyutta olan evrensel perde olarak bilinen bir kılıfla sarıdır (Ahlawat ve Tewari, 2007). Hem düğme hem de yumurta aşamaları oval şekle sahiptir ve tüketiciler tarafından en çok tercih edilen ve ticarileştirme yoluyla yüksek fiyata satılmaktadır (Chang ve Miles, 2004; Ahlawat ve Tewari, 2007).

V. volvacea, aromatik olması ve hoş aroma ve tatlar ürettiği ve daha kısa ekim süresi sağladığı için popüler bir mantar çeşididir (Roy ve ark., 2014; He ve ark., 2018). *V. volvacea*, tercihen 30°C'de büyüyen, yüksek sıcaklık toleransına sahip tipik bir yenilebilir saman mantarıdır. Meyveli gövdesi, tadı ve yüksek besin içeriği nedeniyle tüketiciler arasında popülerdir. Ayrıca *V. volvacea*, antikanser ile ilişkili polisakkaritler, immüno-supresif proteinler ve immüno-regülasyonla ilişkili aglütininer gibi tıbbi değeri olan birçok biyoaktif

madde içerir (Sun ve ark., 2014). Diğer yenilebilir mantarlar gibi dejenerasyon, *V. volvacea* üretimini ve gelişimini sınırlar (Sermkiattipong ve Charoen, 2014). Tarımsal yetiştiricilikte, *Volvariella volvacea*'nın düşük sıcaklık direncinin düşük olması nedeniyle, diğer yenilebilir mantarlar gibi düşük sıcaklıklarda depolanamaz (Guo ve ark., 2016).

V. volvacea tipik olarak % 85-90 oranında nem içermekte (Rai ve Arumuganathan, 2008) ve bu nedenle de oldukça çabuk bozulabilmektedir. Bu nedenle, shiitake mantarında olduğu gibi hasat, paketlenme ve nakliye sırasında biyokimyasal bozulma ve yanlış kullanım sonucunda kolayca bozulabilir (Antmann ve ark., 2008).

SONUÇ

Yenilebilir mantarlar taze olarak veya kurutulmuş tüketilebilmesinin yanı sıra, çay, kahve, kapsül gibi farklı şekillerde de değerlendirilebilirler. Hem doğal hemde kültürü yapılan mantarlar, besleyici ve tıbbi faydaları nedeniyle insanlar tarafından tüketilmektedir. Besinsel olarak, mantarlar enerji ve yağ bakımından fakirdir, ancak protein, karbonhidrat ve diyet lifi bakımından zengin birer kaynaktırlar. Mantarlar, potasyum gibi çeşitli mineraller ve eser elementler ile riboflavin, niacin ve folatlar gibi vitaminler içerir. Eşsiz lezzetlerinden dolayı da yüzyıllardır yemek olarak kullanılmaktadır. Besleyici bir gıda olarak tanınmanın yanı sıra, bazı mantarlar ayrıca potansiyel ek tıbbi değeri olan biyolojik olarak aktif bileşiklerin önemli bir kaynağı olmalarından dolayı da antitümör, antioksidan, antiviral, hipokolesterolemik ve hipoglisemik etkileri vardır.

Günlük beslenmemizde mantar veya mantar ürünleri tüketmek sağlık açısından faydalar sağlayabilir. Henüz çalışılmamış birçok mantar türü göz önüne alındığında, mantarlardaki sağlık yararlarının yeni keşiflerinin devam edeceği ve gelecekte insan hastalıkları için ümit verici mantar tedavilerinin ve ürünlerin bulunabileceği tahmin edilmektedir (Wasser 2010).

Yenilebilir ve tıbbi olarak kullanılan, kültüre alınmamış besin içeriği zengin doğa mantarları ile ilgili bir çok deneme yapılmış ve önemli özelliklere sahip çok sayıda mantar türü mevcut olduğu

gözlenmiştir. Çalışmada araştırılan doğa ve kültür mantarlarında; popülerlik, besinsel içerikleri en bilinen, tıbbi öneme sahip ve tanınırlık ön planda tutularak bazı mantar türleri seçilmiştir. Mantarların taksonomik ve morfolojik özellikleri, yetiştirilme ortamları, besin içerikleri ve insan sağlığı açısından etkinlikleriyle ilgili bilgiler verilmiştir. Bu özelliklerinin yanında ayrıca düşük kalorili olması, diyet ürünü olarak kullanımına olanak sağlamaktadır. Ülkemizde, kişi başı mantar tüketim oranları dünyada ki tüketim oranlarına kıyasla oldukça düşük olduğu gözlenmektedir. İnsan sağlığı açısından olumlu etkileri olduğu belirlenen ve beslenmede önemli bir yere sahip olan mantarların tüketiminin artırılması teşvik edilmedir. Bu nedenle besin içeriklerinin bilinerek alternatif besin olarak tüketime uygun mantar türlerinin tercih edilmesiyle tüketim miktarları artırılmalıdır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

Bu çalışmanın hazırlanması ve yayımlanmasında ismi geçen yazarlar dışında hiç kimsenin ya da hiçbir kuruluşun herhangi bir katkısı olmamıştır. Her iki yazar da makalenin yazılmasında ve düzenlenmesinde eşit katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

Abdulla, M. A., Suzita, M. N., Vikineswary, S., Noorlidah, A., Wong, K. H., and Hapipah M. A. (2008). Effect of culinary-medicinal lion's mane mushroom, *Hericiium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Aphyllorphomycetidae), on ethanolinduced gastric ulcers in rats. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 10: 325-330.

Adaskaveg, J. E., Miller, R. W. and Gilbertson, R. L. (1993). Wood decay, lignicolous fungi, and decline of peach trees in South Carolina. *Plant Disease*, 77: 707-711.

Afyon, A., Konuk, M., Yağız, D. and Helfer, S. (2005). A Study of Wood Decaying Macrofungi of the Western Black Sea Region, Turkey. *Mycotaxon*, 93: 319-322.

- Águeda, B., Parlade, J., Fernandez-Toiran, L. M., Cisneros, O., Demiguel, A. M., Modrego, M. P., Martinez-Pena, F. and Pera, J. (2008). Mycorrhizal synthesis between *Boletus edulis* Bull. species complex and rockroses (*Cistus* sp.), *Mycorrhiza*, 18: 443-449.
- Ağaoğlu, Y.S. ve Güler, M., (1991). Doğal ve Kültüre Alınabilir Mantar Türleri-II. Kayın Mantarı (*Pleurotus* spp.) Yetiştiriciliği. T.C. Orman Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Ankara, 46.
- Ağaoğlu, Y.S., İlbay, B. ve Güler, M., (1991). Shiitake (*Lentinus edodes*) Yetiştiriciliği. T.C. Orman Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü. Ankara
- Ahlawat, O. P. and Tewari, R. P. (2007). Cultivation technology of paddy straw mushroom (*Volvarella volvacea*). In *Technical Bulletin: National Research Centre for Mushroom* (Indian Council of Agricultural Research), 1-33. New Delhi: Yugantar and Prakashan Pvt. Ltd.
- Ali, H., Sannai, J., Sher, H. and Rashid. A. (2011). Ethnobotanical profile of some plant resources in Malam Jabba valley of Swat, Pakistan. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17): 4171-4180.
- Alkaisi M. R. M., Hasan A. A. and Aljuboori A. W. A. (2016) Evaluation of production efficiency for some cultivated mushroom strains *Agaricus bisporus* which was renovated Mother Culture in multiple methods. *Iraqi Journal of Science*. 57(1B): 383-390
- Altuntaş, D., Allı, H., Kaplaner, E., ve Öztürk, M. (2016). Bazı *Lactarius* türlerinin yağ asidi bileşenlerinin ve makrobesinsel özelliklerinin belirlenmesi, *Turkish Journal of Agriculture: Food Science and Technology*. 4(3): 216-220.
- Andrade M. C. N., de Jesus J. P. F., Vieira F. R., Viana S. R. F., Spoto M. H. F. and Minhoni M. T. A. (2013) Dynamics of the chemical composition and productivity of composts for the cultivation of *Agaricus bisporus* strains. *Brazilian Journal Microbiology*, 44(4): 1139-1146.
- Anonymous, (2005). http://www.edinformatics.com/culinaryarts/food_encyclopedia/mushrooms.htm
- Anonymous. (2012). Saffron milk cap (*Lactarius deliciosus*). <http://www.trufflesandmushrooms.co.nz/Lactarius%20deliciosus%20web.pdf>.
- Antmann, G., Ares, G., Lema, P. and Lareo, C. 2008. Influence of modified atmosphere packaging on sensory quality of shiitake mushrooms. *Postharvest Biology and Technology* 49(1): 164–170.
- Arredondo-Ruiz F., García-Montero L. G., Díaz P. (2014). A review of research on *Tuber aestivum* (Summer truffle) focused on its culture. *Forest systems* (submitted).
- Assyov, B. and Denchev C. M. (2004). Preliminary checklist of Boletales in Bulgaria. *Mycologia Balcanica* 1: 195-208.
- Atienza, V., Montoro, A., Sebastián, N. and Soriano, J. M. (2013) *Natural organisms with effect radioprotective*. In *The Latest Advances in Radioprotectors of Natural Origin*; Soriano, J.M., Montoro, A., Eds.; *The Spanish Nuclear Safety Council: Madrid, Spain*. 115–205.
- Bahl N. (1983) *Medicinal value of edible fungi*. In: *Proceeding of the International Conference on Science and Cultivation Technology of Edible Fungi*. *Indian Mushroom Science*, 2: 203-209
- Bandara, A.R., Karunaratna, S.C., Mortimer, P.E., Hyde, K.D. ve ark. (2017). First successful domestication and determination of nutritional and antioxidant properties of the red ear mushroom *Auricularia thailandica* (Auriculariales, Basidiomycota). *Mycological Progress* 16: 1029–1039.
- Bao, D., Gong, M., Zheng, H., Chen, M., Zhang, L., Wang, H., et al. (2013). Sequencing and comparative analysis of the straw mushroom (*Volvarella volvacea*) genome. *Plos One* 8(3):e58294. doi: 10.1371/journal.pone.0058294
- Barutçıyan J. (2012). *Türkiye'nin mantarları 1, Oğlak Yayıncılık*, İstanbul.
- Batra P., Sharma A. K. and Khajuria R. (2013) Probing lingzhi or reishi medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (higher Basidiomycetes): a bitter mushroom with amazing health benefits. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 15: 127–43.

- Baysal E., Yigitbasi O. N., Colak M., Toker H., Simsek H. And Yilmaz F. (2007) Cultivation of *Agaricus bisporus* on some compost formulas and locally available casing materials. Part 1: wheat straw based compost formulas and locally available casing materials. *African Journal of Biotechnology*, 6(1): 2225-2230.
- Beara I. N., Lesjak M. M., Četojević-Simin D. D., Marjanović Ž. S., Ristić J. D., Mrkonjić Z. O., et al.(2014). Phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activities of black (*Tuber aestivum* Vittad.) and white (*Tuber magnatum* Pico) trufes. *Food Chemistry*, 165: 460–6.
- Beelman, R. B., Royse, D. and Chikthimmah, N. (2004). Bioactive components in button mushroom *Agaricus bisporus* (J. Lge) Imbach of nutritional, medicinal, and biological importance (Review). Proceedings of the XVI th International Congress on the Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi (Eds.: C.P. Romaine, C.B. Keil, D.L. Rinker, D.J. Royse , Miami, FL. U.S.A).
- Belewu, M. A. and Belewu, K. Y. (2005). Cultivation of mushroom (*Volvariella volvacea*) on banana leaves. *African Journal of Biotechnology*, 4(12): 1401–1403.
- Beluhan, S. and Ranogajec, A. (2011). Chemical Composition and Non-Volatile Components of Croatian Wild Edible Mushrooms. *Food Chemistry*, 124: 1076-1082.
- Binder, M. and Hibbet, D.S. (2006). Molecular systematics and biological diversification of Boletales., *Mycologia*, 98(6): 971-981.
- Boh B., Berovic M., Zhang J. and Zhi-Bin L. (2007). *Ganoderma lucidum* ve farmasötik olarak aktif bileşikleri. *Biotechnology Annual Review*, 13: 265–301.
- Bon, M. (1987). The Mushrooms and Toadstools of Britain and North-western Europe. Hodder & Stoughton, London.
- Bonito, G., Trappe, J. M. and Vilgalys, R. (2009). North American truffles in Tuberales: Molecular and morphological perspectives. *Acta Botanica Yunnanica*, 31(16): 39-51.
- Cannon P. F. and Kirk P. M.(2007) CAB International, Wallingford, Oxfordshire.
- Castellano, M.A. and Turkoğlu, A. (2012). New records of truffle taxa in Tuber and Terfezia from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 36: 295-298.
- Chang, S. T and Miles, P. G. (1992). The Mycologist- a new discipline, This proposes the scientific study of all aspects of mushrooms. *Mushroom Biology*, 6: 64-65.
- Chang, S. T. (1969). A cytological study of spore germination of *Volvariella volvacea*. *Botanical Magazine Tokyo*, 82: 102–109. doi: 10.15281/jplantres1887.82. 102
- Chang, S. T. and Miles, P. G. (2004). Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact, second edition, CRC Press, 480.
- Chen, A. W. (2001). Cultivation of *Lentinula edodes* on Synthetic Logs. *The Mushroom Growers' Newsletter*. www.mushroomcompany.com.
- Chen, L., Abulizi, A. and Li, M. (2019). Protective effect of *Ganoderma* (Lingzhi) on radiation and chemotherapy. In *Ganoderma and Health: Pharmacology and Clinical Application*; Lin, Z., Yang, B., Eds.; Springer: Singapore, 119–142.
- Cheskin, L. J., Davis, L. M., Lipsky, L. M., Mitola, A. H., Lyan, T., Mitchell, V., et al. (2008). Lack of energy compensation over 4 days when white button mushrooms are substituted for beef. *Appetite*, 51(1): 50-57. <http://doi.org/10.1016/j.appet.2007.11.007>.
- Cheung, P. C. K. (1996) The hypocholesterolemic effect of two edible mushrooms: *Auricularia auricula* (tree-ear) and *Tremella fuciformis* (white jelly-leaf) in hypercholesterolemic rats. *Nutritional Research*, 16: 1721–1725.
- Cheung, P. C. K. (2013) Mini-review on edible mushrooms as source of dietary fiber: Preparation and health benefits. *Food Science and Human Wellness*, 2: 162–166.
- Cheung, P. C. K., (2010). The nutritional and health benefits of mushroom. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, 35: 292–299

- Chen, N., Zhang, H., Zong, X., Li, S., Wang, J., Wang, Y., Jin, M. (2020) Polysaccharides from *Auricularia auricula*: Preparation, structural features and biological activities. *Carbohydrate Polymers*, 247: 116750
- Chirinang, P. and Intarapichet, K. O., (2009). Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *Science Asia*, 35: 326-331.
- Chiu, S.W., Wang Z. M., Leung T. M., Moore D. (2000) Nutritional value of Ganoderma extract and assessment of its genotoxicity and antigenotoxicity using comet assays of mouse lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 38: 173–8.
- Cohen, N., Cohen, J., Asatiani, M., et al. (2014) Chemical composition and nutritional and medicinal value of fruit bodies and submerged cultured mycelia of culinary-medicinal higher Basidiomycetes mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 16(3): 273-91.
- Corner, E. J. H. (1972). *Boletus in Malaysia*. Government Printing Office/Botanic Gardens, Singapore, 263.
- Cör, D., Knez, Ž. and Knez Hrncić, M. (2018) Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma lucidum* terpenoids and polysaccharides: A review. *Molecules*, 23: 649.
- Curvetto, N., Figlas, D. and Delmastro, S. (2002). Sunflower seed hulls as substrate for the cultivation of shiitake mushrooms. *Horticulture Technology*, 12 (4): 652-655
- Çağlarırnak, N. (2011). *Edible Mushrooms: An Alternative Food Item*. 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, 548-554, France.
- Çaka, Ş. and Türkoğlu, A. (2016). Some Commercial Truffles and Their Natural Habitats. *Mugla Journal of Science and Technology*, Special issue: 13-14.
- Daba, A. S., and Ezorenye, O. U. (2003). Anti-cancer effect of polysaccharides isolated from higher basidiomycetes mushrooms. *African Journal of Biotechnology*, 2 (12): 672-678.
- Dahlberg, A., Genney, D. R. and Heilmann-Clausen, J. (2010). Developing A Comprehensive Strategy for Fungal Conservation in Europe: Current Status and Future Needs. *Fungal Ecology*, 3: 50-64.
- De Leon, R. (2003). Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America. *Micología Aplicada Internacional*, 15(1): 31–35.
- De Roman, M. (2010) The contribution of wild fungi to diet, income and health: A world review. *In: Progress in Mycology*, M. Rai & G. Kovics (eds): 327–348.
- De Vries, H., Mudde, A., Kremers, S., Wetzels, J., Uiters, E., Ariza, C., Duarte VitoÁria, P., Fielder, A., Holm, K., Janssen, K., Lehtuvuori, R. and Candel, M. (2003). The European Smoking Prevention Framework Approach: short-term effects. *Health Education Research*, 18: 649 – 663.
- Doğan, H. H. and Öztürk C. (2006). Macrofungi and their distribution in Karaman Province. *Turkish Journal of Botany*, 30: 193-207.
- Doğan, N. ve Doğan, C. (2021). *Pleurotus eryngii*'nin Misel Biyokütlesinin ve Farklı Olgunlaşma Seviyesindeki Gövdelerinin Ekstraksiyonunun Optimizasyonu ve Antidiyabetik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Mantar Dergisi*, 12(1): 50-60.
- Doğan, N., Doğan, C. and Atila, F. (2021). Parts from life-cycle of *H. erinaceus*: response surface methodology approach to optimize extraction conditions and determination of its antioxidant, antidiabetic and antimicrobial effect. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 10(6): e3703-e3703.
- Dörfelt, H. (2013). "Morchellaceae". In Hanelt P. Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops: (Except Ornamentals).
- Elawati, N., E., Lestari, C., R., Dewi, S.P., (2022), Proximate Analysis of Merang Mushroom (*Volvariella volvacea*) Cultivated on Cornub and Rice Bran Media, *Natural Sciences Engineering and Technology Journal*, 2 (2): 90-95.
- Elmastas, M., Turkecul, I., Ozturk, L., Glucin, I., Isildak, O. and Aboul-Enein, H. Y. (2006).

- Antioxidant activity of two wild edible mushrooms (*Morchella vulgaris* and *Morchella esculenta*) from north Turkey. *Combinational Chemistry & High Throughput Screening*, 9: 443–448.
- Enman, J., Rova, U. and Berglund, K. A. (2007). Quantification of the bioactive compound eritadenine in selected strains of Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(4): 1177–1180.
- Erarslan, E. C., Altuntas, D., Baba, H., Bal, C., Akgül, H., Akata, I., Sevindik, M., (2021), Some Biological Activities And Element Contents Of Ethanol Extract Of Wild Edible Mushroom *Morchella esculenta*. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 39(1): 24–28.
- Eren E. ve Pekşen, A. (2019). Türkiye’de Kültür Mantarı Üretimi ve Teknolojik Gelişmeler. *Mantar Dergisi*, 10(3): 225–233.
- Fang, N., Li, Q., Yu, S., Zhang, J., He, L., Ronis, M. J. and Badger, T. M. (2006). Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by an ethyl acetate fraction from Shiitake mushrooms. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 12(2): 125–132.
- FAO (Food and Agricultural Organization). (2021). <http://www.fao.org>
- Feeney, M. J. and Beelman, R. (2004). Mushrooms In a Class of Their Own. Sindh Agriculture University, *Tandojaprinting press*, 37.
- Feng W, Nagai J. and Ikekawa T. (2001). A clinical pilot study of EEM for advanced cancer treatment with EEM for improvement of cachexia and immune function compared with MPA. *Biotherapy*, 15: 691–696.
- Fukushima, M., Ohashi, T., Fujiwara, Y., Sonoyama, K. and Nakano, M. (2001) Cholesterol-lowering effects of maitake (*Grifola frondosa*) fiber, shiitake (*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats. *Experimental Biology & Medicine*, 226: 758–765.
- Ganesh, V. R., and Rajashekhar, S. M. (2017). Compositional and nutritional studies on two wild mushrooms from Western Ghat forests of Karnataka, India. *International Food Research Journal*, 24(2): 679–684.
- Gao, J. M., Zhang, A. L., Chen, H., Liu and J. K. (2004). Molecular species of ceramides from the ascomycete truffle *Tuber indicum*. *Chemistry and Physics of Lipids* 131: 205–213.
- Garuba, T., Olan, G. S., Lateef, A. A., Alaya, R. O., Awolowo, M. and Sulyman, A. (2020) Proximate composition and chemical profiles of Reishi mushroom (*Ganoderma lucidum* (Curt: Fr.) Karst). *Journal of Scientific Research*, 12: 103–110.
- Geloğlu, İ., Pekşen, A. ve Ünal, S. 2014. Trüf mantarları. Türkiye II. Orman Entomolojisi ve Patolojisi Sempozyumu Bildiriler Kitabı (Ed. Kaygın, A.T.), 7-9 Nisan 2014, ISBN: 978-605-4610-46-4, Antalya.
- Ghosh, A. K. (1993). Protein carboxyl methylation in the mushroom *Volvariella volvacea*. *Phytochemistry*, 32(5): 1093–1096.
- Ginterova, A., Rabova, V., Janotkova, O., Lazarova, A., Souto, J., Musil, I., and Polacek, I., (1987). Rape Straw as a Substrate for the Growing of Oyster Mushroom. *Krmivarstvi-a- Sluzby (Czechoslovakia)*, 23 (2): 43–44.
- Guillamón, E., García-Lafuente, A., Lozano, M., D’Arrigo, M., Rostagno, M. A., Villares, A. and Martínez, J. A. (2010). Edible mushrooms: Role in the prevention of cardiovascular diseases. *Fitoterapia*, 81: 715–723.
- Guo, X. Y., Lin, S. L., Guo, L. Q., Lin, J. F., and Ye, Z. W. (2016). Heterologous expression of the multi-functional cellulase gene (mfc) from the mollusc *Ampullaria crosseana*, in *Volvariella volvacea*. *Journal of Pomology and Horticulture Science* 91: 325–331. doi: 10.1080/14620316.2016.1160541.
- Hall, I.R., Lyon A.J., Wang, Y. and Sinclair, L. (1998). "Ectomycorrhizal fungi with edible fruiting bodies 2. *Boletus edulis*". *Economic Botany*, 52 (1): 44–56.
- Hamayun, M., Khan, M. A., and Begum, S. (2003). Marketing of medicinal plants of Utror-Gabral Valleys, Swat, Pakistan. *Journal of Ethnobotanical leaflets*, 1:13.
- Hamayun, M., Khan, S.A., Ahmad, H., Shin, D.H. and Lee, I.J. (2006). Morel collection and marketing: A case study from the Hindu-Kush

- mountain region of Swat, Pakistan. *Lyonia Journal of Ecology and Application*, 11(2): 7- 13
- Hamza A., Jdir H. and Zouari N., (2016). Nutritional, antioxidant and antibacterial properties of *Tirmania nivea*, a wild edible desert trufe from Tunisia arid zone. *Medicinal and Aromatic Plants*, 5:258.
- Hanuš, L.O., Shkrob, I., and Dembitsky, V.M., (2008) Lipids and fatty acids of wild edible mushrooms of the genus *Boletus*. *Journal Food Lipids* 15: 370–383
- He, B. L., You, L. R., Ye, Z. W., Guo, L. Q., Lin, J. F., Wei, T. and Zheng, Q. W. (2018b). Construction of novel cold-tolerant strains of *Volvariella volvacea* through protoplast fusion between *Volvariella volvacea* and *Pleurotus eryngii*. *Scientia Horticulturae* 230: 161–168.
- He, M. Q., Hyde, K. D., Wei, S.L., Xi, Y. L. et al. (2018a). Three new species of *Agaricus* section *Minores* from China. *Mycosphere*, 9(2): 189–201.
- Hearst, R., Nelson, D., McCollum, G., Millar, B. C., Maeda, Y., Goldsmith, C. E. and Moore, J. E. (2009). An examination of antibacterial and antifungal properties of constituents of Shiitake (*Lentinula edodes*) and Oyster (*Pleurotus ostreatus*) mushrooms. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 15(1): 5-7.
- Heleno, S. A., Barros, L., Sousa, M. J., Martins, A., Santos-Buelga, C. and Ferreira I. C. F. R. (2011). Targeted metabolites analysis in wild *Boletus* species. *LWT - Food Science and Technology*, 44: 1343-1348.
- Heleno, S. A., Stojković, D., Barros, L., Glamoclija, J., Soković, M., Martins, A., Queiroz, M. J. R. P., Ferreira, I.C.F.R. (2013) A comparative study of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Morchella esculenta* (L.) Pers. from Portugal and Serbia. *Food Research International*, 51(1): 236-243.
- Hobbs, C. (1995). *Medicinal Mushrooms*. Botanica Press, 10226 Empire Grade, Santa Cruz, CA 95060.
- Horio, H. and Ohtsuru, M. (2001) Maitake ("*Grifola frondosa*") improve glucose tolerance of experimental diabetic rats. *Journal of Nutritional Science & Vitaminology*, 47: 57-63.
- Horrobin D. F. and Huang Y. S., (1987). The role of linoleic acid and its metabolites in the lowering of plasma cholesterol and the prevention of cardiovascular disease. *International Journal Of Cardiology*, 17: 241–55
- Hu, Y. N., Sung, T. J., Chou, C. H., Liu, K. L., Hsieh, L. P. and Hsieh, C. W. (2019). Characterization and Antioxidant Activities of Yellow Strain *Flammulina velutipes* (Jinhua Mushroom) Polysaccharides and Their Effects on ROS Content in L929 Cell. *Antioxidants*, 8: 298.
- Imazeki, R. and Hongo, T. (1985). *Colored Illustrations of Fungi of Japan II*. Osaka: Hoikusha. 134 (in Japanese).
- Jana, P. and Acharya, K. (2020). Mushroom: A New Resource for Anti-Angiogenic Therapeutics, *Food Reviews International*, DOI: 10.1080/87559129.2020.1721529
- Jiskani M. M. (2001). Energy potential of mushrooms. *Dawn Econ. Bus. Rev.*, 4.
- Jwanny, E. W., Rashad, M. M. and Abdu, H. M., (1995). Solid-state fermentation of agricultural wastes into food through *Pleurotus* cultivation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 50, 71- 78.
- Kadnikova, I. A., Costa, R., Kalenik, T. K., Guruleva, O. N., and Yanguo, S. (2015). Chemical Composition and Nutritional Value of the Mushroom *Auricularia auricula-judae*. *Journal of Food and Nutrition Research*, 3(8): 478-482. doi: 10.12691/jfnr-3-8-1.
- Kalač, P. (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: a review. *Food Chemistry*. 113 (1): 9–16.
- Karaman, M., Jovin, E., Malbasa, R., Matavuly, M. and Popovic, M. (2010). Medicinal and Edible Lignicolous Fungi as Natural Sources of Antioxidative and Antibacterial Agents. *Phytotherapy Research*, 24: 1473-1481.
- Kitzberger, C. S., Lomonaco, R. H., Michielin, E. M., Danielski, L., Correia, J. and Ferreira, S. R. (2009). Supercritical fluid extraction of Shiitake

- oil: curve modeling and extract composition. *Journal of Food Engineering*, 90(1), 35-43.
- Kerrigan, R. W. (2016) – *Agaricus* of North America. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 114, 1–574.
- Khan, A., Tania, M., Liu, R. and Rahman, M.M. (2013). *Hericium erinaceus*: An Edible Mushroom with Medicinal Values. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 10: 253-258.
- Khan, S. M., Kausar, A. G. and Ali, M. A., (1981). Yield performance of different strains of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on paddy straw in Pakistan. *Mushroom Science XI. Proceeding of the Eleventh International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi*, Australia, 675-678.
- Kim, T. I., Park S. J., Choi C. H., Lee S. K. and Kim W. H. (2004). Effect of ear mushroom (*Auricularia*) on functional constipation. *Korean Journal of Gastroenterology* 44: 34–41.
- Korkmaz, C. and Türkoğlu, A. (2016). Establishment of Truffiere, Management and Harvest. *Mugla Journal of Science and Technology*, Special Issue: 11-12.
- Kuo C. F., Hsieh C. H. and Lin W. Y., (2011). Proteomic response of Lab-activated RAW 264.7 macrophages to the anti-inflammatory property of fungal ergosterol. *Food Chemistry*, 126:207–12.
- Kuo, M. (2013). *Flammulina velutipes*. Retrieved from the MushroomExpert.Com Web site: http://www.mushroomexpert.com/flammulina_velutipes.html (Erişim tarihi: 10.11.2019).
- Kuo, M. (2018) – The genus *Agaricus*. Retrieved from the *Mushroom Expert.Com* (accessed 14 July 2019).
- Leong, P. C.,(1980). Utilisation of Cotton Waste Substrate with Temperature Treatment for the Cultivation of Oyster Mushroom in Singapore. *Singapore Journal of Primary Industries*, 8 (1): 21-27.
- Litchfield, J. H., Vely, V. G. and Overbeck, C. R. (1963). Nutrient content of morel mushroom mycelium: Amino acid composition of the protein. *Journal of Food Science*, 28: 741.
- Li, S. H., Sang, Y. X., Zhu, D., Yang, Y. N., Lei, Z. F. and Zhang, Z. Y. (2013). Optimization of fermentation conditions for crude polysaccharides by *Morchella esculenta* using soybean curd residue. *Industrial Crops and Products*, 50: 666–672.
- Liu, G.T. (1999). Recent advances in research of pharmacology and clinical applications of *Ganoderma* P. Karst. species (*Aphyllphoromycetidae*) in China. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 1:63-67
- Liu, X, Yuan J. P, Chung C. K and Chen X. J. (2002). Antitumor activity of the sporoderm-broken germinating spores of *Ganoderma lucidum*. *Cancer Letters*. 182: 155–61.
- Maitake, Products Inc. (2001) Company profile. Maitake Products Inc., 2001.
- Manzi, P., Aguzzi, A. And Pizzoferrato, L. (2001). “Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy”, *Food Chemistry*, 73: 321-325.
- Manzi, P., Marconi, S., Aguzzi, A., and Pizzoferrato, L. (2004). Commercial Mushrooms: Nutritional Quality and Effect of Cooking, *Food Chemistry*, 84: 201-206.
- Ma-Renwei, M.A. (1988). Waste Rice Straw-Scrapped that Can Be Utilized for Growing *Pleurotus florida*. *Edible Fungi of China*, 1: 33.
- Mau, J. L, Lin, H. C, and Chen, C. C. (2001). Non-volatile components of several medicinal mushrooms. *Food Research International*. 34: 521–526.
- Mau, J. L., Chang, C. N., Huang, S. J., and Chen, C. C. (2004). Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia. *Food Chemistry*, 87: 111–118.
- Mau, J. L., Wu, K. T., Wu, J. H. and Lin, Y. P. (1998) Nonvolatile taste components of ear mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 4583–4586.
- Mayuzumi, Y. and Mizuno, T. (1997) Cultivation Methods of Maitake ("*Grifola frondosa*"). *Food Reviews International*, 13: 357-364.

- Mayzumi, F., Okamoto, H., and Mizuno, T. (1997) Cultivation of Reddish Reishi, *Food Reviews International*, 13: 365–370.
- MC., (2007) Mushrooms Canada. Health Sheet. Published by Data of Mushrooms Canada. Canada, 1-3
- Mello, A., Ghignone, S., Vizzini, A., Sechi, C., Ruiu, P. and Bonfante, P. (2006). ITS primers for the identification of marketable boletes". *Journal of Biotechnology*, 121, 318-329.
- Mizuno, T. and Zhuang, C. (1995) Maitake, "*Grijofa frondosa*": Pharmacological Effects. *Food Reviews International*, 11: 135-149.
- Mizuno, T., Sation, H., Nishitoba, T., and Kawagishi, H. (1995). Antitumor active substances from mushroom. *Food Review International*, 11, 23–61.
- Montecchi, A. and Sarasini, M. (2000). Funghi ipogei d'Europa. Associazione Micologica Bresadola (eds), Reggio Emilia, Italy. Vicenza : Fondazione Centro Studi Micologici dell' *A.M.B.*, 714.
- Montoya-Alvarez, A. F., Hayakawa, H., Minamya, Y., Fukuda, T., López-Quintero, C. A. and Franco-Molano, A. E. (2011). Phylogenetic relationships and review of the species of *Auricularia* (Fungi: Basidiomycetes) in Colombia. *Caldasia*, 33(1): 55–66.
- Nanba, H. and Kubo, K. (1997) Effect of Maitake D-fraction on cancer prevention. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 833: 204-207.
- Nitha, B., Fijesh, P. V. and Janardhanan, K. K. (2013). Hepatoprotective activity of cultured mycelium of Morel mushroom, *Morchella esculenta*. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65: 105–112.
- Nölle, N., Argyropoulos, D., Ambacher, S., Müller, J., Biesalski, H. K. (2017). Vitamin D₂ enrichment in mushrooms by natura lor artificial UV-Light during drying. *LWT – Food Science and Technology*, 85: 400-404. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.072>
- Nuhn, M. E., Binder, M., Taylor, A. F. S., Halling, R. E. and Hibbet, D. S. (2013). Phylogenetic overview of the boletineae. *Fungal Biology*, 1-33.
- Olake, J. K. ve Adebayo, E.A. (2015). Effectiveness of Immunotherapies from Oyster Mushroom (*Pleurotus* species) in the Management of Immunocompromised Patients. *International Journal of Immunology*, 3 (2-1): 8-20.
- Ooi, V. E. C. (2000). Medicinally important fungi. *Mushroom Science*, 15 (1): 41-51.
- Park, G. and Kwang H.O. (2001). Nutritional Value of a Variety of Mushrooms.
- Parra, L. A. (2013) – *Agaricus* L.: *Allopsalliota Nauta & Bas*, Fungi Europaei, Alassio, Edizioni Candusso, 1A.
- Pegler, D. N. (2003). Useful fungi of the world: the monkey head fungus. *Mycologist*, 17: 120-121.
- Phillips, K. M. and Rasor, A. S. (2013). A nutritionally Meaningful Increase in Vitamin D in Retail Mushrooms is Attainable by Exposure to Sunlight Prior to Consumption. *Journal of Nutrition and Food Science*, 3(6): 236-243. Doi: 10.4172/2155-9600.1000236
- Rahman, M. A.; Hossain, S., Abdullah, N. and Aminudin, N. (2020) Lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes) ameliorates spatial learning and memory deficits in rats with hypercholesterolemia and Alzheimer's disease. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 22: 93–103
- Rai, R. D. and Arumuganathan, T. (2008). Post harvest technology of mushrooms. National Research Centre for Mushroom (Indian Council of Agricultural Research). *Technical Bulletin*, 1-31. New Delhi: Yugantar Prakashan Pvt. Ltd.
- Ramsden C. E., Zamora D., Leelarthae-pin B., Majchrzak-Hong S. F., Faurot K. R., Suchindran C. M., et al. (2013). Use of dietary linoleic acid for secondary prevention of coronary heart disease and death: evaluation of recovered data from the Sydney Diet Heart Study and updated meta-analysis. *BMJ*;346:1–18
- Ren, Z., Guo, Z., Meydan, S. and Wu D. (2008) White button mushroom enhances maturation of bone marrow derived dendritic cells and their antigen presenting function in mice. *Journal of Nutrition*, 138: 544-550

- Riu, H., Roig, G., Sancho, J. (1997). Production of carpophores on *Lentinus edodes* and *Ganoderma lucidum* grown on cork residues. *Misrobiologia* (Madrid Spain), 13(2): 185–192.
- Roberts J. S., Teichert A. and Mc Hugh T.H. (2008). Vitamin D2 formation from post-harvest UV-B treatment of mushrooms (*Agaricus bisporus*) and retention during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 4541-4544
- Roy, A., Prasad, P. and Gupta, N. (2014). *Volvariella volvacea*: A macrofungus having nutritional and health potential. *Asian Journal of Pharmaceutical Technology*, 4(2): 110–113.
- Royse, D. J. (2001). Cultivation of Shiitake Synthetic and Natural logs. <http://pubs.cas.psu.edu/FreePubs>.
- Royse, D. J., Baars, J. And Tan, Q. (2017). Current Overview of Mushroom Production in the World. *Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications*, Eds: Zied D.C. and Pardo-Giménez A., First Edition. John Wiley & Sons Ltd., 5-13.
- Saka, A.K., İslam, A., ve Pekşen, A.(2017). Trüf mantarı yetiştiriciliği. *Akademik Ziraat Dergisi*, 6: 329-334.
- Sakamoto, Y., Tamai, Y. and Yajima, T. (2004). Influence of Light on the Morphological Changes that Take Place during the development of the *Flammulina velutipes* Fruit Body. *Mycoscience*, 45: 333-339.
- San Antonio, J. P. And Hanners, P. K. (1983). Spawn Disk Inoculation of Logs to Produce Mushrooms. *Horticulture Science*, 18 (5): 708- 710.
- Sasaki, H., Aoyagi, Y., Kasuga, A., Tanaka, Y., Matsuzawa, M. and Kawai, H. (1995). Relationships between fruit body compositions and substrates in Bunashimeji *Hypsizygus marmoreus* (Peck) Bigelow, Nameko [*Pholiota nameko* (T. Ito) S. Ito Imai in Imai], and Enokitake [*Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) Sing.] mushrooms cultivated on sawdust substrate beds. *Nippon Shokubun Kagaku Kagaku Kaishi*, 42: 471–477 (in Japanese).
- Sekara, A., Kalisz, A., Grabowska, A. and Siwulski M. (2015). *Auricularia* spp. – mushrooms as Novel Food and therapeutic agents – a review. *Sydowia*, 67: 1–10.
- Selvi, S, Devi, P.U., Suja, S. and Murugan, S. (2007). Comparison of nonenzymic antioxidant status of fresh and dried form of *Pleurotus florida* and *Calocybe indica*. *Pakistan Journal of Nutrition*. 6(5): 468 – 71.
- Sen, I., Alli, H. and Civelek, H. S. (2016). Checklist of Turkish truffles. *Turkish Journal of Life Sciences*, 1/2:103-109.
- Sermkiattipong, N., and Charoen, S. (2014). Development of straw mushroom strain for high yield by gamma radiation. *International Journal of Agricultural Technology*, 5, 1051–1064.
- Sesli, E. and Denchev, C. M. (2008). Checklists of the Myxomycetes, Larger Ascomycetes, and Larger Basidiomycetes in Turkey. *Mycotaxon*, 106: 65-67.
- Sesli, E., Asan, A., Selçuk, F., Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Alli, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., ve ark. (2020). Türkiye Mantarları Listesi. *Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını*. İstanbul.
- Sharma, V. P., Kumar, S. and Tewari, R. P. (2009). *Flammulina velutipes*, the Culinary Medicinal Winter Mushroom. Directorate of Mushroom Research, *Indian Council of Agricultural Research*, 6.
- Shen, Q. and Royse, D. J. (2001) Effects of nutrient supplements on biological efficiency, quality and crop cycle time of maitake ("*Grifola frondosa*"). *Applied Microbiology & Biotechnology*, 57: 74-78.
- Shevelev, O. B., Seryapina, A. A., Zavjalov, E. L., Gerlinskaya, L. A., Goryachkovskaya, T. N., Slynko, N. M., Kuibida, L.V. Peltek, S.E., Markel, A.L. and Moshkin, M.P. (2018). Hypotensive and neurometabolic effects of intragastric Reishi (*Ganoderma lucidum*) administration in hypertensive ISIAH rat strain. *Phytotherapy*, 41: 1–6.
- Shao S., Hernandez M., Kramer J. K. G., Rinker D. L. and Tsao R., (2010). Ergosterol profiles, fatty acid composition, and antioxidant activities of button mushrooms as affected by tissue part and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 58: 11616–25.

- Simsek, H., Baysal E., Colak, M., Toker, H. and Yilmaz, F. (2008). Yield response of mushroom (*Agaricus bisporus*) on wheat straw and waste tea leaves based composts using supplements of some locally available peats and their mixture with some secondary casing materials. *African Journal Biotechnology*, 7(2): 088-094
- Singer, R., (1986). The Agaricales in the Modern Taxonomy. edn. 4. Koenigstein: *Koeltz Scientific Books*.
- Sitta, N., and Floriani, M., (2008). "Nationalization and globalization trends in the wild mushroom commerce of Italy with emphasis on porcini (*Boletus edulis* and Allied Species)", *Economic Botany*, 62: 307-322.
- Siwulski, M., Rzymiski, P., Budka, A., Kalač, P., Budzyńska, S., Dawidowicz, L., Hajduk, E., Kozak, L., Budzulak, J., Sobieralski, K. ve Niedzielski, P. (2019). The Effect of Different Substrates on the Growth of Six Cultivated Mushroom Species and Composition of Macro and Trace Elements in Their Fruiting Bodies. *European Food Research Technology*, 245(2): 419-431.
- Spencer, D. M. (1985) . The mushroom—its history and importance. In Flegg PB, Spencer DM, Wood DA. *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*, 1–8.
- Stamets, P. (1993). Growing Gourmet and Medicinal Fungi. Ten Speed Press and Mycomedia, *Olympia*, USA.
- Stamets, P. (2000). Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Berkeley, California: Ten Speed Press. *Guide to Cultivation of Saprobic Mushrooms*.
- Stott, K. and Mohammed, C., (2004). Specialty Mushroom Production Systems: Maitake and Morels. *A report for the Rural Industries Research and Development Corporation*, 04: 024.
- Sun, X., Huang, W., Xiao, S., Liang, C., Zhang, S., Liu, Z., et al. (2014). Extracellular expression and efficient purification of a functional recombinant *Volvariella volvacea* immunomodulatory protein (FIP-vvo) using pichia pastoris system. *Protein Expression and Purification*, 94: 95–100. doi: 10.1016/j.pep.2013.10.022
- Tang, L., Xiao, Y., Li L., Guo, Q. and Bian, Y. (2010). Analysis of genetic diversity among chinese *Auricularia auricular* cultivars using combined ISSR and SRAP markers. *Current Microbiology*, 61: 132–140.
- Trappe, J.M., Molina, R. L., Daniel, L., Cazares, E., Pilz, D., Smith, Jane, E., Castellano, M.A. and Miller, S.L. (2009). Diversity, ecology, and conservation of truffle fungi in forests of the Pacific Northwest. Gen. Tech. Rep. PNW-GTR-772. Portland, OR: U.S. *Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station*, 194.
- Turkoglu, A., Castellano, M. A., Trappe, J. M. and Güngör, M. Y. (2015). Turkish truffles I: 18 new records for Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 39:359-376.
- Cohen, R., Persky, L. and Hadar, Y. (2002). Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58: 582-594.
- Vane, C. H. (2003). "Monitoring decay of black gum wood (*Nyssa sylvatica*) during growth of the Shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) using diffuse reflectance infrared spectroscopy". *Applied Spectroscopy*. 57(5): 514–517. Bibcode:2003ApSpe..57..514V. doi:10.1366/000370203321666515. PMID 14658675. S2CID 27403919.
- Verma, R. N., Singh, G. B. and Bilgrami, K. S. (1987). Fleshy fungal flora. India- Manipur and Megalaya. *Indian mushroom Science*, 2:414-421.
- Wagay, J. A. and Vyas, D. (2011) Phenolic quantification and antioxidant activity of *Morchella esculenta*. *International Journal Pharmacy Biological Science*, 2(1):188 – 197.
- Wasser, S. (2004). "Shiitake (*Lentinula edodes*)". Coates PM'de; Blackman M; Cragg GM; Beyaz JD; Moss J; Levine MA. (eds.). *Diyet Takviyeleri Ansiklopedisi. CRC Basın*. 653–64. ISBN 978-0-8247-5504-1.
- Wasser, S. P. (2010) Medicinal mushroom science: history, current status, future trends, and unsolved problems. *International Journal Medical Mushrooms*, 12(1):1–16

- Watkinson, S. C., Boddy, L., Money, N. P. and Carlile, M. J. (2016). The Fungi, Third Edition, Chapter 1 - *Fungal Diversity*.1-36.
- Wisitrassameewong, K., Looney, B. P., Le, H. T., De Crop, E., Das, K., Van de Putte, K. and Verbeken, A. (2016). *Lactarius* subgenus Russularia (Basidiomycota, Russulales): Novel Asian species, worldwide phylogeny and evolutionary relationships. *Fungal biology*, 120(12): 1554-1581.
- Wong, K. H., Naidu, M., David, R. P., Abdulla, M. A., Abdullah, N., Kuppusamy, U. R., and Vikineswary, S. (2009b). Functional recovery enhancement following Injury to rodent peroneal nerve by lion's mane mushroom, *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Aphyllphoromycetidae). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 11: 225–236.
- Wong, K. H., Naidu, M., David, R. P., Abdulla, M. A., Abdullah, N., Kuppusamy, U. R., et al. (2011). Peripheral nerve regeneration following crush injury to rat peroneal nerve by aqueous extract of medicinal mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Aphyllphoromycetidae). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-10. doi:10.1093/ecam/nej062.
- Wong, K. H., Vikineswary, S., Noorlidah, A., Kuppusamy, U. R., and Naidu, M. (2009a). Effects of cultivation techniques and processing on antimicrobial and antioxidant activities of *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. extracts. *Food Technology and Biotechnology*, 47: 47-55. 110
- Wong, K. H., Vikineswary, S., Noorlidah, A., Murali, N., and Keynes, R. (2007). Activity of aqueous extracts of Lion's Mane mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.:Fr.) Pers. (Aphyllphoromycetidae) on the neural cell line NG108-15. *International Journal of Medicinal Mushroom*, 9: 57-65.
- Wunjuntuk, K., Ahmad, M., Techakriengkrai, T., Chunhom, R., Jaraspermsuk, E., Chaisri, A., Kiwwonggam, R., Wuttimongkolkul, S., Charoenkiatkul, S. (2022) Proximate composition, dietary fibre, beta-glucan content, and inhibition of key enzymes linked to diabetes and obesity in cultivated and wild mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 105: 104226.
- Xu, Z., Fu, L., Feng, S., Yuan, M., Huang, Y., Liao, J., Zhou, L., Yang, H., Ding, C., (2019), Chemical Composition, Antioxidant and Antihyperglycemic Activities of the Wild *Lactarius deliciosus* from China. *Molecules*, 24(7): 1357.
- Yuen, J. W. and Gohel, M. D. I. (2005) Anticancer effects of *Ganoderma lucidum*: A review of scientific evidence. *Nutrition Cancer*. 53: 11–17.
- Yuying, L. (1989). Experiments on Cultivation of *Pleurotus ostreatus* with Sugar Beet Residue as the Main Component. *Edible-Fungi (China)*, 1: 24.
- Zhang Y. R., Hu D. D., Gu J. G., Hu Q. X., Zuo X. M. and Wang H. X. (2012) Development of SSR markers for typing cultivars in the mushroom *A. auricula-judae*. *Mycological Progress* 11: 587–592.
- Zhang, J.J., Li, Y., Zhou, T., Xu DP., Zhang, P. and Li, S. (2016). Bioactivities and health benefits of mushrooms mainly from China. *Molecules*, 21: 1– 16.
- Zhao, C.; Fan, J.; Liu, Y.; Guo, W.; Cao, H.; Xiao, J.; Wang, Y. and Liu, B. (2019). Hepatoprotective activity of *Ganoderma lucidum* triterpenoids in alcohol-induced liver injury in mice, an iTRAQ-based proteomic analysis. *Food Chemistry*, 271: 148–156.
- Zhao, J. D. (1989). The Ganodermataceae in China. *Bibliotheca Mycologica*, 132. J. Cramer, Berlin, Stuttgart.
- Zhao, J. D. and Zhang, X. Q. (1994). Importance, distribution and taxonomy of Ganodermataceae in China. In: Buchanan, P.K., Hseu, R.S. and Moncalvo, J.M. (eds) *Ganoderma Systematics, Phytopathology and Pharmacology*. Proceedings of Contributed Symposia 59A, B, Fifth International Mycological Congress, Vancouver, August 14–21: 1–2.
- Zhao, R. (2020) – Species of *Agaricus* section *Agaricus* from China. *Phytotaxa*, 452(1): 1–18.
- Zhao, R. L., Zhou, J. L., Chen, J. and Margaritescu S. (2016). Towards standardizing taxonomic ranks using divergence times – a case study for

reconstruction of the *Agaricus* taxonomic system. *Fungal Diversity*,78: 239–292.

Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11: 611–615.

Zou, Y., Xie C., Fan G., Gu Z. and Han Y. (2010) Optimization of ultrasound-assisted extraction of melanin from *Auricularia auricular* fruit bodies.



FUNCTIONAL AND TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF *CANDIDA ZEYLANOIDES* STRAINS ISOLATED FROM PASTIRMA

Bilge Sayın Börekçi^{1*}, Güzin Kaban², Mükerrerem Kaya²

¹Ardahan University, School of Tourism and Hotel Management, Department of Gastronomy and Culinary Arts, Ardahan, Turkey

²Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Erzurum, Turkey

Received / Geliş: 21.02.2022; Accepted / Kabul: 27.05.2022; Published online / Online baskı: 22.06.2022

Sayın-Börekçi, B., Kaban, G., Kaya, M. (2022). Functional and technological properties of *Candida zeylanoides* strains isolated from pastırma. *GIDA* (2022) 47 (4) 564-575 doi: 10.15237/gida.GD22028

Sayın-Börekçi, B., Kaban, G., Kaya, M. (2022). Pastırmadan izole edilen *Candida zeylanoides* suşlarının fonksiyonel ve teknolojik özellikleri. *GIDA* (2022) 47 (4) 564-575 doi: 10.15237/gida.GD22028

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate some of the technological and functional properties of 16 autochthonous *Candida zeylanoides* strains isolated and identified from *pastırma*, a traditional dry-cured meat product. Consequently, it was determined that some strains could grow at high sugar concentrations (45%) while all strains were resistant to 10% NaCl concentration and most strains were tolerant to 10% ethanol and 0.5% bile salt levels. Furthermore, the certain strains showed good growth at pH 3.0 and only 6 strains were able to grow at 42°C. All strains showed catalase activity. It was detected that the strains did not produce hydrogen sulfide (H₂S) and also had no DNase, nitrate reductase, proteolytic, and lipolytic activities. It was found that some strains exhibited urease activity and all strains that could grow at 37°C had β-hemolytic activity and formed biofilm. Moreover, *C. zeylanoides* strains showed sensitivity to nystatin, fluconazole, voriconazole, and ketoconazole.

Keywords: Autochthonous yeast strain, pastırma, technological property, biofilm, antifungal, hemolysis

PASTIRMADAN İZOLE EDİLEN *CANDIDA ZEYLANOIDES* SUŞLARININ FONKSİYONEL VE TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİ

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, geleneksel kuru kür edilmiş bir et ürünü olan pastırmadan izole edilen ve tanımlanan 16 yerel *Candida zeylanoides* suşunun bazı teknolojik ve fonksiyonel özelliklerinin araştırılmasıdır. Sonuç olarak, bazı suşların yüksek şeker konsantrasyonlarında (%45) gelişebildiği, tüm suşların %10 NaCl konsantrasyonuna dirençli olduğu ve suşların çoğunun %10 etanol ve %0.5 safra tuzu seviyelerine toleranslı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, belirli suşlar pH 3.0'te çok iyi gelişme göstermiş ve 42°C'de sadece 6 suş gelişebilmiştir. Tüm suşlar katalaz aktivitesi göstermiştir. Suşların hidrojen sülfür (H₂S) oluşturmadığı ve ayrıca DNaz, nitrat redüktaz, proteolitik ve lipolitik aktivitelerine sahip olmadığı tespit edilmiştir. Bazı suşların üreaz aktivitesi sergilediği ve 37°C'de gelişebilen tüm suşların β-hemolitik aktiviteye sahip olduğu ve biyofilm oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca, test edilen *C. zeylanoides* suşları nistatin, flukonazol, vorikonazol ve ketokonazole karşı hassasiyet göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Yerel maya suşu, pastırma, teknolojik özellik, biyofilm, antifungal, hemoliz

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: bilgesayin@ardahan.edu.tr

☎: (+90) 478 211 75 75

☎: (+90) 478 211 75 09

Bilge Sayın Börekçi; ORCID no: 0000-0002-1898-0428

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

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

INTRODUCTION

Many industrial processes such as food, feed ingredients and heterologous protein production, traditional food fermentation, biocatalysis, fundamental biological and biomedical research, bio-control and environmental biotechnology studies are carried out using yeasts (Johnson and Echavarri-Erasun, 2011). One of the important yeast genus *Candida* comprises 150 asporogenous yeasts species and they are mostly classified under the *Deuteromyces* class (Scully et al., 1994). Yeasts are one of the predominant microorganisms that act during the ripening period of dry-cured meat products. Dry cured meats are one of the oldest products produced based on traditional practices by processes such as salting followed by drying and smoking (Toldrá, 2006). Pastırma is the most typical Turkish dry-cured meat product and has a characteristic flavor which is obtained from the whole muscles located in certain parts of water buffalo and beef carcasses. Lactic acid bacteria and Gram-positive-catalase positive cocci have been identified as the two most important groups of microorganisms in pastırma production. It was also indicated that yeast and mold count increases during drying stages (Kaban, 2013). *Debaryomyces hansenii*, *Candida zeylanoides*, *Yarrowia lipolytica*, and *Rhodotorula* spp. can be isolated from these types of products. Some of them are responsible for the generation of volatile compounds while some others were reported as spoilage microorganisms (Andrade et al., 2006). It is known that *D. hansenii* and *C. zeylanoides* are often isolated from meat products, possibly due to their tolerance to both low temperatures and high salt concentrations (Mortensen et al., 2008). *C. zeylanoides* is especially dominant in the early stages of dry-cured meat production whereas *D. hansenii* dominates late at the ripening stage (Asefa et al., 2009). *C. zeylanoides* have been isolated from different sources such as Spanish fermented sausages (Encinas et al., 2000), dry-cured ham (smoked), Fenalår (unsmoked) (Asefa et al., 2009), Italian salami (Giarratana et al., 2014), sucuk (Öztürk and Sağdıç, 2014), and pastırma (Öztürk, 2015). However, there is little information about the yeasts isolated from pastırma (Öztürk, 2015; Kaya et al., 2017). For this reason, the aim of the present study was to characterize 16 autochthonous *C. zeylanoides*

strains, isolated and identified from pastırma from a technological and functional point of view.

MATERIAL AND METHODS

Microorganisms

In this study, 16 *Candida zeylanoides* strains (3.13, 4.1, 4.6, 4.12, 4.14, 7.9, 7.10, 7.12, 8.1, 8.3, 8.4, 11.9, 12.3, 13.5, 13.7, and 13.13) that were isolated and identified from pastırma were used (Kaya et al., 2017). *C. zeylanoides* strains were cryopreserved in glycerol-containing (50% v/v) Malt Extract Broth (MEB) and kept at -80°C until use. Before each experiment, yeast cultures were incubated at 28°C for 48 h in tubes containing MEB (Merck, Darmstadt, Germany).

Methods

Determination of growth characteristics under different conditions

The cultures were inoculated (2%, v/v) into the MEB, which were adjusted to different glucose (30 and 45%), NaCl (5, 10 and 15%), ethanol (5, 10 and 15%), bile salt (0.1, 0.3 and 0.5%) and pH (3.0 and 5.0) levels to determine growth under different conditions. All cultures were incubated for 72 h. In order to evaluate yeast tolerance to bile salt, activated cultures were incubated at 37°C. To determine growth capabilities of yeasts at different temperatures, activated cultures were incubated at 15, 30, 37, and 42°C. For other tests (determination of growth at different glucose, NaCl, ethanol and pH levels), the cultures were incubated at 28°C. Growth of yeasts was measured by a spectrophotometer (Aquamate 9423 AQA 2000E, Thermo Scientific, England) at 600 nm.

Determination of biofilm formation

The Congo red agar method was used to investigate the biofilm formation of yeasts. The medium composition included brain heart infusion broth (37 g/L) (Oxoid, Basingstoke, UK), glucose (80 g/L) (Merck, Darmstadt, Germany), agar (10 g/L) (Merck, Darmstadt, Germany), and Congo red stain (0.8 g/L) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany). The Congo red stain was prepared as a concentrated aqueous solution and autoclaved at 121°C for 15 min. separately from other medium components

and added when the medium was cooled to 55°C. After inoculation, the cultures were incubated at 37°C for 48 h. The formation of red colonies was regarded as a positive result (Sida et al., 2016).

Determination of hydrogen sulfide (H₂S) formation

For this purpose, the cultures were inoculated on the triple sugar iron agar (Oxoid, Basingstoke, UK) and incubated at 30°C for 14 days. Black color formation was regarded as an indicator of the formation of H₂S by yeasts (Öztürk and Sağdıç, 2014).

Determination of hemolytic activity

The cultures were activated on Sabouraud dextrose agar (SDA; Oxoid, Basingstoke, United Kingdom) and inoculated onto the sheep blood SDA to investigate hemolytic activity. This medium was prepared by adding 7% (v/v) sheep blood to 100 mL of SDA supplemented with 3% (w/v) glucose. After 48 h of incubation at 37°C, zone formation was evaluated (Luo et al., 2001).

Determination of enzyme activities

Catalase activity was determined following the method proposed by Perricone et al. (2014). The formation of bubbles on Petri dishes by 3% hydrogen peroxide (Merck, Darmstadt, Germany) was regarded as a positive result.

Activated cultures were inoculated into the Christensen's urea agar (composition in g/L: agar, 15; NaCl, 5; Na₂HPO₄, 1.2; KH₂PO₄, 0.8; peptone, 1; glucose, 1; and phenol red, 0.012) to determine the urease activity. After autoclaving, 5 mL of sterile urea solution (40%) were added to 100 mL of medium. The strains were incubated for up to 7 days at 25°C. At the end of the incubation, a pink coloration was observed around colonies showing urease activity (Sen and Komagata, 1979).

The DNase Test Agar (Merck, Darmstadt, Germany) was used to analyze the DNase activity. Glucose and yeast extract (1%, w/v) were added to the medium. Then, pH was adjusted to 6.7 before sterilization. The activated

cultures were incubated at 25°C for 6 days. Then, 1 N HCl was poured into the Petri dishes and the following transparent zone formation was regarded as an indicator of DNase activity (Sen and Komagata, 1979). The *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 was used as the positive control.

Yeast cultures were inoculated into the nitrate broth (Merck, Darmstadt, Germany) and incubated at 30°C for 48 h. At the end of the incubation, 0.6% α -naphthylamine and 0.8% sulfanilic acid solutions, each prepared in 5N acetic acid, were added into the medium and presence of nitrate reductase was assessed with the red color formation. Zinc dust (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) was added to the tubes where color formation did not occur and the result was regarded as negative in terms of red color formation (Buxton, 2011).

To determine the proteolytic and lipolytic activities, the cultures into 50 mL of MEB in shake flasks were activated in a rotary shaker (JSSI-100, JS Research, Gongju, Korea) at 28°C, 180 rpm for 24 h. Activated cultures were added to the wells as 50 μ L. Modified methods by Öztürk and Sağdıç (2014) were used for these tests. Active cultures were inoculated to the pour plates which contained calcium caseinate agar and tributyrin agar (Merck, Darmstadt, Germany), respectively. The cultures were incubated at 30°C for 5 days. The transparent zone formation was associated with the presence of proteolytic and lipolytic activities. Additionally, the yeast extract agar (tryptone 6.0 g/L, yeast extract 3.0 g/L, and agar 15 g/L) containing 1% (v/v) Tween 80 and 0.01% (w/v) phenol red was used to determine the lipase activity. The pH of the medium was adjusted to 7.35 ± 0.05 before autoclave treatment. The active cultures inoculated into the wells were incubated at 37°C for 48 h, and the transformation of the medium from red to yellow was accepted as an indicator of lipase activity (Oliveira et al., 2017).

Determination of antifungal resistance

The antifungal resistance of the strains was evaluated using Mueller-Hinton agar (Merck, Darmstadt, Germany) which contained 2%

glucose and 0.5 µg/mL methylene blue. The cultures that were grown on the SDA were adjusted to 0.5 McFarland level in sterile 0.85% NaCl solution and spread evenly on the surface of the whole Petri dish using a sterile cotton swab. Then, the antifungal discs (Nystatin and Ketoconazole (Himedia, India); Voriconazole and Fluconazole (Oxoid, Basingstoke, United Kingdom)) were placed on the medium and incubated at 35°C for 24 h (Espinel-Ingroff, 2007).

RESULTS AND DISCUSSION

Growth characteristics under different conditions

Table 1 shows the results for the growth at different glucose concentrations (30 and 45%). *C. zeylanoides* 3.13, 4.6, 4.12, 7.10, 13.7 and 13.13 showed good growth both 30% and 45% glucose concentrations. Yeasts that can grow at a sugar level of 40-70% (w/w) are regarded as sugar-tolerant (Ok and Hashinaga, 1997). The cells need to cope with the osmotic stress due to the high sugar concentrations during the production of alcoholic beverages and other industrially-related processes (Gomar-Alba et al., 2015). Karasu-Yalcin et al. (2012) reported that *C. zeylanoides* strains isolated from Tulum cheese could not grow at the 60% glucose level (the growth at 50% glucose level was varied). Additionally, Yalcin and Ucar (2009) determined that all the selected strains of *C. zeylanoides* grew at 50% glucose level. However, Bai et al. (2010) have reached opposing conclusions that *C. zeylanoides* strains that were isolated from fermented milk could not tolerate this glucose level.

In a previous study, it was determined that all *C. zeylanoides* strains which were used in this study had the ability to grow at the 5% to 17.5% pure glycerol concentrations (Sayın Börekçi, 2020). *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Yarrowia*, or *Candida* can transform the crude glycerol fraction into biochemicals such as organic acids (citric, succinic, and malic acids), polyols (arabitol, erythritol, and mannitol), and single-cell oils. Some of the *Y. lipolytica*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. oleophila*, and *C. zeylanoides* strains can metabolize hydrophobic substrates and,

therefore, can adapt to mediums containing fats, oils, fatty acids, and hydrocarbons (Mitrea et al., 2019). Glycerol is used as a carbon source in industrial processes due to its higher degree of reduction per carbon atom compared to sugars (Xiberras et al., 2019). Mitrea et al. (2019) reported that 12.66 g/L of succinic acid was produced by *C. zeylanoides* 20367 after 96 h using pure glycerol as a substrate.

All strains were resistant to 5% and 10% NaCl concentrations as shown in Table 1. However, *C. zeylanoides* 3.13, 4.6, 4.12, 7.10, 7.12, 8.3, 8.4, 11.9, 13.5, 13.7 and 13.13 were not resistant to 15% NaCl concentration. Öztürk and Sağdıç (2014) and Öztürk (2015) found that *C. zeylanoides* strains were tolerant to 10 and 15% NaCl concentration, respectively. Another study showed that the *C. zeylanoides* strains could grow at 10% NaCl level but not at the 16% level (Yalcin and Ucar, 2009). Yeast growth and growth rate, yield of biomass, lag phase of growth and cell composition are affected by NaCl (Watson, 1970). NaCl tolerance, tolerance to low water activities and low pH values, and properties such as consumption of oxygen improving and accelerating color formation have been reported to be desirable properties for yeast starter cultures in meat fermentation (Sørensen, 1997). In addition, environmental pH is reported to be an important factor that determines the growth of yeasts in the presence of weak organic acids and affects the reaction of yeasts to high salt or sugar concentrations (Praphailong and Fleet, 1997).

The ethanol-tolerant yeasts are preferred in the fermentation industry and they are generally selected from osmotolerant species (Reed and Nagodawithana, 1988). Although brewing yeasts are tolerant to ethanol concentrations of 4-5% (v/v), yeasts that are used in winemaking are tolerant up to 20% (v/v) (Casey and Ingledew, 1986). However, ethanol has an inhibitory effect on growth of microorganism (You et al., 2003), thus, considering its inhibition of cell viability, and fermentation, specifying the parameters that will be used in the examination of ethanol tolerance is necessary (D'amore et al., 1990). In the study, the tolerance to ethanol was examined with respect to

cell growth. As a result, *C. zeylanoides* 13.5 was not resistant to 5% ethanol level while *C. zeylanoides* 8.1, 8.3, 8.4 and 11.9 did not grow at 10% ethanol level. Moreover, *C. zeylanoides* 4.12 strain showed good growth at 15% level of ethanol (Table 1).

Bile and pH tolerance are one of the most important properties that need consideration when selecting a strain since the first biological barriers for the probiotics are stomach acidity and bile salts in the intestine (Shakira et al., 2018). In this study, *C. zeylanoides* 3.13, 4.6, 4.12, 7.10, 13.7 and 13.13 had capability to good grow at 0.1, 0.3, and 0.5% bile salt concentrations while *C. zeylanoides* 4.1, 4.14, 8.1, 8.3, 8.4, 11.9 and 13.5 showed not growth at these levels (Table 1). Bile resistance is necessary for growth of organisms in the intestinal tract (Psomas et al., 2001). Öztürk and Sağdıç (2014) reported that the *C. zeylanoides* strains isolated from *sucuk* (a Turkish dry fermented sausage) were resistant to bile salt concentrations of 0.3%.

The pH value is a parameter affecting yeast growth, fermentation rate, and the formation of fermentation products (Liu et al., 2015). On the other hand, the growth performance at low pH levels can be an important criterion in the selection of the yeast strain for organic acid production, considering that pH values decrease during fermentation. In our study, all *C. zeylanoides* strains could grow at pH 3.0 (some of them albeit poorly). In addition, they showed moderate and good growth at pH 5.0 (Table 1). Öztürk (2015) reported that 48 of the 58 *C. zeylanoides* strains were able to grow at pH 2.5. In another study, no *C. zeylanoides* strains could grow at pH 1.5, and all strains could grow at pH 3.0 (Öztürk and Sağdıç, 2014).

As can be seen in Table 1, *C. zeylanoides* 3.13, 4.1, 4.6, 4.12, 4.14, 7.10, 13.7 and 13.13 showed moderate growth at 15°C. Furthermore, *C. zeylanoides* 3.13, 4.6, 4.12, 7.10, 7.12, 13.7 and 13.13 had good growth at 30 and 37°C. Lastly, only *C. zeylanoides* 3.13 showed good growth at 42°C (Table 1). For *C. zeylanoides* strains, Öztürk (2015) reported that better growth was observed at 10°C compared with 37°C. According to Rajkowska

and Kunicka-Styczyńska (2018), food-borne yeasts have ability to grow at body temperature is important but not the only factor when determining their potential virulence. Some researchers specified that *C. zeylanoides* strains isolated from sucuk and Turkish white cheese grew at 37°C (Öztürk and Sağdıç, 2014; Yalcin and Ucar, 2009). Karasu-Yalcin et al. (2012) reported that only some *C. zeylanoides* strains grew at 37°C. In addition, Bai et al. (2010) found that only 1 strain out of the 3 *C. zeylanoides* strains could grow at 37°C and 42°C.

Biofilm formation

As shown in Table 2, all strains that were able to grow at 37°C formed biofilm. Biofilm is defined as an aggregate of cells that grow by attaching to the surface by many microorganisms (Reynolds and Fink, 2001). The adhesion of yeast cells to the surface, formation of separate colonies, cell organization, and producing and secreting extracellular polymeric substances are the stages of biofilm formation (Cavalheiro and Teixeira, 2018). Disinfectant residues are not desired in the food industry and biofilms are resistant to chemical and physical processes. Therefore, biofilm formation should be controlled in the food industry and medical fields (Furukawa, 2015).

H₂S formation

H₂S is an aroma compound which is produced by yeast during fermentation. Off-flavors from volatile compounds derived from yeast metabolism are described as a problem for the wine and other fermented beverages. During fermentation, H₂S is formed in concentrations up to hundreds of µg/L. It is indicated that when the concentration reaches up to 1.6 µg/L in white wine, odor can be described as rotten eggs and putrefaction (Ugliano et al., 2010). As can be seen in Table 2, H₂S tests for all strains were negative. In agreement, Öztürk and Sağdıç (2014) obtained the same findings.

Hemolytic activity

In the present study, all strains that could grow at 37°C (*C. zeylanoides* 3.13, 4.6, 4.12, 7.9, 7.10, 7.12, 12.3, 13.7 and 13.13) had β-hemolytic activity

(Table 2). Figure 1a shows the zones in the Petri dishes, indicating the presence of hemolytic activity. The formation of a completely translucent zone is regarded as beta hemolysis while the formation of a greenish-black zone is regarded as alpha hemolysis (Luo et al., 2001). Hemolytic activity has been associated with the release of hemoglobin (Brilhante et al., 2016) and is used to determine the pathogenicity of yeasts (Öztürk and Sağdıç, 2014).

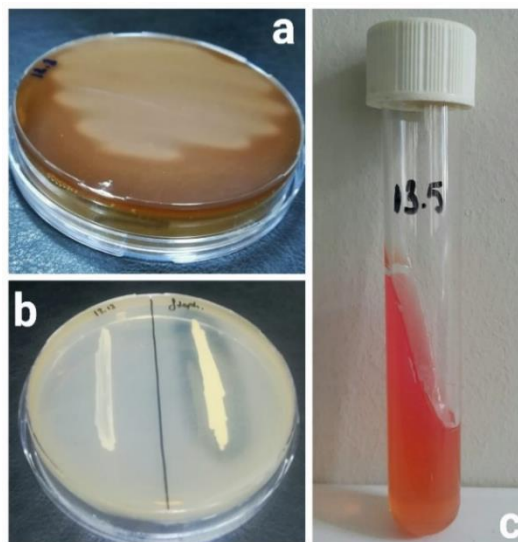
Catalase activity

Catalase is a tetrameric protein which is found in aerobic organisms that are responsible for hydrogen peroxide decomposition (Raveendran et al., 2018). Additionally, methanol, n-alkanes, fatty acids, amines, D-amino acids, and uric acid can increase the catalase levels in yeasts (Verduyn et al., 1988). The 16 strains used in this study were determined to be catalase positive (Table 2). Similarly, Öztürk and Sağdıç (2014) reached the same result and Öztürk (2015) reported that 53 of the 58 *C. zeylanoides* strains were catalase positive.

Urease and DNase activities

Table 2 shows that no strain had DNase activity. Figure 1b shows the transparent zone formed by *S. aureus* on the Petri dish whereas the autochthonous strain did not form a zone. The *C. zeylanoides* 4.1, 8.1, 8.3, 8.4, and 13.5 had urease activity (Table 2). The pink color formation in the medium indicates the presence of urease activity (Figure 1c). At the same time, strains isolated from naturally fermented milks (Bai et al., 2010), Erzincan tulum cheese (Karasu-Yalcin et al., 2012), Turkish white cheese (Yalcin and Ucar, 2009) had negative results for urea hydrolysis. Urease is a key hydrolytic enzyme that is responsible for the uptake and incorporation of carbon and nitrogen sources (Persike et al., 2002). It is a nickel-dependent metalloenzyme catalyzing the hydrolysis of urea, thus producing ammonia and carbamate. Urease is also a cytosolic enzyme and is found in bacteria, yeast, and several higher plants (Bharathi and Meyyappan, 2015). Urease and extracellular DNase activity has been closely associated with taxonomic positions in yeasts. Moreover, it was stated that ascosporegenous yeasts and their imperfect forms generally do not

have urease or extracellular DNase activity (Sen and Komagata, 1979).



a: β -hemolytic activity, b: DNase activity, c: Urease activity

Figure 1. Hemolytic, DNase and urease activities of *C. zeylanoides* strains

Nitrate reductase activity

Nitrate reductase is a molybdoprotein that catalyzes the reduction of nitrate to nitrite (Guerrero and Gutierrez, 1977). In this study, no strain had nitrate reductase activity (Table 2). However, there are some studies showing the presence of nitrate reductase activity in some *C. zeylanoides* strains (Öztürk and Sağdıç, 2014; Öztürk, 2015). Although yeasts can use many nitrogen sources, the use of nitrate and nitrite is restricted to a few species of different genera. Besides this, some yeasts can use nitrite but not nitrate (Siverio, 2002).

Proteolytic and lipolytic activities

The strains did not show measurable proteolytic activity (Table 2). Consistently, Corbo et al. (2001) and Öztürk (2015) determined that *C. zeylanoides* strains did not have proteolytic activity. On the contrary, Öztürk and Sağdıç (2014) revealed that the strains had weak proteolytic activity. In another study, some *C. zeylanoides* strains showed proteolytic activity (Pereira-Dias et al., 2000; Yalcin and Ucar, 2009). Otherwise, the strains did not show lipolytic activity in both media (Table 2).

However, there are studies reporting that all or some *C. zeylanoides* strains had lipolytic activity (Corbo et al. 2001; Sağdıç et al., 2010; Öztürk and Sağdıç, 2014; Öztürk, 2015). Some aroma precursors such as amino acids and fatty acid esters are formed by yeasts which have high levels of lipolytic and proteolytic activities (Suzzi et al.,

2001). In some food products such as cream, butter, cheese, and ultra-heat-treated products, lipases can cause flavor defects by breaking down fats (Stead, 1986). On the other hand, using yeasts that have high lipolytic activity helps the development of the typical sausage flavor (Durá et al., 2004).

Table 1. Growth characteristics of *C. zeylanoides* strains in different conditions

Strain	Glucose (%)		NaCl (%)			Ethanol (%)			Bile salts (%) 0.1/ 0.3/ 0.5	pH		Temperature (°C)			
	30	45	5	10	15	5	10	15		3.0	5.0	15	30	37	42
3.13	+++	+++	+++	++	N	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
4.1	++	+	+++	++	+	++	+	N	N	+	+++	++	+++	N	N
4.6	+++	+++	+++	++	N	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
4.12	+++	+++	+++	++	N	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
4.14	+++	++	+++	+++	+	++	+	N	N	+	+++	++	+++	N	N
7.9	+++	++	+++	+++	+	+++	+++	+	++	++	+++	+	+++	++	N
7.10	+++	+++	+++	++	N	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
7.12	++	++	+++	+++	N	+++	+++	N	++	+++	+++	+	+++	+++	N
8.1	++	+	+++	+++	+	++	N	N	N	++	+++	+	+++	N	N
8.3	++	+	++	++	N	+	N	N	N	+	++	+	++	N	N
8.4	++	+	++	+	N	+	N	N	N	+	++	+	++	N	N
11.9	++	+	++	++	N	++	N	N	N	++	+++	+	+++	N	N
12.3	++	+	+++	+++	+	+++	+++	N	++	+++	+++	+	+++	++	N
13.5	++	+	++	++	N	N	N	N	N	+	++	+	++	N	N
13.7	+++	+++	+++	++	N	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
13.13	+++	+++	+++	++	N	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++

Absorbance<0,1=No growth=N, 0,1-0,5= poor growth (+), 0,5-1= moderate growth (++), >1=good growth (+++)

Table 2. Some functional and technological properties of *C. zeylanoides* strains

Properties	Number of positive strains	Number of negative strains
Biofilm formation	9	7
H ₂ S formation	0	16
Catalase activity	16	0
DNase activity	0	16
Nitrate reductase activity	0	16
Urease activity	5	11
Hemolytic activity	9	7
Proteolytic activity	0	16
Lipolytic activity	0	16

Antibiotic resistance

The evaluation of antifungal susceptibility helps estimate the therapeutic concentrations of antifungal drugs usage for the treatment of *Candida* infections (Ramage et al., 2001). In the study, ketoconazole (15 µg), voriconazole (1 µg), fluconazole (25 µg), and nystatin (50 µg) were used to test antifungal susceptibility. The results were reported in accordance with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and the disk diffusion method was used for susceptibility testing of *Candida* spp. (NCCLS, 2004). All strains were susceptible to the antifungals. The inhibition zones ranged from 29±1.41 to 31±0.00 mm for nystatin, from 23±1.41 to 37±1.41 mm for fluconazole, from 28±2.83 to 43±1.41 mm for voriconazole, and from 37±1.41 to 44±0.00 for ketoconazole (Table 3). Figure 2 shows the inhibition zones of *C. zeylanoides* 12.3 against antifungals. Shokri (2014) grouped 1 of 14 *C. zeylanoides* strains as genotype A, 2 as genotype B, and 11 as genotype C. It was determined that strain of genotype A was significantly more susceptible to ketoconazole and nystatin than fluconazole. The strains of genotype B were more

susceptible to ketoconazole than other antifungal agents. The researchers also found that the strains of genotype C were significantly more susceptible to ketoconazole than fluconazole and nystatin. Öztürk and Sağdıç (2014) revealed that *C. zeylanoides* strains were sensitive to natamycin and nystatin and only two strains were resistant to fluconazole.



Figure 2. Zone diameters for antibiotic resistance test of *C. zeylanoides* 12.3

Table 3. Antifungal susceptibility of *C. zeylanoides* strains

<i>C. zeylanoides</i>	Nystatin	Fluconazole	Voriconazole	Ketoconazole
3.13	29±1.41	35±1.41	37±1.41	39±1.41
4.6	29±1.41	35±1.41	39±1.41	40±0.00
4.12	29±1.41	37±1.41	40±0.00	41±1.41
7.9	29±1.41	26±2.83	32±2.83	38±0.00
7.10	29±1.41	35±1.41	39±1.41	41±1.41
7.12	31±1.41	26±0.00	31±1.41	40±0.00
12.3	30±0.00	23±1.41	28±2.83	37±1.41
13.7	29±1.41	36±0.00	39±1.41	41±1.41
13.13	30±0.00	36±0.00	43±1.41	44±0.00

Susceptible (S), susceptible-dose dependent (S-DD) and resistant (R) species to nystatin (≥15 mm, 10-14 mm and none zone), fluconazole (≥19 mm, 18-15 mm and ≤14 mm), voriconazole (≥17 mm 14-16 mm and ≤13 mm) and ketoconazole (≥28 mm, 27-21 mm and ≤20 mm)

In a previous study, acid production capacities of the strains were measured according to zone formations on modified selective agar. Finally, the highest acid production was obtained by *C. zeylanoides* 7.12 with a formation of a 26 mm zone after 6 days of incubation. Under the same conditions, 12.3 (25 mm), 7.9 and 7.10 (24 mm) strains were found as the strains with the highest

acid production capacity after *C. zeylanoides* 7.12 (Sayın Börekçi, 2020). Kamzolova et al. (2011) investigated the acid production capacity of 41 yeast strains that were incubated at 28°C on selective agar medium buffered with CaCO₃ for 7 days. It was indicated that *C. zeylanoides* VKM Y-6, VKM Y-14, VKM Y-2324, and VKM Y-2595 could not form any zone. Although, *C. paludigena*

VKMY-2443 and some *Y. lipolytica* strains formed zones. Considering that the strains can grow even at high sugar concentrations and have acid production capabilities, it is thought that they can be used in microbial organic acid production. For instance, it is known that citric acid production needs a high substrate concentration (120-250 g/L) in the fermentation medium (Yalcin et al., 2010).

CONCLUSION

In the study, 16 *C. zeylanoides* strains were examined in terms of certain characteristics. Some strains were tolerant to high NaCl and sugar concentrations, and some of them were resistant to ethanol concentrations as high as 15%. In this way, it would be possible to select the most adequate strain/strains as producer microorganisms for value-added microbial biotechnological products and starter cultures for the production of foods. Finally, we conclude that future studies can be actualized with certain strains for microbial organic acid production, considering their acid production performances, growth capabilities at low pH, high glucose and high glycerol levels.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to thank the Eastern Anatolia High Technology and Research Center (DAYTAM) that helped carry out the analysis.

CONFLICT OF INTEREST

No content conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Bilge Sayın Börekçi: Formal analysis, Writing-original draft, Güzin Kaban: Supervisor, Writing-review & editing, Conceptualization. Mükerrerem Kaya: Writing-review & editing, Conceptualization.

REFERENCES

Andrade, M.J., Rodríguez, M., Sánchez, B., Aranda, E., Córdoba, J.J. (2006). DNA typing methods for differentiation of yeasts related to dry-cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 107:48–58.

Asefa, D.T., Møretro, T., Gjerde, R.O., Langsrud, S., Kure, C.F., Sidhu, M.S., Nesbakken, T., Skaar, I. (2009). Yeast diversity and dynamics in the production processes of Norwegian dry-cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 133:135–140.

Bai, M., Qing, M., Guo, Z., Zhang, Y., Chen, X., Bao, Q., Zhang, H., Song Sun, T. (2010). Occurrence and dominance of yeast species in naturally fermented milk from the Tibetan Plateau of China. *Canadian Journal of Microbiology*, 56:707–714.

Bharathi, N., Meyyappan, R. (2015). Production of urease enzyme from ureolytic yeast cell. *International Journal of Engineering Research and General Science*, 3:643–647.

Brilhante, R.S.N., Oliveira, J.S., Evangelista, A.J.J., Serpa, R., Silva, A.L.D., Aguiar, F.R.M., Pereira, V.S., Castelo-Branco, D.S.C.M., Pereira-Neto, W.A., Cordeiro, R.A., Sidrim, J.J.C., Rocha, M.F.G. (2016). *Candida tropicalis* from veterinary and human sources shows similar in vitro hemolytic activity, antifungal biofilm susceptibility and pathogenesis against *Caenorhabditis elegans*. *Veterinary Microbiology*, 192:213-219.

Buxton, R. (2011). Nitrate and nitrite reduction test protocols. *American Society for Microbiology*, 1-20.

Casey, G.P., Ingledew, W.M.M. (1986). Ethanol tolerance in yeasts. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 13: 219–280.

Cavalheiro, M., Teixeira, M.C. (2018). *Candida* Biofilms: Threats, challenges, and promising strategies. *Frontiers in Medicine*, 5:1–15.

Corbo, M.R., Lanciotti, R., Albenzio, M., Sinigaglia, M. (2001). Occurrence and characterization of yeasts isolated from milks and dairy products of Apulia region. *International Journal of Food Microbiology*, 69:147–152.

D'amore, T., Panchal, C.J., Russell, I., Stewart, G.G. (1990). A study of ethanol tolerance in yeast. *Critical Reviews in Biotechnology*, 9:287–304.

- Durá, M.A., Flores, M., Toldrá, F. (2004). Effect of *Debaryomyces* spp. on the proteolysis of dry-fermented sausages. *Meat Science*, 68:319-328.
- Encinas, J.P., López-Díaz, T.M., García-López, M.L., Otero, A., Moreno, B. (2000). Yeast populations on Spanish fermented sausages. *Meat Science*, 54:203-208.
- Espinel-Ingroff, A. (2007). Standardized disk diffusion method for yeasts. *Clinical Microbiology Newsletter*, 29:97-100.
- Furukawa, S. (2015). Studies on formation, control and application of biofilm formed by food related microorganisms. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 79:1050-1056.
- Giarratana, F., Muscolino, D., Beninati, C., Giuffrida, A., Ziino, G., Panebianco, A. (2014). Characterisation of yeasts isolated from 'Nduja of spilinga. *Italian Journal of Food Safety*, 3:78-80.
- Gomar-Alba, M., Morcillo-Parra, M.Á., del Olmo, M. I. (2015). Response of yeast cells to high glucose involves molecular and physiological differences when compared to other osmotic stress conditions. *FEMS Yeast Research*, 15:1-14.
- Guerrero, M.G., Gutierrez, M. (1977). Purification and properties of the NAD (P) H: nitrate reductase of the yeast *Rhodotorula glutinis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology*, 482:272-285.
- Johnson, E.A., Echavarri-Erasun, C. (2011). Yeast biotechnology. In: The yeasts, Kurtzman, C.P., Fell, J.W., Boekhout, T. (Eds.), 5th edition, Elsevier, pp. 21-44.
- Kaban, G. (2013). Sucuk and pastırma: Microbiological changes and formation of volatile compounds. *Meat Science*, 95:912-918.
- Kamzolova, S.V., Fatykhova, A.R., Dedyukhina, E.G., Anastasiadis, S.G., Golovchenko, N.P., Morgunov, I.G. (2011). Citric acid production by yeast grown on glycerol-containing waste from biodiesel industry. *Food Technology and Biotechnology*, 49:65-74.
- Karasu-Yalcin, S., Senses-Ergul, S., Ozbas, Z.Y. (2012). Identification and enzymatic characterization of the yeasts isolated from Erzincan tulum cheese. *Mljekarstvo*, 62:53-61.
- Kaya, M., Çinar, K., Fettahoğlu, K., Kaban, G. (2017). Genotypic identification of yeast from pastırma. 3rd International Symposium on Fermented Meat, 27-29 September, Clermont-Ferrand, France.
- Liu, X., Jia, B., Sun, X., Ai, J., Wang, L., Wang, C., Zhao, F., Zhan, J., Huang, W. (2015). Effect of initial pH on growth characteristics and fermentation properties of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Science*, 80:M800-M808.
- Luo, G., Samaranyake, L.P., Yau, J.Y.Y. (2001). *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. *Journal of Clinical Microbiology*, 39:2971-2974.
- Mitreá, L., Ranga, F., Fetea, F., Dulf, F.V., Rusu, A., Trif, M., Vodnar, D.C. (2019). Biodiesel-derived glycerol obtained from renewable biomass-a suitable substrate for the growth of *Candida zeylanoides* yeast strain ATCC 20367. *Microorganisms*, 7:265.
- Mortensen, H.D., Jacobsen, T., Koch, A.G., Arneborg, N. (2008). Intracellular pH homeostasis plays a role in the tolerance of *Debaryomyces hansenii* and *Candida zeylanoides* to acidified nitrite. *Applied and Environmental Microbiology*, 74:4835-4840.
- NCCLS. (2004). Reference method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline. NCCLS document M44-A. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Ok, T., Hashinaga, F. (1997). Identification of sugar-tolerant fermented yeasts vegetable isolated extracts. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 43:39-47.
- Oliveira, T., Ramalhosa, E., Nunes, L., Pereira, J.A., Colla, E., Pereira, E.L. (2017). Probiotic potential of indigenous yeasts isolated during the fermentation of table olives from Northeast of Portugal. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 44:167-172.
- Öztürk, I. (2015). Presence, changes and technological properties of yeast species during

- processing of pastirma, a Turkish dry-cured meat product. *Food Control*, 50:76–84.
- Öztürk, I., Sağdıç, O. (2014). Biodiversity of yeast mycobiota in “sucuk,” a traditional Turkish fermented dry sausage: Phenotypic and genotypic identification, functional and technological properties. *Journal of Food Science*, 79:M2315–M2322.
- Pereira-Dias, S., Potes, M.E., Marinho, A., Malfeito-Ferreira, M., Loureiro, V. (2000). Characterisation of yeast flora isolated from an artisanal Portuguese ewes’ cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 60:55–63.
- Perricone, M., Bevilacqua, A., Corbo, M.R., Sinigaglia, M. (2014). Technological characterization and probiotic traits of yeasts isolated from Altamura sourdough to select promising microorganisms as functional starter cultures for cereal-based products. *Food Microbiology*, 38:26–35.
- Persike, D.S., Bonfim, T.M.B., Santos, M.H.R., Lyng, S.M.O., Chiarello, M.D., Fontana, J.D. (2002). Invertase and urease activities in the carotenogenic yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous* (formerly *Phaffia rhodozyma*). *Bioresource Technology*, 82:79–85.
- Praphailong, W., Fleet, G.H. (1997). The effect of pH, sodium chloride, sucrose, sorbate and benzoate on the growth of food spoilage yeasts. *Food Microbiology*, 14:459–468.
- Psomas, E., Andrighetto, C., Litopoulou-Tzanetaki, E., Lombardi, A., Tzanetakis, N. (2001). Some probiotic properties of yeast isolates from infant faeces and Feta cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 69:125–133.
- Rajkowska, K., Kunicka-Styczyńska, A. (2018). Typing and virulence factors of food-borne *Candida* spp. isolates. *International Journal of Food Microbiology*, 279:57–63.
- Ramage, G., Vande Walle, K., Wickes, B.L., López-Ribot, J.L. (2001). Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45:2475–2479.
- Raveendran, S., Parameswaran, B., Ummalyma, S.B., Abraham, A., Mathew, A.K., Madhavan, A., Rebello, S., Pandey, A. (2018). Applications of microbial enzymes in food industry. *Food Technology and Biotechnology*, 56:16–30.
- Reed, G., Nagodawithana, T.W. (1988). Technology of yeast usage in winemaking. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39:83–90.
- Reynolds, T.B., Fink, G.R. (2001). Bakers’ yeast, a model for fungal biofilm formation. *Science*, 291:878–881.
- Sağdıç, O., Öztürk, I., Bayram, O., Kesmen, Z., Yılmaz, M.T. (2010). Characterization of butter spoiling yeasts and their inhibition by some spices. *Journal of Food Science*, 75:597–603.
- Sayın Börekçi, B. (2020). Yerel *Candida zeylanoides* suşlarının sitrik asit üretim kapasitelerinin belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Erzurum, Türkiye, 71 s.
- Scully, C., Ei-Kabir, M., Samaranayake, L.P. (1994). *Candida* and oral candidosis: A review. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 5:125–157.
- Sen, K., Komagata, K. (1979). Distribution of urease and extracellular DNase in yeast species. *Journal of General and Applied Microbiology*, 25:127–135.
- Shakira, G., Qubtia, M., Ahmed, I., Hasan, F., Anjum, M.I., Imran, M. (2018). Effect of indigenously isolated *Saccharomyces cerevisiae* probiotics on milk production, nutrient digestibility, blood chemistry and fecal microbiota in lactating dairy cows. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 28:407–420.
- Shokri, H. (2014). Genotypic variation and antifungal susceptibility of *Candida zeylanoides* clinical isolates. *Journal of Medical Mycology*, 24:179–184.
- Sida, H., Shah, P., Pethani, J., Patel, L., Shah, H. (2016). Study of biofilm formation as a virulence marker in *Candida* species isolated from various clinical specimens. *International Journal of Public Health*, 5:842.

- Siverio, J.M. (2002). Assimilation of nitrate by yeasts. *FEMS Microbiol Reviews*, 26:277–284.
- Sørensen, B.B. (1997). Lipolysis of pork fat by the meat starter culture *Debaryomyces hansenii* at various environmental conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 34:187–193.
- Stead, D. (1986). Microbial lipases: their characteristics, role in food spoilage and industrial uses. *Journal of Dairy Research*, 53:481–505.
- Suzzi, G., Lanorte, M.T., Galgano, F., Andrighetto, C., Lombardi, A., Lanciotti, R., Guerzoni, M.E. (2001). Proteolytic, lipolytic and molecular characterisation of *Yarrowia lipolytica* isolated from cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 69:69–77.
- Toldrá, F. (2006). The role of muscle enzymes in dry-cured meat products with different drying conditions. *Trends in Food Science and Technology*, 17:164-168.
- Ugliano, M., Kolouchova, R., Henschke, P. A. (2011). Occurrence of hydrogen sulfide in wine and in fermentation: influence of yeast strain and supplementation of yeast available nitrogen. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 38(3):423-429.
- Verduyn, C., Giuseppin, M.L.F., Scheffers, W.A., Van Dijken, J.P. (1988). Hydrogen peroxide metabolism in yeasts. *Applied and Environmental Microbiology*, 54:2086–2090.
- Watson, T.G. (1970). Effects of sodium chloride on steady-state growth and metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of General Microbiology*, 64:91–99.
- Xiberras, J., Klein, M., Nevoigt, E. (2019). Glycerol as a substrate for *Saccharomyces cerevisiae* based bioprocesses—knowledge gaps regarding the central carbon catabolism of this ‘non-fermentable’ carbon source. *Biotechnology Advances*, 37:107378.
- Yalcin, H.T., Ucar, F.B. (2009). Isolation and characterization of cheese spoiler yeast isolated from Turkish white cheeses. *Annals of Microbiology*, 59:477–483.
- Yalcin, S. K., Bozdemir, M. T. and Ozbas, Z. Y. (2010). Citric acid production by yeasts: fermentation conditions, process optimization and strain improvement. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, 9:1374-1382.
- You, K.M., Knipple, D.C., Rosenfield, C. (2003). Ethanol tolerance in the yeast. *Society*, 69:1499–1503.



TÜRKİYE'DE VE DÜNYADA TAKVİYE EDİCİ GIDALARA GENEL BİR BAKIŞ

Nazlı Savlak*, Özlem Çağındı, Mustafa Dedeoğlu, Ceren İnce, Ergun Köse
Manisa Celâl Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa, Türkiye

Geliş / Received: 10.02.2022; Kabul / Accepted: 20.05.2022; Online baskı / Published online: 24.06.2022

Savlak, N., Çağındı, Ö., Dedeoğlu, M., İnce, C., Köse, E. (2022). Türkiye'de ve dünyada takviye edici gıdalara genel bir bakış. *GIDA* (2022) 47 (4) 576-590 doi: 10.15237/gida.GD22021

Savlak, N., Çağındı, Ö., Dedeoğlu, M., İnce, C., Köse, E. (2022). An overview of the dietary supplements in Turkey and the world. GIDA (2022) 47 (4) 576-590 doi: 10.15237/gida.GD22021

ÖZ

Son yıllarda ve özellikle de COVID-19 pandemi sürecinde bireylerde bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve eksikliği hissedilen besin öğelerinin karşılanması gerektiği düşüncesinin gelişmesi, takviye edici gıdalara (TEG) yönelimi artırmıştır. Toplumda TEG kullanımının bir trend haline dönüşmesi ve bazı satış kanallarıyla başarılı pazarlama stratejileri sayesinde bu ürünlerin üretimi ve tüketimi tüm dünyada artmaktadır. TEG'ler, günlük beslenmeyle karşılanamayan ve fizyolojik olarak fayda sağlayan besin öğelerine destek amacıyla çeşitli formlarda üretilen, günlük alım dozu belirli ürünlerdir. TEG'ler daha çok bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, günlük yaşamın yoğun ve zorlu çalışma şartlarında fiziksel ve zihinsel olarak zinde kalabilmek amacıyla kullanılmaktadır. Bilinçli bir şekilde tüketildiğinde herhangi bir sağlık sorununa neden olmayan TEG'lerin, en yaygın kullanılan türleri minerallerin veya vitaminlerin tekli preparatları ve/veya bunların kompleks halindeki formlarıdır. Bu çalışmada her geçen gün tanınırlığı, tüketimi ve ürün portföyü artan TEG'ler irdelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Pazar, takviye edici gıdalar, tüketici profili, yasal mevzuat

AN OVERVIEW OF THE DIETARY SUPPLEMENTS IN TURKEY AND THE WORLD

ABSTRACT

In recent years, especially during the COVID-19 pandemic, the idea that individuals should strengthen their immune system and meet the lack of nutrients has increased the orientation to dietary supplements (DS). The production and consumption of these products is increasing all over the world, as the use of DS has become a trend in society and successful marketing strategies through some sales channels. DSs are products with a specific daily intake which supplement nutritional elements that cannot be met with daily nutrition. DSs are mostly used to strengthen the immune system and to stay physically and mentally fit in the challenging working conditions of daily life. The most commonly used types of DSs, which do not cause any health problems when consumed consciously, are single preparations of minerals or vitamins and/or their complex forms. In this study, DSs, whose recognition, consumption and product portfolio increase day by day are examined.

Keywords: Market, dietary supplement, consumer profile, legislation

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: nazli.yeyinli@cbu.edu.tr

☎: (+90) 236 201 22 68

☎: (+90) 236 241 21 43

Nazlı Savlak; ORCID no: 0000-0002-5139-4105

Özlem Çağındı; ORCID no: 0000-0002-6436-9208

Mustafa Dedeoğlu; ORCID no: 0000-0001-7866-5350

Ceren İnce; ORCID no: 0000-0001-9931-2327

Ergun Köse; ORCID no: 0000-0002-1893-1984

GİRİŞ

Günümüzde bireylerin günlük yaşam ve çalışma şartlarının değişimine paralel bir şekilde beslenme tarzlarının değiştiği ve buna bağlı olarak da yetersiz ve dengesiz beslenme sorunlarının her geçen gün arttığı görülmektedir. Yetersiz ve dengesiz beslenmeyle ortaya çıkan birtakım sorunlar, vücudun ihtiyaç duyduğu ve rutin günlük diyetle edinemedikleri makro/mikro besin öğelerini karşılaması adına bireyleri takviye edici gıdalara (TEG) yöneltmektedir (Coşkun ve Velioglu Er, 2020; Kazaz ve Gençyürek Erdoğan, 2020). Bu anlamda bireylerin TEG'lere yönelmesinin asıl amacı, bağışıklık sistemini güçlendirerek hastalık riskini minimize etmek, ayrıca fiziksel ve mental olarak da kişiyi zinde tutan birçok fonksiyonel bileşenlerin vücuda alınmasını sağlamaktır (Samar, 2021; Oruç Güler ve Anul, 2020).

Ülkemizde TEG'ler, Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından 5996 sayılı kanun çerçevesinde oluşturulan Türk Gıda Kodeksi Takviye Edici Gıdalar Tebliği'nde (Tebliğ No: 2013/49) 'Normal beslenmeyi takviye etmek amacıyla, vitamin, mineral, protein, karbonhidrat, lif, yağ asidi, amino asit gibi besin öğelerinin veya bunların dışında besleyici veya fizyolojik etkileri bulunan bitki, bitkisel ve hayvansal kaynaklı maddeler, biyoaktif maddeler ve benzeri maddelerin konsantrasyonu veya ekstraktlarının tek başına veya karışımlarının kapsül, tablet, pastil, tek kullanımlık toz paket, sıvı ampul, damlalıklı şişe ve diğer benzeri sıvı veya toz formlarda hazırlanarak günlük alım dozu belirlenmiş ürünler' şeklinde ifade edilmektedir (Anonymous, 2013a).

Tanımdan da anlaşılacağı üzere TEG'ler, ihtiyaç duyulması halinde günlük diyete ek olarak tüketilen bileşenler veya ürünlerdir. Ancak beslenme biliminin üç altın kural olarak nitelendirildiği denge, çeşitlilik ve yeterlilik şartlarına riayet ederek düzenlenen rutin bir beslenme programında herhangi bir TEG ürününe ihtiyaç kalmayacağı bildirilmektedir (Baltacıoğlu, 2019; Özbekler, 2019). Buna rağmen özellikle son yıllarda tüm dünyada olduğu gibi

ülkemizde de TEG pazarında oldukça hızlı bir büyüme kaydedilmektedir (Arslan vd., 2021).

Pazardaki hızlı büyümenin altında yatan en önemli nedenler, TEG'lerin insanlar tarafından sentetik ilaçlara kıyasla daha doğal, sağlıklı ve güvenli olarak görülmesi, bunlara alternatif bir kaynak olarak değerlendirilebileceği düşüncesinin hızla yayılması ve TEG'lerin bir hekime gerek duyulmaksızın eczane ve internet gibi satış noktalarından çok kolay bir şekilde temin edilebilmesidir (Güzelsoy ve İzgi, 2015; Coşkun ve Velioglu Er, 2020; Kılıç Kanak vd., 2021). Ayrıca COVID-19 pandemisi süreciyle birlikte viral enfeksiyonların önlenmesinde ve/veya tedavisinde makro ve mikro besin öğelerinin öneminin daha iyi anlaşılmış olması (Çitar Dazıroğlu vd., 2021), son yıllarda pazardaki büyümeyi etkileyen diğer bir faktör olduğu düşünülmektedir. Tüm bu etkenler doğrultusunda pazarın büyümesiyle birlikte insanlar tarafından TEG'lerin bilinçsizce tüketiminin hızla artması gıda güvenliği ve güvencesi konusunu gündeme getirmektedir (Sirico vd., 2018; Kılıç Kanak vd., 2021).

Bu derlemede özellikle son yıllarda toplumda kullanım yaygınlığı günden güne artan ve büyük bir pazara dönüşen TEG ile ilgili bazı literatür bilgilerinin derlenmesi hedeflenmiş ve konu ile ilgili yasal süreçler, TEG türleri, toplumun tüketici profili ve TEG pazarı ile ilgili mevcut bilgiler ele alınarak konuya genel bir bakış açısının kazandırılması amaçlanmıştır.

TAKVİYE EDİCİ GIDALAR VE YASAL DÜZENLEMELER

Toplumda TEG kullanımının, sağlıklı yaşam düşüncesi altında bir trend haline geldiği ve bazı pazarlama ve satış stratejileri sayesinde TEG popülerliğinin arttığı görülmektedir (Baltacıoğlu, 2019; Sezgin, 2020). Hızla artan bu yaygınlık, TEG pazarını taşıyış ve sahtecilik olaylarına ve buna bağlı olarak da insan sağlığını tehdit eden olumsuz durumlara açık hale getirmiştir. Bu kapsamda yapılan bazı araştırmalarda insan sağlığını tehdit eden asıl unsurların, yüksek konsantrasyon, kaynağı net olmayan ve/veya yasak bileşenlerle üretilen TEG'lerin ve geleneksel

ilaçların olduğu bildirilmektedir (Arslan vd., 2021; Raposo vd., 2021). Genellikle zayıflatıcı, performans ve kas artırıcı gibi endikasyonlara sahip olduğu belirtilen TEG'lerin, hem başka ilaçlarla kullanılması hem de hastalıkların tedavisinde özel ve gizli ürün formülasyonlarıyla potansiyel tüketicilere umut vad ederek pazarlanmaya çalışılması, son derece ciddi sağlık problemlerine yol açabilmektedir (Atalay ve Erge, 2018; GTBD, 2018; Özbekler, 2019). TEG ürünlerindeki bazı bileşenler çocuk, hamile, yaşlı ve kronik hastalıkları olan insanlarda yan etkilere neden olabilmektedir (TEB, 2009). Ayrıca tüketim şekline bağlı olarak vücutta diğer maddelerle gelişebilen her türlü etkileşim, toksisite, kullanılan bileşenler, etken madde limiti ve yanlış etiketleme gibi hatalar yine çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Şimşek, 2021). Bu nedenlerle de tüm gıda gruplarının etiketlenmesinde ve tanıtımında üreticilerin Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği'ni esas almaları, ilgili mevzuat çerçevesinde gerekli ise Tarım ve Ormanlık Bakanlığı usul ve esaslarınca beslenme, Sağlık Bakanlığı usul ve esaslarınca da sağlık beyanlarının yapılması ve ürün prospektüsünde tüketicinin tüm hususlarda bilgilendirilmesi gerekmektedir (Anonymous, 2017). Ayrıca, tüketicinin de piyasaya arz edilen ürünleri bu doğrultuda irdelemesi ve gıda ve ilaç kavramları arasındaki ayırımın daha net anlaşılması için terimler arasındaki farklılığın tanımlarla ortaya koyulması gerektiği düşünülmektedir.

Gıda, 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu'nda "doğrudan insan tüketimine sunulmayan canlı hayvanlar, yem, hasat edilmemiş bitkiler, tedavi amaçlı kullanılan tıbbî ürünler, kozmetikler, tütün ve tütün mamulleri, narkotik veya psikotropik maddeler ile kalıntı ve bulaşanlar hariç, insanlar tarafından yenilen, içilen veya yenilmesi, içilmesi beklenen işlenmiş, kısmen işlenmiş veya işlenmemiş her türlü madde veya ürün, içki, sakız ile gıdanın üretimi, hazırlanması veya muameleye tâbi tutulması sırasında kullanılan su veya herhangi bir madde" olarak tanımlanmıştır (Anonymous, 2010a). İlaç ise insanların hastalıklardan korunması, tanı ve tedavi alması, herhangi bir fonksiyonun düzeltilmesi ve/veya

insanların faydasına göre değiştirilmesi amacıyla kullanılan ve genellikle bir veya birden fazla yardımcı bileşen ile etken madde ve/veya maddeleri barındıran bitmiş ürün dozajı şeklinde belirtilmektedir (Doğan ve Ünal, 2021). Gıda ve TEG gruplarında, Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği'ndeki ilgili koşulların yerine getirilmesi ve Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu iznine bağlı olmak kaydıyla çeşitli sağlık beyanlarının yapılabileceği görülmüştür (Anonymous, 2010a; Anonymous, 2017). Tanımlar irdelendiğinde, bir gıda ürününün insan vücudunda herhangi bir fizyolojik etkiyi hedefleyemeyeceği (Anonymous, 2010a) ve tıbbi ilaç şeklinde değerlendirilmemesi gerektiği anlaşılmaktadır. Ancak buna rağmen TEG grubu altındaki bazı (vitamin, mineral ve bitkisel ekstraktlı etken maddeler) ürünlerin gıda olarak tüketilemediğinden, ilaç ruhsatı aldığı bilinmektedir. Bu ürünler herhangi bir endikasyona karşı tanımlı olmaları, vücut fizyolojisini ve sağlığını direkt hedef almaları, son derece ciddi potansiyel yan etkilerinin olmaları ve bitkisel tıbbî ürün formülasyonunda bulunmaları nedenleriyle ilaç sınıfında değerlendirilmekte ve Geleneksel Bitkisel Tıbbî Ürünler Yönetmeliği'nce Sağlık Bakanlığı tarafından ruhsatlandırılmaktadır (Anonymous, 2010b).

ABD senatosunda ilk olarak 1994 yılında yayımlanan Diyet Takviyesi Sağlık ve Eğitim Yasası'nda (The Dietary Supplement Health and Education Act-DSHEA) TEG'ler, 'Beslenmeye destek olarak kullanılan bir veya daha fazla gıda bileşeni (mineraller, vitaminler, amino asitler ve bitkisel droglar) içeren, oral yolla alınan tablet, kapsül ve sıvı formlarda hazırlanmış ürünler' şeklinde ifade edilmiş olup yine DSHEA yasasına göre ilaç yerine gıda sınıfında değerlendirilmektedir (Doğan vd., 2020a; Singh vd., 2021).

Rusya Sağlık Bakanlığı tarafından TEG'ler, bilimsel bakımdan etkileri kanıtlanan, hastalık önleyici, hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların olası yan etkilerini minimize etmek ve hastalık belirtilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak şeklinde ifade edilmektedir. İngiltere'de ise TEG'ler, bazı fonksiyonel özelliklerin yapılandırılması, yararlı mikroorganizmaların

devamlılığının sağlanması, hastalıkların önlenmesi ve sağlığın korunması amacıyla vücut için gerekli olan besin maddelerinin kapsül, tablet, draje, toz, pastil vb. formlarda vücuda doğal olarak alınan besin maddeleri olarak tanımlanmaktadır (Tan, 2021).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA-European Food Safety Association), vücutta eksiklikleri görülen besin bileşenlerinin yetersizliklerinin giderilmesi ve yeterli düzeyde alınımın sağlanabilmesi amacıyla TEG'lerin kullanılabilirliğini belirtmektedir (Demir vd., 2021).

Birleşik Devletlerde TEG endüstrisi, FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) aracılığıyla düzenlenmektedir. Endüstri, FDA gibi diğer belirleyici kurum ve kuruluşların daha efektif bir şekilde piyasayı kontrol altında tutabilmesi için TEG kayıt platformu OWL (Online İyi Yaşam Kütüphanesi) adında bir sistem geliştirmiştir. Sektördeki işletmelerin ve ticari kimliği taşıyan birliklerin, pazarda %100 hesap verilebilirliği ve şeffaflığı artırmak amacıyla çıkardıkları bu mekanizma, 27 Nisan 2017 tarihinde faaliyete geçmiştir. Oluşturulan bu platform sayesinde işletmeler, bir zorunluluk haliyle ürünlerine ait etikette olması gereken tüm bilgileri belirtmekte ve gerek kayıtlı tüketiciler gerekse de ilgililerle paylaşmaktadır (Özbekler, 2019).

Son zamanlarda, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de tüketiciye çok kolay bir şekilde ulaşabilen standart dışı TEG'lerin yan etkilerinden kaynaklı çeşitli zehirlenme ve ölüm vakalarının artmasıyla, bu ürünlerin ilgili denetleme organları tarafından denetimi daha önemli hale gelmiştir (Ergen ve Bozkurt Bekoğlu, 2016; Durna, 2020). Yasal düzenlemeler ve mevzuat, tüketicilerin tercihine bırakılan ürünlerin birey sağlığı bakımından güvenli olması üzerine oluşturulmaktadır (TEB, 2009). Kamu doktrini çerçevesinde TEG'lerin, yasal mevzuat bakımından standartlarının belirlenmesi, düzenlenmesi ve denetlenmesi kamu düzeni ve sağlığı açısından bir zorunluluktur (Gözler ve Kaplan, 2018). Bu çerçevede, oldukça önemli olan gıda güvenliği ve güvencesi konusundaki tüm yetki ve sorumluluklar, 5996 sayılı kanun

kapsamında Tarım ve Orman Bakanlığına bırakılmış olup, özel tıbbi amaçlı diyet gıdaların üretilmesi, işletilmesi, piyasaya arzı ve denetimi ile ilgili usul ve esaslar ise Sağlık Bakanlığı tarafından oluşturulan hükümlere bağlanmıştır (Anonymous, 2010a).

Türkiye'de, 5996 Sayılı 'Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu' 13 Haziran 2010 tarihinde yürürlüğe konulmuş ve ilgili kanun kapsamında 'Türk Gıda Kodeksi Takviye Edici Gıdalar Tebliği' ve 'Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği' sırasıyla 16 Ağustos 2013 ve 26 Ocak 2017 tarihlerinde yayımlanmıştır (Anonymous, 2010a; Anonymous, 2013a; Anonymous, 2017). Dünyada devletler özelinde TEG'lerle ilgili mevcut yasal düzenlemeler ve ülkemizde 5996 sayılı kanun kapsamındaki ilgili yönetmelikler kapsamlarıyla birlikte Çizelge 1'de verilmiştir. Ayrıca, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de kilo kontrol, sporcu takviyesi ve özel beslenme amaçlı ürünlerin TEG adı altında olduğu ile ilgili tebliğlerde TEG özellikleri taşıdıklarını belirten ifadeler kullanılmakla birlikte, bu tip ürünlerin TEG'lerden bağımsız olan tebliğleri Çizelge 1'de belirtilmiştir.

Tekniğine uygun bir şekilde gerekli hijyen ve sanitasyon kurallarına uyularak üretim hazırlığı, proses süreci, ürün muhafazası, taşınması ve piyasaya arzının standardize edilmesi amacıyla oluşturulan Türk Gıda Kodeksi Takviye Edici Gıdalar Tebliğinde, TEG'lerin içeriğindeki vitaminlerin ve minerallerin çeşit ve günlük alım dozları Çizelge 2'de detaylı bir şekilde belirtilmiştir (Anonymous, 2013a). Ayrıca TEG'lerin kimyasal kompozisyonunda bulunacak botanik türlerin, Tarım ve Orman Bakanlığı yetkililerince oluşturulan ve ilgili Bakanlığın resmi web sayfasında ilan edilen bitki listesine uygun olması gerekmektedir. Öte yandan nihai ürünlerdeki diğer bileşenler ise yine Tarım ve Orman Bakanlığının web sayfasında yayınlanan 'Takviye Edici Gıdaların Üretiminde Kullanılması Sınırlı ve/veya Yasak Maddeler Listesi'ne uygun olması mevzuat bakımından uyulması gereken diğer önemli bir konudur (Anonymous, 2013b; Anonymous, 2021a).

Çizelge 1. TEG'ler ile ilgili ulusal ve uluslararası mevcut yasal düzenlemeler (Güzelsoy, 2013; GTBD, 2022a; GTBD, 2022b).

	Tebliğ ve/veya Yönetmelik	Amaç ve Kapsam
	5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu	Halk, bitki, hayvan ve çevre sağlığı ile tüketici menfaatleri doğrultusunda gıda ve yem güvenilirliğini sağlamak.
	Türk Gıda Kodeksi Takviye Edici Gıdalar Tebliği	TEG'lerin tekniğine uygun ve hijyenik olarak ürün özelliklerinin belirlenmesini, hazırlanmasını, işlenmesini, muhafazasını, depolanmasını, taşınmasını ve piyasaya arzını sağlamak.
	Takviye Edici Gıdaların İthalatı, Üretimi, İşlenmesi ve Piyasaya Arzına İlişkin Yönetmelik	TEG'lerin ithalatı, üretimi, işlenmesi ve piyasaya arzına ilişkin usul ve esasları belirlemek.
	Takviye Edici Gıdalar Kısıtlı Maddeler Listesi	Üretimdeki bileşenlerin kullanım izin durumlarını ve minimum ve maksimum limitlerini belirlemek.
	Takviye Edici Gıdaların Onay İşlemleri Uygulama Talimatı	TEG kapsamında piyasaya arzı sağlanacak ürünlerin, tebliğe uygunluğunu ve takibini sağlamak.
	Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği	Piyasaya arz edilen gıdalarda, beslenme ve sağlık beyanlarına ilişkin kuralların belirlenmesiyle son tüketiciyi korumak.
	Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri, Gıda Enzimleri ve Gıda Aroma Vericilerine İlişkin Ortak İzin Prosedürü Hakkında Yönetmelik	Gıdalardaki gıda katkı maddeleri, gıda enzimleri, gıda aroma vericileri ve kaynak materyalleri ve aroma verme özelliği taşıyan gıda bileşenlerine yönelik risk değerlendirme prosedürü ile bu doğrultudaki başvurulara ve kapsam dahilindeki ilgili yönetmeliklerde gıdalarda kullanımına izin verilen maddelerin listelerinin güncellenmesine ilişkin usul ve esasları belirlemek.
Türkiye	Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği	Gıdalarda bulunabilen belirli bulaşanların maksimum limitlerini belirlemek.
	Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Eser Elementler ve Bulaşan Seviyelerinin Resmî Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği	Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğindeki gıdalarda Pb, Cd, Hg, inorganik kalay ve arsenik, 3-monokloropropan 1,2-diol (3-MCPD) ve polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) düzeylerinin kontrolünde numune alma, hazırlama ve analiz metodunun kriterlerini düzenlemek.
	Türk Gıda Kodeksi Gıda Enzimleri Yönetmeliği	Tüketici ve çevre sağlığı ve haklarını korumak üzere izin verilmiş gıda enzimleri listesini, gıdalarda kullanılan gıda enzimlerinin kullanım koşullarını ve bu şekilde satılan gıda enzimlerinin etiketleme kurallarına ilişkin usul ve esasları belirlemek.
	Türk Gıda Kodeksi Sporcu Gıdaları Tebliği	Sporcu gıdalarının tekniğine uygun ve hijyenik bir şekilde üretilmesi, hazırlanması, işlenmesi, muhafazası, depolanması, taşınması, etiketlenmesi ve pazarlamasını sağlamak.
	Türk Gıda Kodeksi Kilo Verme Amaçlı Enerjisi Kısıtlanmış Gıdalar Tebliği	Kilo verme amacıyla enerjisi kısıtlanmış diyetler için özel olarak formüle edilen özel beslenme amaçlı gıdaların tekniğine uygun ve hijyenik bir şekilde üretilmesi, hazırlanması, işlenmesi, muhafazası, depolanması, taşınması ve pazarlamasını sağlamak.
	Türk Gıda Kodeksi Vücut Ağırlığı Kontrolü İçin Diyetin Yerini Alan Gıdalar Tebliği	Vücut ağırlığı kontrolü için üretilen gıdaların bileşim, etiketleme, sunum ve reklam gerekliliklerini belirlemek.
	Türk Gıda Kodeksi Özel Beslenme Amaçlı Gıdalar Tebliği	Özel beslenme amaçlı gıdaları ambalajlama, etiketleme, reklam ile ilgili kuralları ve grupları belirlemek.
Amerika	FDA, Dietary Supplement Health and Education Act of 1994 (DSHEA)	TEG'ler, etiket bilgileriyle birebir uyumlu olmalı ve pestisit gibi bulaşanlar içermemeli.
	2002/46/EC	TEG'lerin vitamin ve mineral limitlerini belirlemek, tüketicileri bu ürünlerin olası sağlık riskine karşı korumak ve yanıltıcı bilgi verilmemesini sağlamak.
Avrupa Birliği	Komisyon yönetmeliği (AB) 2017/1203	Gıdalara eklenen ve TEG üretiminde kullanılan kalsiyum fosforil oligosakkaritler (Pos-Ca®) ile ilgili yönetmelik.
	Komisyon yönetmeliği (AB) 2015/414	(6 S)-5-metiltetrahidrofolik asit ve TEG'lerin üretimindeki glukozamin tuzu kullanımı ile ilgili yönetmelik.
	119/2014 Sayılı Komisyon Tüzüğü (AB)	TEG ve gıdalara eklenen krom (III) laktat tri-hidrat üretimi ile ilgili tüzük.
	1161/2011 Sayılı Komisyon Tüzüğü (AB)	Gıdalara eklenebilecek mineral madde listesi ile ilgili tüzük.
	Komisyon yönetmeliği (EC) No 1170/2009	Gıda ve TEG'lere eklenebilecek mineral maddeler ve formları ile ilgili yönetmelik.

Çizelge 2. Takviye Edici Gıdalarda Kullanılan Vitamin ve Minerallerin Günlük Maksimum Limitleri (Anonymous, 2013a).

		4-10 yaş**	11 yaş ve üzeri
VİTAMİNLER	Vitamin A (RE) (µg)	500	1000
	Beta-karoten (mg)	3,5	7
	Vitamin D (µg)	12,5	25
	Vitamin E (α-TE) (mg)	135	270
	Vitamin B1 (tiamin) (mg)*	-	-
	Vitamin B2 (riboflavin) (mg)*	-	-
	Vitamin B3 (niasin) (mg NE)***	250	500
	Vitamin B5 (pantotenik asit) (mg)*	-	-
	Vitamin B6 (piridoksin) (mg)	5	10
	Vitamin B12 (kobalamin) (µg)*	-	-
	Vitamin C (mg)	500	1000
	Vitamin K (µg)*	-	-
	Folik asit (µg)	300	600
	Biotin (µg)*	-	-
MİNERALLER	Manganez (mg)	1	2
	Selenyum (µg)	100	200
	Molibden (µg)	175	350
	Magnezyum (mg)	125	250
	İyot (µg)	75	150
	Çinko (mg)	7,5	15
	Bakır (µg)	1000	2000
	Kalsiyum (mg)	750	1500
	Krom (µg)*	-	-
	Demir (mg)	8,5	17
	Fosfor (mg)	350	700
	Potasyum (mg)	750	1500
	Flor (mg)	1,75	3,5
	Sodyum (mg)*	-	-
	Klor (mg)*	-	-
	Bor (mg)	4	8
Silikon (mg)*	-	-	

*Limit belirlenmemiştir.

**11 yaş ve üzeri için verilen limitlerin %50'si kabul edilmiştir.

***Nikotik asit içeren takviye edici gıdalar ayrıca değerlendirilir.

5996 Sayılı kanun kapsamında 2 Mayıs 2013 yılında yürürlüğe giren 'Takviye Edici Gıdaların İthalatı, Üretimi, İşlenmesi ve Piyasaya Arzına İlişkin Yönetmelik' gereğince denetleme yetki ve sorumluluğunda olan Tarım ve Orman Bakanlığı, kayıtlı olmayan işletmelerde Takviye Edici Gıdaların Onay İşlemleri Uygulama Talimatı doğrultusunda onay alınmamış TEG'lerin hiçbir şekilde üretimine, işlenmesine, satışına, ithalatına ve asılsız tanıtımlarla (performans artırıcı, zayıflatıcı, kilo aldırıcı, sigara bıraktıracı ve çeşitli hastalıkları tedavi edici vb.) tüketicinin aldatılmasına kesinlikle izin vermemektedir (Anonymous, 2013b; Doğan vd., 2020a).

DÜNYADA VE TÜRKİYE'DE TAKVİYE EDİCİ GIDA PAZARI

COVID-19 pandemi sürecinde hükümetlerin getirdiği çeşitli kısıtlamalar neticesinde değişen yaşam ve beslenme tarzı, dinamik bir şekilde büyümesini devam ettiren TEG pazarının daha fazla ivmelenmesine yol açmıştır (Kazaz ve Gençyürek Erdoğan, 2020; Scarmozzino ve Visioli, 2020; Piekara vd., 2021). Özellikle COVID-19 hastalığını önleme ve bağışıklık sistemini güçlendirme amacıyla toplumda TEG kullanımının yaygınlaşması, TEG pazarının son dönemde hızla büyümesinin altında yatan diğer bir önemli neden olarak görülmektedir (Çağrı

vd., 2022). Gerçekleştirilmiş birçok araştırmanın nihai sonucunda bireyin eğitim düzeyi ve sağlıklı yaşam tarzına ilgisi arttıkça TEG'lere olan ilgilerinin de aynı oranda arttığı tespit edilmiş ve bu bireylerin TEG pazarının tüketici anlamında büyük bir kesimini oluşturduğu ifade edilmektedir (Özbekler, 2019). Oldukça çeşitli TEG ürünlerinin bulunduğu küresel çaptaki piyasada, FDA konu ile ilgili mevcut raporunda 29000'den fazla TEG ürününün olduğu ve her yıl bu ürün portföyüne yaklaşık 1000 kadar yeni çeşidin eklendiği bildirilmektedir (Toker vd., 2015; Dwyer vd., 2018).

2017 yılında küresel çapta piyasa değeri yaklaşık 140 milyar dolar olan TEG pazarının, her geçen gün genişleyen ürün portföyü ile 2024 yılında yaklaşık 247.8 milyar dolar seviyesine ulaşması tahmin edilmektedir (Piekara vd., 2021). Pazarın hızla büyümesinin altında yatan en önemli nedenler başarılı tanıtım ve satış stratejileri ve bu ürünlere rahatlıkla ulaşılabilir olmasıdır (Atalay ve Erge, 2018; Özbekler, 2019). Dünya genelinde TEG piyasası temel kategoriler bakımından Pasifik Asya, Kuzey Amerika, Avrupa ve diğer bölgeler şeklinde ayrılırken, TEG ve fonksiyonel gıda pazarına ise ağırlıklı olarak Çin, Amerika ve Hindistan'ın hâkim olduğu görülmektedir (Arslan vd., 2021).

ABD'de TEG pazarının, özellikle 2003 yılından itibaren sürekli büyüdüğü ve sektörün piyasa hacminin yaklaşık 16.8 milyar dolar düzeyine ulaştığı belirtilmektedir (Toker vd., 2015; Kazaz ve Gençyürek Erdoğan, 2020). Ülkenin TEG pazarındaki istatistik verileri, yetişkin vatandaşlarının %71'inin bu ürünleri tükettiğini ve ilgili sektörün üretimde on yıl içerisinde yaklaşık %77 oranında büyüdüğünü göstermektedir (Sirico vd., 2018; Özbekler, 2019).

Avrupa'da TEG pazarının %9.5 oranında ivme kazanarak 2021 yılı sonu itibarıyla piyasa hacminin 0,7 milyar Euro artışla yaklaşık 7.9 milyar Euro'yu aşması öngörülmektedir (Ergen ve Bozkurt Bekoğlu, 2016). Doğu Avrupa'daki TEG pazarının ikinci en büyük devi olan Polonya'da sektörün, yıllık ortalama %5'lik bir büyümeye 2018 yılında yaklaşık 1.46 milyar dolara ulaştığı

rapor edilmiştir (Piekara vd., 2021). AB ülkeleri ve Amerika'da TEG'ler, günlük diyete takviye çıkan ürünler olarak görülmekte ve ilaç grubunda değerlendirilmediğinden bu ürünler reçeteye bağlanmamakta bu sayede devletlerin sağlık alanındaki harcamalarında önemli bir düşüş kaydedilmektedir (Özbekler, 2019).

Pasifik Asya bölgesindeki pazarda en büyük iki ülke olan Çin ve Hindistan, TEG ürünleri için gerekli olan çeşitli bitkisel ekstrakt ve hammadde ihracatında önemli bir konuma sahiptir (Arslan vd., 2021). TEG'lerin sağlığa faydaları ve bu ürünlere ulaşımın kolay olması, buradaki pazarın büyüklüğünün temel nedeni olarak görülmektedir. Çin Ulusal İstatistik Ofisi tarafından yapılan bir değerlendirmede, ülkede hane halkının kişi başına düşen yıllık maddi gelirinin yükselmesiyle, vatandaşların TEG ve fonksiyonel gıda ürünlerine yaptıkları harcamaların da önemli oranda arttığı vurgulanmıştır (Özbekler, 2019).

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de TEG kullanımı artmakta ve buna bağlı olarak pazarın büyüme ve gelişmesinde hızlı bir ivme görülmektedir (Atalay ve Erge, 2018; Özbekler, 2019). Ülkemizde vitaminlerden B grubu ve D, minerallerden ise demir, fosfat, magnezyum ve çinko yetersizliğinin oldukça yaygın olduğu bilinmektedir. Bu durum bireylerin TEG ürünlerine yönelmelerindeki nedenlerden biridir (Baltacıoğlu, 2019; Özbekler, 2019). Hem dünyada hem de ülkemizde TEG pazarındaki ürünlerin tanıtım ve satışında genellikle kişilerin ağızdan ağıza kendi aralarında yaptıkları reklamın, pazarlamanın, internetteki konu ile ilgili bilgilerin büyük rol oynadığı ayrıca bu faktörlerin dışında ünlü uzmanlar tarafından yapılan tavsiyelerin ve TV'deki sağlık programlarının da büyük önem taşıdığı vurgulanmaktadır (Ergen ve Bozkurt Bekoğlu, 2016; Özbekler, 2019). Türkiye'de Tarım ve Orman Bakanlığı'nın 'Onaylı Takviye Edici Gıdalar Listesi'nde çeşitli formlarda olmak üzere toplamda 11093 kayıtlı TEG ürünü bulunmakta (Anonymous, 2021b) ve 2016 yılında yaklaşık 735 milyon TL büyüklüğündeki TEG pazarının, 2021 yılında 950 milyon TL'ye ulaşacağı öngörülmektedir (Anonymous, 2021c). Ülkemizde TEG pazarının hızla büyümesiyle

birlikte ulusal ve uluslararası anlamda birçok firmanın pazarda yer almaya çalışacağı, bu sayede çok çeşitli TEG ürününün piyasaya arz edileceği ve Türkiye'nin de bu sektörün öncülerinden olacağı tahmin edilmektedir (Sezgin, 2020).

TAKVİYE EDİCİ GIDALAR VE TÜKETİCİ PROFİLİ

Beslenme ve sağlık üzerine gerçekleştirilen bir araştırma sonucunda Türkiye'de beslenme kaynaklı birçok sağlık probleminin olduğu ve bu problemlerin başında ise kronik besin yetersizliği (zayıflık ve bodurluk), vitamin ve mineral eksikliği (B₁, B₁₂ ve D vitamini ile demir, çinko, kalsiyum, iyot, fosfat minerali) ve beslenmeye bağlı kronik hastalıkların (diyabet, kanser) geldiği belirtilmektedir (Anonymous, 2015). Bazı istisnai durumlar haricinde insan vücudu ihtiyaç duyduğu çoğu vitamin ve mineralleri sentezleyemez. Bu eksiklikler normal şartlarda beslenme yoluyla ancak yeterli olmadığında ise çoğu zaman TEG'ler aracılığıyla giderilmeye çalışılmaktadır. Gerekli görüldüğünde vitamin/mineral gibi bileşenlerin TEG'ler aracılığıyla karşılanması, bireylerin sağlıklı ve kaliteli bir yaşam sürmesi bakımından oldukça önemlidir (Özbekler, 2019).

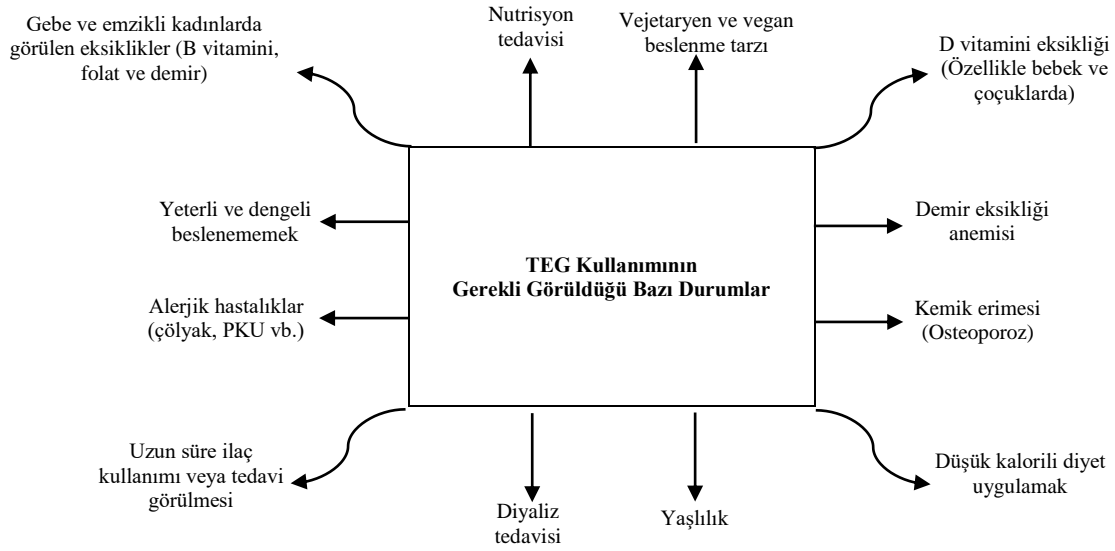
Bilinçli bir şekilde tüketildiğinde TEG'lerin, sağlık bakımından yarar sağladıkları bilinmesine (Atalay ve Erge, 2018) rağmen birçoğunun biyolojik olarak çok güçlü etken madde içerdiği ve bu durumun da bazen olumsuz olaylara yol açabildiği bildirilmektedir (Alowais ve Selim, 2019). TEG tüketimiyle ilgili sağlık açısından dikkat edilmesi gereken en önemli konular, gerçek anlamda ihtiyaç duyulup duyulmaması, kullanım dozunun optimum düzeyde ayarlanmaması, düşük kaliteli ve standart dışı ürünlerin kullanılmasıdır (Khoury vd., 2020). Ancak literatür bu konu hakkında son derece yetersiz kalmakta ve çoğu zaman potansiyel kullanıcılarda 'daha çok daha iyidir' gibi oldukça tehlikeli bir algı hâkim olmakta (Peters vd., 2013) ve bu düşünce potansiyel kullanıcıları genellikle tekli preparat yerine çoklu/kompleks haldeki ürünlere yönlendirmektedir (Homer ve Mukherjee, 2018).

Tekli preparatlar (vitamin, mineral vb.) genellikle gıda bileşenlerini yüksek dozlarda,

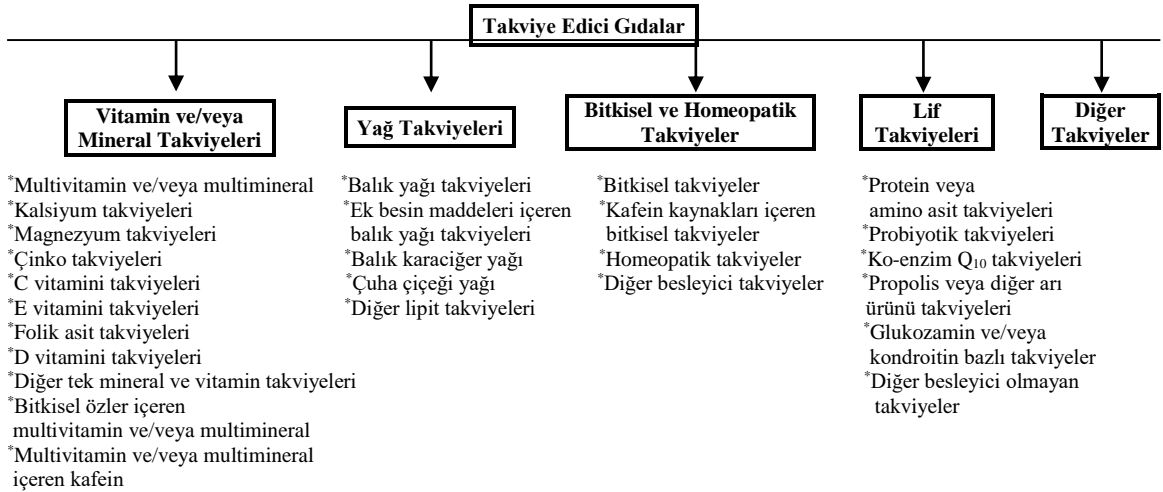
multivitamin/multimineral gibi kompleks haldeki TEG'ler ise bütün temel makro/mikro besin öğelerini düşük dozlarda bünyelerinde barındırmaktadır. Bu nedenle kompleks haldeki TEG'ler bilinçsiz tüketiciler açısından daha güvenli görülürken, tekli preparat kullanımında ise vücutta herhangi bir toksisiteye neden olmamak için daha dikkatli olunması gerektiği vurgulanmaktadır. Normal şartlarda ürün prospektüsüne dikkat edildiğinde genellikle sorun teşkil etmeyen tekli ve/veya çoklu TEG'lerin bazıları, ilaçlarla etkileşime girebildiğinden çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Özbekler, 2019).

Gıdalar ve kimyasal kompozisyonlarındaki bileşenlerin fonksiyonel özellikleri nedeniyle her geçen gün gelişen TEG'ler, çoğu zaman günlük diyetin güçlendirilmesi, sağlığın korunması, stres yönetimini desteklemesi, fiziksel ve mental olarak zindelik sağlanması, kozmetik ve kilo kontrolü amacıyla kullanılmakta (Doğan vd., 2020a; Kılıç Kanak vd., 2021) bunların dışında farklı beslenme modellerini (Şekil 1) uygulamak zorunda olan bazı özel gruptaki bireyler de TEG'lere sıklıkla başvurmaktadır (Tan, 2021).

Oldukça farklı kategorilerde incelenebilen TEG'ler, çoğunlukla vitamin-mineral, bitkisel ve hayvansal kaynaklı ürün kategorileri altında toplanmaktadır. Vitamin-mineral TEG'lerinin, doğal veya sentetik bileşenlerle elde edilen ve tekli ve/veya çoklu içeriğe sahip olduğu, bitkisel kaynaklı olanların bitkilerin çeşitli kısımlarından ekstrakte edildiği ve hayvansal kaynaklıların ise, arı ve balık gibi deniz ürünleri içerdiği görülmektedir (Güzelsoy ve İzgi, 2015). Avrupa'da da kullanım amacına, fizyolojik etkilerine ve içeriklerine (sindirim, bağışıklık ve kas-iskelet sistemini destekleyici, kilo kontrolü, zindelik, saç, tırnak, cilt, sporcu desteği, enzimler, botanik bileşenler) göre genel bir sınıflandırma mevcut olsa da, böyle bir sınıflandırmanın çoğu zaman yetersiz olduğu ve bundan dolayı FSANZ (Food Standards Australia New Zealand) tarafından mevcut TEG türleri, içeriklerine ve amaçlarına (Şekil 2) göre oldukça kapsamlı bir şekilde sınıflandırılmıştır (Piekara vd., 2021).



Şekil 1. TEG kullanımının gerekli görüldüğü bazı durumlar (Tan, 2021).



Şekil 2. FSANZ tarafından gerçekleştirilen TEG sınıflandırması (Piekara vd., 2021).

Dünyada ve ülkemizde gerçekleştirilen birçok araştırma sonucunda TEG türlerinden en çok multivitamin/mineral (MVM), omega-3 yağ asitleri ve balık yağlarının kullanıldığı ve MVM tüketiminin yaşlı bireylerde daha yaygın olduğu tespit edilmiştir (Doğan vd., 2020a). Ayrıca, toplumda TEG kullanımı için yeni neden olarak

görülen COVID-19 hastalığının önlenmesi ve tedavisinde D ve C vitamini, n-3 PUFA'lar, selenyum, çinko ve probiyotiklerin etkili olduğunun anlaşılması, özellikle bu TEG'lere olan talebi artmıştır (Çağındı vd., 2022). NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*)'in 2011-2014 yılları arasında yürüme

çağındaki çocuklar üzerine yaptığı bir çalışmada, katılımcıların büyük bir bölümünde karışık beslenme düzeni ve yetersiz tüketimden kaynaklı D ve E vitamini ile kalsiyum eksikliği yaşandığı saptanmıştır. Bu çalışma doğrultusunda düzenli bir şekilde MVM tüketiminin, besin yetersizliğini azaltmada önemli bir yere sahip olduğu vurgulanmıştır (Demmer vd., 2018).

Avustralya’da 2017 yılında yapılan bir çalışmada yetişkinlerin %43.2’sinin, ergenlik dönemindekilerin %20.1’inin ve çocukların ise %23.5’inin TEG kullandığı bildirilmektedir (Kobayashi vd., 2018; Marion, 2021). EPIC (Avrupa Prospektif Kanser ve Beslenme Araştırması) tarafından 10 Avrupa ülkesinde gerçekleştirilen bir araştırma sonucunda, TEG kullanım oranının ülkeler özelinde farklılık gösterdiği ve bu oranın erkeklerde %2-51, kadınlarda ise %6.7-65.8 aralığında değiştiği belirtilmektedir (Skeie vd., 2009).

TEG kullanımının özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaygın olduğu yapılan birçok anket araştırmaları sonucunda anlaşılmaktadır. TEG kullanıcıları üzerinde yapılan anket çalışmalarında, bireylerin sosyodemografik özellikleri, kullanım amaçları ve ürün tercihleri gibi konularda oldukça detaylı araştırmalar yapılarak kapsamlı bilgiler elde edilmiştir (Rovira vd., 2013; Bellicki Koyu vd., 2020).

TEG tüketici profili yapılan bazı anket ve epidemiyolojik çalışmalar (Çizelge 3) doğrultusunda irdelendiğinde, cinsiyet bakımından kadınlarda TEG kullanımının daha yaygın olduğu görülmektedir. Araştırma sonuçlarında alkol ve sigara kullanımıyla TEG tüketimi arasında negatif, bireylerin eğitim ve maddi gelir düzeyi ile pozitif bir ilişkinin olduğu ve fiziksel aktivite ve sağlıklı yaşam sürmeye duyulan ilgi arttıkça TEG kullanımının yine arttığı anlaşılmaktadır.

Çizelge 3. TEG kullanıcılarının demografik yapılarına ve seçimlerine yönelik bazı anket çalışmalarının sonuçları.

Hedef Kitle	Katılımcı Sayısı	TEG Tüketicilerinin Genel Özellikleri			Referans
		Kullanım Oranı	Kullanım Amacı	Ürün Tercihleri	
18-31 yaş arasındaki sporcu olmayan öğrenciler	475	%43.4	Sağlığı korumak, zinde kalmak, kilo kontrolü ve hastalıkların iyileşmesini kolaylaştırmak	Vitamin/mineral, protein, karbonhidrat, enerji artırıcılar, prebiyotik/probiyotikler, yağ asitleri, zayıflatıcı bileşenler ve vitamin ve mineral olmayan antioksidanlar	(Khoury vd., 2020)
18 yaş ve üzeri bireyler	1750 (875 kadın ve 875 erkek)	%13 (kadınlarda %18, bekarlarda %33, üniversite mezunlarında %23 ve 18-34 yaş grubundaki bireylerde %15)	Sağlığı korumak, zinde kalmak, kilo kontrolü, bağırsıklığı ve kemikleri güçlendirmek	B ₁₂ vitamini, C vitamini, D vitamini, multivitamin, demir, kalsiyum, çinko, magnezyum, omega-3 yağ asitleri ve protein	(GTBD, 2018)
18 yaş ve üzeri bireyler	396	%36.6	Halsizlik gidermek, bağırsıklığı güçlendirmek ve Hastalıkları önlemek veya tedavi etmek	Vitamin-multivitamin (%15.7), vitamin + mineral (%7.1) balık yağı (%7.6), vitamin + balık yağı (%6.8), mineraller (%3.3)	(Doğan vd., 2020a; Doğan vd., 2020b)
18 yaş ve üzeri bireyler	389 (253 kadın ve 136 erkek)	%42.7 (kadınlarda %50.6, erkeklerde %27.9)	Bağırsıklığı güçlendirmek, besin yetersizliğini azaltmak ve zinde kalmak	D vitamini (%60.2), B ₁₂ vitamini (%34.3), multivitaminler (%33.7), demir minerali (%22.3) ve probiyotikler (%20.5)	(Devecioğlu, 2020)

Çizelge 3. devam

Hedef Kitle	Katılımcı Sayısı	TEG Tüketicilerinin Genel Özellikleri			Referans
		Kullanım Oranı	Kullanım Amacı	Ürün Tercihleri	
18 yaş ve üzeri bireyler	608	%60 (25-34 yaş aralığında kullanımı artmaktadır)	Ürünlerin fonksiyonel özelliklerinden yararlanmak ve bağışıklığı güçlendirmek	Multivitaminler, C vitamini ve D vitamini	(GTBD, 2020)
18-65 yaş arasındaki bireyler	402 (236 kadın ve 166 erkek)	%66.2	Bağışıklığı güçlendirmek (%72.9), kendini pozitif hissetmek (%44), COVID-19 hastalığından korunmak (%39.1) ve besin yetersizliğini gidermek (%35.7)	C vitamini, D vitamini, B grubu vitaminleri, zencefil, yeşil çay, tarçın ve zerdeçal	(Demir vd., 2021)
18 yaş ve üzeri bireyler	2081	%48	Besin yetersizliğini azaltmak, bağışıklığı güçlendirmek, sağlığı korumak, zinde kalmak ve egzersizlerde performansı artırmak	Multivitaminler, balık yağı, D vitamini, C vitamini, demir, B vitamini, glukozamin, kalsiyum, magnezyum ve protein	(FSA, 2018)
Sağlık personeli	1017 (828 kadın ve 189 erkek)	%24.9	Bağışıklığı güçlendirmek, besin yetersizliğini gidermek ve zinde kalmak	Multivitamin-mineraller	(Bellikli Koyu vd., 2020)
12 yaş ve üzeri bireyler	800 (617 kadın ve 183 erkek)	%35.3 (kullanım oranı günde 1-2 defa şeklinde %45.1'dir.)	Bağışıklığı güçlendirmek, sağlığı korumak, kilo kontrolü ve zinde kalmak	B ₁₂ vitamini (%13.6), demir (%13.5), protein (%5), balık yağı (%12.4)	(Kılıç Kanak vd., 2021)
35-80 yaş arasındaki bireyler	6352	%9.3 (kullanım oranı günlük (%82.2) ve haftalık (%4.5) şeklindedir)	Besin bileşenlerinin takviye edilmesi, sağlığı korumak ve bağışıklığı güçlendirmek	Multivitamin-multimineral, esansiyel yağ asitleri ve antioksidanlar	(Rovira vd., 2013)
15-60 yaş arasındaki bireyler	362 (250 kadın ve 105 erkek)	%61.7	Bağışıklığı güçlendirmek ve COVID-19 hastalığından korunmak	C vitamini (%43.6), D vitamini (%37.7), probiyotik gıdalar (%12.9), omega-3 ve omega-6 yağı (%8.5), balık yağı (%6.4) ve beta glukan (%2.9)	(Kutlu vd., 2021)
21-50 yaş arasındaki spor salonunda egzersiz yapan bireyler	153 (59 kadın ve 94 erkek)	%41.2	Bağışıklığı güçlendirmek (%50.32), sağlığı korumak (%27.9), zinde kalmak (%26.45), kilo kontrolü (%23.87), besin bileşenlerinin takviye edilmesi (%23.22) ve kasları güçlendirmek (%20.64)	D vitamini (%27.5), B ₁₂ vitamini, multivitamin, C vitamini, protein tozu/bar, L-karnitin ve demir minerali	(Samar, 2021)

SONUÇ

Son yıllarda tüm dünyada ve ülkemizde takviye edici gıda pazarındaki gelişmelerin ivme kazanmasıyla takviye edici gıda ürünleri hakkında daha güvenilir bilgilere ulaşma ihtiyacı doğmuştur. Bu hızlı gelişmeler sonucunda sektörde taşış ve sahte ürünlerin sayısında önemli bir artış görüldüğünden takviye edici gıdalar ile ilgili yasal

düzenlemeler daha fazla önem kazanmaktadır. Ancak bu mevzuatlar ve denetimler, büyüyen pazar karşısında yetersiz kalabileceğinden sürekli güncellenmelidir. Ayrıca, dünyadaki ve ülkemizdeki ilgili mevzuatlar ve literatürdeki bilgiler arasında bu ürünlerin satın alma şekilleri ve gıda ve ilaç ayırımı gibi konularda net ifadelerin yer almamasından dolayı büyük bir boşluğun

olduğu görülmüş olup, ilgili mevzuatlar bu anlamda ivedilikle revize edilmelidir. Takviye edici gıdalar, sadece gereksinim duyulduğunda uzman kontrolünde genellikle besin eksikliğini gidermek, bağışıklığı güçlendirmek ve zinde kalmak amacıyla kullanılmalı ve ilaç olarak görülmemelidir. Dünyada ve ülkemizde takviye edici gıda türlerinden en çok multivitamin/mineral, omega-3 yağ asitleri tercih edilmektedir. Bu tercihlerin ve kullanım sıklığının, ülkelerin gelişmişlik düzeyleri ve bireylerin eğitim ve maddi gelirleriyle doğrudan ilişkili olduğu, bu nedenle takviye edici gıdalara ulaşmalarında farklılıklar olduğu anlaşılmaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu derleme makalesi ile ilgili başka kişiler ve/veya kurumlar arasında çıkar çatışması bulunmadığını beyan etmektedir.

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar, bu derleme makalesinin literatür tarama, yazma ve düzenleme aşamalarında eşit oranda katkıda bulunmuşlardır. Ayrıca, makalenin yayın aşaması sürecinde de gerekli tüm kontrolleri yaparak son halini onaylamışlardır.

KAYNAKLAR

Alowais, M.A., Selim, M.A. (2019). Knowledge, attitude, and practices regarding dietary supplements in Saudi Arabia. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 8(2): 365-372, doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_430_18

Anonymus (2010a). Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. 13 Haziran 2010. Sayı: 27610. Ankara.

Anonymus (2010b). Geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürünler Yönetmeliği. T.C. Sağlık Bakanlığı. 6 Ekim 2010. Sayı: 27721. Ankara.

Anonymus (2013a). Türk Gıda Kodeksi Takviye edici gıdalar tebliği (2013/49). T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. 16 Ağustos 2013. Sayı: 28737. Ankara.

Anonymus (2013b). Takviye edici gıdaların ithalatı, üretimi, işlenmesi ve piyasaya arzına ilişkin yönetmelik. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. 2 Mayıs 2013. Sayı: 28635. Ankara.

Anonymus (2015). Türkiye Beslenme Rehberi 2015 (TÜBER). T.C. Sağlık Bakanlığı. Yayın No: 1031.2016. Ankara.

Anonymus (2017). Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. 26 Ocak 2017. Sayı: 29960. Ankara.

Anonymus (2021a). Takviye Edici Gıdalar Kısıtlı Maddeler Listesi. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. 30 Kasım 2021. Ankara.

Anonymus (2021b). Onaylı Takviye Edici Gıdalar Listesi. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. 18 Aralık 2021. Ankara.

Anonymus (2021c). Gıda takviyesi pazarı çitayı yükseltti. TRT Haber. <https://www.trthaber.com/haber/ekonomi/gida-takviyesi-pazari-citayi-yukseltti-305804.html>. Erişim Tarihi: 23 Aralık 2021.

Arslan, D., Aydın, M., Türker, S. (2021). Extraction methods of medicinal and aromatic plants, its use in foods and evaluation in food supplement field. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(5): 926-936, doi: 10.24925/turjaf.v9i5.926-936.4399

Atalay, D., Erge, H.S. (2018). Gıda takviyeleri ve sağlık üzerine etkileri. *Food and Health*, 4(2): 98-111, doi: 10.3153/FH18010

Baltacıoğlu, M. S. (2019). Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Aile Hekimliği Polikliniğine Başvuran 18 Yaş ve Üzeri Hastalarda Gıda Takviyesi Kullanımı ve Hastaların Bu Konudaki Bilinç Düzeyi. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Antalya, Türkiye, 137 s.

Bellikci Koyu, E., Çalık, G., Kaner Tohtak, G., Günsel-Yıldırım, G. (2020). Sağlık çalışanlarının besin desteği kullanma durumları ve ilişkili etmenler. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 34(2): 141-151, doi: 10.5505/deutfd.2020.69772

Çağındı, Ö., Savlak, N., İnce, C., Dedeoğlu, M., Köse, E. (2022). COVID-19 hastalığını önlemede kullanılan takviye edici gıdalar ve sağlık üzerine etkileri. *GIDA*, 47(2): 183-198, doi: 10.15237/gida.GD21146

- Çıtar Dazıroğlu, M.E., Yıldız, M., Akbulut, G. (2021). Covid-19 pandemisine diyetetik bakış: Besin, besin destekleri ve tıbbi beslenme tedavisi. *ERÜ Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 8(1): 13-22.
- Çoşkun, F., Veliöğlu Er, E. (2020). The use of some food supplements in the Thrace region of Turkey. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 40(2): 59-73.
- Demir, G., Kılıçkalkan, B., Takak, M. K. (2021). COVID-19 Pandemisi Sürecinde Yetişkinlerin Besin Destekleri Kullanımlarının İncelenmesi. *Genel Tıp Dergisi*, 31(4): 430-439, doi: 10.54005/geneltip.988805
- Demmer, E., Cifelli, C.J., Houchins, J.A., Fulgoni, V.L. (2018). The pattern of complementary foods in American infants and children aged 0-5 years old-a cross-sectional analysis of data from the NHANES 2011-2014. *Nutrients*, 10(7): 827, doi: 10.3390/nu10070827
- Devecioğlu, E. (2020). Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hastanesi aile hekimliği polikliniğine başvuran 18 yaş ve üzeri bireylerde gıda takviyesi kullanım durumları ve sağlıklı beslenme davranışları. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Samsun, Türkiye, 120 s.
- Doğan, S., Okumuş, E., Bakkalbaşı, E., Cavidoğlu, İ. (2020a). Tüketicilerin takviye edici gıdaları kullanım amacı, satın alma tercihleri, ürünlere olan güveni ve yasal düzenlemeler hakkındaki düşünceleri: Van ili örneği. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(4): 821-831, doi: 10.29133/yyutbd.733454
- Doğan, S., Okumuş, E., Bakkalbaşı, E., Cavidoğlu, İ. (2020b). Van ili kentsel alanda takviye edici gıdaların kullanımı ve tüketicilerin bilinç düzeyi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 25(2): 75-84.
- Doğan, Ş., Ünal, D. (2021). Sosyal medyada reçetesiz (otc) ilaç pazarlaması: pharmon ve supradyn reklamlarının gösterge bilimsel analizi. *The Turkish Online Journal of Design Art and Communication*, 11(1), 247-267, doi: 10.7456/11101100/014
- Durna, D. (2020). Türk yargı kararları ışığında takviye edici gıdaların denetimi. *Türkiye Adalet Akademisi Dergisi*, 1(41): 243-274.
- Dwyer, J. T., Coates, P. M., Smith, M. J. (2018). Dietary supplements: regulatory challenges and research resources. *Nutrients*, 10(1): 41, doi: 10.3390/nu10010041
- Ergen, A., Bozkurt Bekoğlu, F. (2016). Türkiye'de besin destek ürünlerine yönelik görüşler ve tüketici profilini tanımlamaya yönelik bir araştırma. *İşletme Araştırmaları Dergisi*, 8(1): 323-341.
- FSA (2018). Food Standarts Agency. Food Supplements Consumer Research Final Report. Mayıs 2018. <https://www.food.gov.uk/research/research-projects/food-supplements-consumer-research>.
- Gözler, K., Kaplan, G. (2018). İdare Hukuku Dersleri. Ekin Kitapevi Ltd. Şti., Bursa, Türkiye, s. 1-800.
- GTBD (2018). Gıda Takviyesi ve Beslenme Derneği. 1. Gıda ve beslenme konferansı. <http://gtbd.org.tr/wp-content/uploads/2018/04/G%C4%B1da-ve-Beslenme-Dergisi-say%C4%B1-2.pdf>.
- GTBD (2020). Gıda Takviyesi ve Beslenme Derneği. Gıda takviyesi kullanımı ve beslenme alışkanlıkları ölçümü anketi-Aralık 2020. <https://gtbd.org.tr/gida-takviyesi-kullanimi-ve-beslenme-aliskanliklari-olcumu-anketi-aralik-2020/>.
- GTBD (2022a). Gıda Takviyesi ve Beslenme Derneği. Ulusal Mevzuat. <https://gtbd.org.tr/ulusal-mevzuat/>
- GTBD (2022b). Gıda Takviyesi ve Beslenme Derneği. Uluslararası Mevzuat. <https://gtbd.org.tr/uluslararasi-mevzuat/>
- Güzelsoy, N.A. (2013). ICP-MS ile bazı gıda takviyelerinde element analizleri ve analitik problemler. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Bursa, Türkiye, 67 s.
- Güzelsoy, N.A., İzgi, B. (2015). Balık yağı gıda takviyelerinde metal bulaşanlarının (As, Hg, Cd,

- Pb) belirlenmesinde analitik parametrelerin optimizasyonu. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 15: 19-26.
- Homer, P.M., Mukherjee, S. (2018). The impact of dietary supplement form and dosage on perceived efficacy. *Journal of Consumer Marketing*, 35(2): 228-238, doi: 10.1108/JCM-02-2017-2108
- Kazaz, A., Gençyürek Erdoğan, M. (2020). Takviye edici gıda reklamlarında aldatıcı unsurlar. *Gümüşhane Üniversitesi İletişim Fakültesi Elektronik Dergisi*, 8(2): 930-960, doi: 10.19145/e-gifder.722025
- Kılıç Kanak, E., Öztürk, S.N., Özdemir, Y., Asan, K., Öztürk Yılmaz, S. (2021). Gıda takviyeleri kullanım alışkanlıklarının değerlendirilmesi. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10(1): 168-177, doi: 10.28948/ngmuh.783613
- Kobayashi, E., Nishijima, C., Sato, Y., Umegaki, K., Chiba, T. (2018). The prevalence of dietary supplement use among elementary, junior high, and high school students: A nationwide survey in Japan. *Nutrients*, 10(9): 1176, doi: 10.3390/nu10091176
- Kutlu, N., Ekin, M. M., Alav, A., Ceylan, Z., Meral, R. (2021). Covid-19 Pandemi Sürecinde Bireylerin Beslenme Alışkanlığında Meydana Gelen Değişimin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *International Journal of Social, Political and Economic Research*, 8(1): 173-187, doi: 10.46291/IJOSPERvol8iss1pp173-187
- Marion, S. (2021). Factors influencing dietary supplements use help identifying athletes with risky behaviors. Master's Thesis. Université de Montréal, Canada, 77 p.
- Oruç Güler, Ö.E., Anul, N. (2020). Spor salonunda spor yapan kişilerde gıda takviyesi kullanım durumunun saptanması. *Sağlık ve Yaşam Bilimleri Dergisi*, 2(2): 43-48, doi: 10.33308/2687248X.202022178
- Özbekler, T.M. (2019). Değişen beslenme alışkanlıkları perspektifinde takviye edici gıdalar: Tüketiciler ne kadar bilinçli?. *International Social Sciences Studies Journal*, 5(51): 6866-6882, doi: 10.26449/sss.1937
- Peters, E., Klein, W., Kaufman, A., Meilleur, L., Dixon, A. (2013). More is not always better: Intuitions about effective public policy can lead to unintended consequences. *Social Issues and Policy Review*, 7(1): 114-148, doi: 10.1111/j.1751-2409.2012.01045.x
- Piekara, A., Krzywonos, M., Kopacz, M. (2021). Dietary supplements intended for children-proposed classification of products available on the market. *Journal of Dietary Supplements*, 1-12, doi: 10.1080/19390211.2021.1887425
- Raposo, A., Saraiva, A., Ramos, F., Carrascosa, C., Raheem, D., Bárbara, R., Silva, H. (2021). The Role of Food Supplementation in Microcirculation-A Comprehensive Review. *Biology*, 10(7): 616, doi: 10.3390/biology10070616
- Rovira, M.A., Grau, M., Castañer, O., Covas, M.I., Schröder, H. (2013). Dietary supplement use and health-related behaviors in a Mediterranean population. *Journal of Nutrition Education and Behavior*, 45(5): 386-391, doi: 10.1016/j.jneb.2012.03.007
- Samar, E. (2021). Pandemi Sürecinde Spor Salonlarında Egzersiz Yapan Kişilerde Gıda Takviyesi Kullanma Durumunun İncelenmesi. *ISPEC International Journal of Social Sciences & Humanities*, 5(2): 189-203, doi: 10.46291/ISPECIJSSHvol5iss2pp189-203
- Scarmozzino, F., Visioli, F. (2020). Covid-19 and the subsequent lockdown modified dietary habits of almost half the population in an Italian sample. *Foods*, 9(5): 675, doi: 10.3390/foods9050675
- Sezgin, D. (2020). Gıda takviyelerinin Türk ve dünya pazarındaki yeri. Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü İşletme Anabilim Dalı Mezuniyet Projesi, İstanbul, Türkiye, 62 s.
- Singh, A., Misra, M., Mishra, S., Sachan, S. G. (2021). Fungal Production of Food Supplements. *Fungi in Sustainable Food Production*, 129-142, doi: 10.1007/978-3-030-64406-2_8
- Sirico, F., Miressi, S., Castaldo, C., Spera, R., Montagnani, S., Di Meglio, F., Nurzynska, D. (2018). Habits and beliefs related to food

supplements: Results of a survey among Italian students of different education fields and levels. *PLoS ONE*, 13(1): e0191424, doi: 10.1371/journal.pone.0191424

Skeie, G., Braaten, T., Hjartaker, A., Lentjes, M., Amiano, P., Jakszyn, P., Pala, V., Palanca, A., Niekerk, E.M., Verhagen, H., Avloniti, K., Psaltopoulou, T., Niravong, M., Touvier, M., Nimpitsch, K., Haubrock, J., Walker, L., Spencer, E.A., Roswall, N., Olsen, A., Wallström, P., Nilsson, S., Casagrande, C., Deharveng, G., Hellström, V., Boutron-Ruault, M.C., Tjønneland, A., Joensen, A.M., Clavel Chapelon, F., Trichopoulou, A., Martinez, C., Rodríguez, L., Frasca, G., Sacerdote, C., Peeters, P.H.M., Linseisen, J., Schienkiewitz, A., Welch, A.A., Manjer, J., Ferrari, P., Riboli, E., Bingham, S., Engeset, D., Lund, E., Slimani, N. (2009). Use of dietary supplements in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition calibration study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63(4): 226-238, doi: 10.1038/ejcn.2009.83

Şimşek, S. (2021). Takviye Edici Gıdaların Onay İşlemleri ve Denetimi. *Ankara Sosyal Bilimler Üniversitesi Hukuk Fakültesi Dergisi*, 3(1): 125-191, doi: 10.47136/asbuhfd.890030

Tan, T. (2021). Fonksiyonel Gıdalar ve Gıda Destek Ürünleri ile İlgili Yasal Düzenlemelerin Analizi. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Mersin, Türkiye, 64 s.

TEB (2009). Türk Eczacıları Birliği. Reçetesiz İlaçlar ve İlaç Dışı Ürünler: Betimleme ve Müdahale. 01 Aralık 2009. Sayı: 1. Ankara. http://e-kutuphane.teb.org.tr/arsiv.php?anabelge_no=399 (Erişim Tarihi: 21.12.2021).

Toker, R., Gölükcü, M., Tokgöz, H. (2015). Tıbbi ve aromatik bitkilerin gıda sanayisinde kullanım alanları. <https://www.turktob.org.tr/dergi/makaleler/dergi15/54-59.pdf> (Erişim Tarihi: 06.12.2021).

FARKLI ORANLARDA YAYIKALTI TOZU KULLANILARAK ÜRETİLEN DONDURMALARIN BAZI ÖZELLİKLERİ

Esin Doğan Özsunur, Nazlı Kanca*, Ayşe Gürsoy

Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Dışkapı, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 23.03.2022; Kabul / Accepted: 27.06.2022; Online baskı / Published online: 04.07.2022

Doğan-Özsunur, E., Kanca, N., Gürsoy, A (2022). Farklı oranlarda yayıkaltı tozu kullanılarak üretilen dondurmaların bazı özellikleri. GIDA (2022) 47 (4) 591-603 doi: 10.15237/gida.GD22037

Doğan-Özsunur, E., Kanca, N., Gürsoy, A (2022). Some properties of ice cream produced with different ratios of buttermilk powder. GIDA (2022) 47 (4) 591-603 doi: 10.15237/gida.GD22037

ÖZ

Bu çalışmada bir süt yan ürünü olan yayıkaltı tozu, dondurma üretiminde farklı oranlarda kullanılmıştır. Yayıkaltı tozu miktarı, miks bileşiminde kullanılan yağsız süttözu miktarının %5, %10, %20, %30 ve % 40'ı kadar olacak şekilde hesaplanmıştır. Olgunlaştırılmış mikslerde gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre, yayıkaltı tozu ilavesi örneklerin titrasyon asitliği, pH değeri ve kurumadde içeriğini etkilememiş ($P > 0.05$), kıvam indeksi ile yağ ve kül içeriklerini ise artırmıştır ($P < 0.05$). Ayrıca, yayıkaltı tozu miktarının artması ile faz ayrılmasının azaldığı belirlenmiştir ($P < 0.05$). Kullanılan yayıkaltı tozu miktarı arttıkça, dondurma örneklerinin hacim artışı ve b^* değerleri artmış, sertlik değerleri azalmış ve ilk damlama süreleri uzamıştır ($P < 0.05$). Duyusal analiz sonuçlarına göre, yayıkaltı tozu miktarının artışı dondurma örneklerinin görünüş ve yapı özelliklerini etkilememiş ($P > 0.05$) ancak lezzet yönünden toz miktarı yüksek olan örnekler panelistlerden daha düşük puan almışlardır ($P < 0.05$).

Anahtar kelimeler: Dondurma, duyusal değerlendirme, miks, yayıkaltı tozu

SOME PROPERTIES OF ICE CREAM PRODUCED WITH DIFFERENT RATIOS OF BUTTERMILK POWDER

ABSTRACT

In this study, buttermilk powder, a dairy by-product, was used in ice cream production at different rates. The amount of buttermilk powder was calculated as 5%, 10%, 20%, 30% and 40% of skimmed milk powder used in mix composition. Addition of buttermilk powder did not affect the titratable acidity, pH value and dry matter content of the aged mixes ($P > 0.05$), but increased consistency index, fat and ash content ($P < 0.05$). Furthermore, phase separation decreased with the increasing amounts of buttermilk powder ($P < 0.05$). As buttermilk powder increase, overrun and b^* values of ice cream samples increased, hardness values decreased and first dripping times were prolonged ($P < 0.05$). Sensory analysis revealed that the increasing buttermilk powder did not affect appearance and texture properties of ice cream samples ($P > 0.05$), however, samples with high powder content had lower flavor scores from panelists ($P < 0.05$).

Keywords: Ice cream, sensory evaluation, mix, buttermilk powder

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉: nazli.turkmen@ankara.edu.tr

☎: (+90) 312 596 1346

☎: (+90) 312 318 2219

Esın Doğan Özsunur; ORCID no: 0000-0002-0036-9022

Nazlı Kanca; ORCID no: 0000-0002-4219-8903

Ayşe Gürsoy; ORCID no: 0000-0001-6077-6087

GİRİŞ

Yayıkaltı, tereyağı üretiminden elde edilen bir süt yan ürünüdür. Üretimde yayıklama sırasında hammaddede bulunan suda çözünebilir özellikteki bileşenlerin tamamına yakını ile süt yağının küçük bir kısmı yayıkaltına geçmektedir (Morin vd., 2007). Dolayısıyla yayıkaltı bileşim yönünden yağsız sütle benzerlik göstermekte, buna karşın daha fazla yağ ile yağ globül membran bileşenlerini içermekte ve biyoyararlılığı yüksek bir yan ürün olarak kabul edilmektedir (Wong ve Kitts, 2003b; Vanderghem vd., 2010).

Yayıkaltı özellikle protein bakımından zengin bir içeriğe sahip olup, bünyesinde lizin, metionin, izolösin ve triptofan gibi önemli esansiyel aminoasitler barındırmaktadır. Bunun yanı sıra bu yan ürün, vitamin, kalsiyum ve laktoz gibi besin öğelerini de önemli miktarlarda içermektedir. Yayıklama sırasında süt yağ globüllerinin parçalanması ile birlikte yağ globül membran materyalleri de büyük ölçüde yayıkaltına geçmektedir. Bu materyallerin ağırlıkça % 40'ını oluşturan polar lipidlerin bileşiminde; yaklaşık %30 fosfatidiletanolamin, %7 fosfatidilinositol, fosfatidilserin, %31 fosfatidilkolin ve %20 sifingomiyelin bulunmaktadır (Rodríguez-Alcala ve Fontecha, 2010). Yapılan çalışmalar ile membran materyallerinin, özellikle de polar lipidlerin antiviral (rotavirüslere karşı) ve antikanserojenik etkileri olduğu (Morin vd., 2007; Castro-Gomez vd., 2016), peroksit ve hidroksil radikallerinin ortamdan uzaklaştırılmasını sağlayarak antioksidan etki gösterdiği (Wong ve Kitts, 2003b), ayrıca koroner kalp hastalığı, otizm ve MS (multiple skleroz) gibi rahatsızlıklar üzerine olumlu etkilerinin bulunduğu belirtilmektedir (Spitsberg, 2005; Dewettick vd., 2008; Ahn vd., 2011). Yayıkaltına biyo-fonksiyonel özellik kazandıran en önemli bileşen, yağ globül membranının parçalanması ile birlikte yayıkaltına geçen fosfolipidler ve özellikle lesitindir (Corredig vd., 2003; Smith, 2008). Lesitin, özellikle gıda endüstrisi açısından bazı önemli teknolojik özelliklere sahiptir. Lesitinin oksidasyonu engelleyici ve kıvam artırıcı rolü olduğu bilinmektedir (Arslan, 2011). Ayrıca iyi bir emülgatör olmasından dolayı, kullanıldığı ürünlerin fiziksel özelliklerini geliştirdiği

bilinmektedir (Trachoo ve Mistry, 1998; Poduval ve Mistry, 1999; Shibu vd., 2000; Bilgin vd., 2006; Madenci vd., 2013). Emülgatörlerin, özellikle ara yüzey gerilimini azaltarak üründe emülsiyon stabilitesinin sağlanmasında ve ürünün viskozite, tekstür ve erime özelliklerinin iyileştirilmesinde önemli etkileri bulunmaktadır (Atsan ve Çağlar, 2008; Güven vd., 2010; Goff ve Hartel, 2013). Ancak bazı araştırmacılar yayıkaltının emülsifikasyon kapasitesinin veya stabilitesinin yağsız süt ile karşılaştırıldığında çok da yüksek olmadığını belirtmişlerdir. Yayıkaltında yağ globül membran materyalleri, kazein fraksiyonları ve serum proteinleri gibi farklı bileşenler bulunmaktadır. Bu bileşenlerin miktarı ve aralarındaki oranın yanı sıra, sıcaklık, pH gibi bazı faktörler de stabilitenin sağlanmasında etkili olmaktadır (Corredig ve Dalgleish, 1996; Wong ve Kitts, 2003a). Emülsiyon stabilitesini sağlama özelliğinin yanı sıra yayıkaltı tozu; açığa çıkan serbest sülfidril gruplarının miktarına ve yağ oranına bağlı olarak çözünürlük, sınırlı oranda su ve yağ tutma kapasitesi, köpük oluşturma ve stabilitesi göstermektedir (Wong ve Kitts, 2003a; Sharma vd., 2012; Svanborg vd., 2015).

Yayıkaltı, raf ömrünü uzatabilmek ve ürünün taşınabilirliğini kolaylaştırmak için genellikle toz haline getirilerek kullanılmakta, böylece katma değeri yüksek bir ürün elde edilmektedir (Sharma vd., 2012; Atamer, 2016). Yayıkaltı tozu, özellikle salata soslarında, pastacılık ürünlerinde, unlu mamullerde ve hayvan beslenmesinde endüstriyel düzeyde kullanılmaktadır (Caric, 1994; Bachmann, 2001; Jinjara vd., 2006). Buna karşın bilindiği kadarıyla ticari olarak kullanımı bulunmamakla birlikte, yağ içeriği azaltılmış yoğurt (Trachoo ve Mistry, 1998; Romeih vd., 2014; Zhao vd., 2019), pizza (Govindasamay-Lucey vd., 2006) ve Cheddar peyniri (Hickey vd., 2018) gibi süt ürünlerinde sınırlı sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada, her yaşta bireyin severek tükettiği, besin değeri yüksek ve bileşimi kolaylıkla değiştirilebilen bir süt ürünü olan dondurmanın, daha düşük maliyetle üretiminin gerçekleştirilmesi ve aynı zamanda besinsel ve teknolojik açıdan daha nitelikli bir ürün elde edilmesi

hedeflenmiştir. Bu amaçla, bahsedilen kriterler bakımından önemli özelliklere sahip yayıkaltı tozu, dondurma üretiminde farklı oranlarda kullanılmış ve ürünün fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özellikleri incelenmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Dondurma Üretimi

Dondurma mikşlerinin hazırlanmasında çiğ inek sütü (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Haymana Araştırma ve Uygulama Çiftliği, Ankara, Türkiye), krema (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt İşletmesi, Ankara, Türkiye), yağsız süttozu (Enka Süt A.Ş., Konya, Türkiye), marketten temin edilen toz şeker ve ticari stabilizatör-emülgatör karışımı (CREMODAN®, Danisco, Danimarka) kullanılmıştır. Üretimde kullanılan yayıkaltı tozu ise Enka Süt A.Ş. (Konya, Türkiye)'den temin edilmiştir. Kullanılan krema, yağsız süttozu ve yayıkaltı tozunun yağ içerikleri sırasıyla %65, %0.67 ve %7.34'tür.

Kullanılacak dondurma reçetesi gerçekleştirilen ön denemeler sonucunda belirlenmiş ve örnekler %15 süt yağsız kurumadde, %8 yağ, %15 şeker ve %0.5 stabilizatör/emülgatör içerecek şekilde hesaplamalar yapılmıştır. Yayıkaltı tozu ilaveli örneklerde, mikşte kullanılması gereken toplam yağsız süttozu miktarının (~%8) belirli oranları dikkate alınarak ilave edilecek yayıkaltı tozu miktarı belirlenmiştir. Örneklerin yayıkaltı tozu içerikleri Çizelge 1'de ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

Çizelge 1. Örneklerin yayıkaltı tozu içerikleri
Table 1. Buttermilk contents of the samples

Örnekler Samples	Açıklama Description
A (kontrol) A (control)	%100 süttozu 100% milk powder
B	%95 süttozu + % 5 yayıkaltı tozu 95% milk powder + 5% buttermilk powder
C	%90 süttozu + %10 yayıkaltı tozu 90% milk powder + 10% buttermilk powder
D	%80 süttozu + %20 yayıkaltı tozu 80% milk powder + 20% buttermilk powder
E	%70 süttozu + %30 yayıkaltı tozu 70% milk powder + 30% buttermilk powder
F	%60 süttozu + %40 yayıkaltı tozu 60% milk powder + 40% buttermilk powder

Örneklerin üretimi için öncelikle hammaddeler (inek sütü, yağsız süttozu, krema, toz şeker, stabilizatör/emülgatör) karıştırılmış ve karışıma su banyosunda (Heto, SBD 50, Allerød, Danimarka) 80°C/20 dakika ısı işlem, 5 dakika ultraturrax (Heidolph, DIAX 900, Schwabach, Germany) ile homojenizasyon uygulanmış, ardından miskler ~20°C'ye soğutulmuştur. +4°C'de 17 saat olgunlaştırılan mikşler Triomaxx marka Ada model batch tipi dondurma makinesinde (Jiangmen, Çin) dondurulmuştur. Dondurma örnekleri, -25°C'lik odalarda ~36 saat süreyle sertleştirilmiş ve analizler sertleştirme sonunda gerçekleştirilmiştir.

Örneklerin Analizleri

Örneklerin pH değerleri Mettler Toledo marka pH-metre (Zürich, İsviçre), toplam kurumadde içerikleri gravimetrik yöntem (AOAC, 2013), yağ içerikleri Gerber yöntemi (AOAC, 1990) ve kül içerikleri gravimetrik yöntem (Goff ve Hartel, 2013) ile belirlenmiştir. Mikşlerin titrasyon asitliği değerleri ise, fenolfitalein indikatörü varlığında 0.1 N NaOH kullanılarak titrasyon yöntemi ile belirlenmiş ve sonuçlar % laktik asit cinsinden ifade edilmiştir.

Mikşlerin kıvam indeksi değerleri Malvern Kinexus Pro+ reometre (Worcestershire, UK) kullanılarak belirlenmiştir. Dinamik reometrik yöntemle 2 mm boşlukta, 0.1-300 s⁻¹ kayma hızı aralığında 5°C sıcaklıkta örneklerin kıvam indeksi (K) belirlenmiş ve elde edilen veriler Herschel-Bulkley modeli ile yorumlanmıştır.

Faz ayrılması analizi, Goff ve Hartel (2013) tarafından belirtilen yöntemle gerçekleştirilmiştir. 100 ml'lik beherlere aktarılan mikş örnekleri, +4°C'de bekletilmiş ve 24 saat sonunda beherin alt kısmında ayrılan serum hacmi, başlangıçtaki toplam mikş hacmine oranlanarak serum ayrılması değerleri (%) hesaplanmıştır.

Örneklerin hacim artış değerleri, aynı hacimdeki mikş ve dondurmanın ağırlıklarının tartılıp aşağıdaki formüle göre hesaplanmasıyla belirlenmiştir (Goff ve Hartel, 2013):

$$\% \text{ Hacim artışı} = \frac{\text{Miksin ağırlığı} - \text{Dondurmanın ağırlığı}}{\text{Dondurmanın ağırlığı}} \times 100$$

Dondurma örneklerinin erime oranlarını belirleyebilmek için Méndez-Velasco ve Goff (2012)'un belirttiği yöntem uygulanmıştır. Analiz öncesinde ağırlığı kaydedilen dondurma örnekleri, 2.5 mm²'lik deliklere sahip olan paslanmaz çelik tel üzerine yerleştirilmiş ve eriyen kısmın birikebilmesi için altına bir mezür konulmuştur. Oda sıcaklığında (~23°C) gerçekleştirilen analizde, her bir örneğin ilk damlama zamanı dakika cinsinden kaydedilmiştir. Ayrıca, eriyerek mezürde biriken kısım 30, 60 ve 90. dakikalarda tartılmış ve aşağıdaki formüle göre dondurmaların erime oranları (%) hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Erime oranı} = \frac{\text{Eriyen kısmın ağırlığı}}{\text{Dondurmanın ağırlığı}} \times 100$$

Örneklerin TCR 200 (Time Group Inc., Çin) renk cihazıyla L*, a*, b* değerleri belirlenmiştir. Her bir örnek için 3 farklı kaptan ölçüm yapılmış ve bu ölçümlerin ortalamaları hesaplanmıştır.

Dondurma örneklerinin tekstür ölçümleri, tekstür analiz cihazı (TA.XT Plus, Stable Micro Systems Ltd., Godalming, UK) ve 5 mm çaplı silindirik paslanmaz çelik prob (Part Code: P/5, Stable

Micro Systems Ltd., Godalming, UK) ile gerçekleştirilmiştir. Örnekler ölçüm öncesi, -15°C'de 24 saat süre boyunca bekletilmişlerdir. Bekleme süresi sonunda her örnek için üç ayrı kaptan 3'er adet ölçüm alınmış ve bu ölçümlerin ortalaması hesaplanmıştır. Tekstürel analiz, Akalin vd. (2008)'nin uyguladığı, aşağıda belirtilen parametreler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.
penetration distance = 15 mm
force = 5.0 g
probe speed during penetration = 3.3 mm s⁻¹
probe speed pre- and postpenetration = 3.0 mm s⁻¹

Dondurmaların duyusal analizi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü akademik personelinden oluşan 7 kişilik deneyimli panelist (yaş aralığı 33-60 olan 2 erkek ve 5 kadın) tarafından puanlama testi ile gerçekleştirilmiştir. Duyusal değerlendirme için bir gece önceden -15°C'de bekletilen dondurma örnekleri, her birinden yaklaşık 25 g olacak şekilde panelistlere sunulmuş ve panelistlerden örnekleri görünüş, yapı ve lezzet özellikleri açısından 10 puan üzerinden değerlendirmeleri istenmiştir. Duyusal değerlendirmede Meilgaard vd. (1999) tarafından önerilen skala modifiye edilerek kullanılmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. Duyusal değerlendirmede kullanılan skala

Table 2. The scale used in sensory evaluation

Panelist adı soyadı: Size verilen dondurma örneklerini sırasıyla görünüş, kıvam ve lezzet özellikleri açısından değerlendiriniz. Ürünle, bahsedilen özellikler açısından sizde bıraktığı etkiye göre en yüksek puan 10, en düşük puan 1 olacak şekilde puan veriniz. Ayrıca belirtmek istediğiniz kusur vb. durumları lütfen yorumlar kısmına yazınız.						
Özellik	821	925	246	341	549	789
Görünüş						
Kıvam						
Lezzet						
Yorumlar:						

İstatistiksel Analiz

Farklı oranlarda yayıkaltı tozu kullanılarak üretilen dondurmalarda belirlenen özelliklerin normal dağılım gösterip göstermediğine bakılmıştır. Normal dağılım gösteren kül, kıvam indeksi, hacim artışı değerleri ile ilk damlama zamanı, erime oranları ve b* değeri için ANOVA testi uygulanmıştır. Ancak normal dağılım göstermeyen; toplam kurumadde ve yağ içerikleri, pH ve titrasyon asitliği değerleri, görünüş, yapı ve lezzet özellikleri, L* ve a* değerleri ile faz ayrılması ve sertlik değerlerine Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. Özellikler arasında farkların istatistik olarak önemi olup olmadığı varyans analizi uygulanarak kontrol edilmiştir. Varyans analizi sonucunda farklı bulunan grup ortalamaları arasındaki farkların belirlenmesinde çoklu karşılaştırma testlerinden Duncan testi kullanılmıştır. İstatistiksel değerlendirmeler için; SPSS 15.0 istatistik programı kullanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Örneklerin temel bileşim değerleri Çizelge 3'te gösterilmektedir. pH değerleri, % laktik asit içerikleri ve toplam kurumadde değerleri bakımından örnekler arasında farklılık tespit edilmemiştir ($P > 0.05$). Bu durum, bütün dondurma örneklerinin üretiminde aynı reçetenin kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Örneklerin yağ ve kül içerikleri ise istatistik olarak birbirlerinden farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Kontrol örneği ile en az yayıkaltı tozu içeren örnekler olan B ve C örnekleri arasında bu değerler bakımından bir fark görülmezken, yayıkaltı tozu içerikleri yüksek olan D, E ve F örneklerinin diğer örneklerden daha yüksek oranda yağ ve kül içerdiği tespit edilmiştir. Bu durum, yayıkaltı tozunun yağ ve kül oranının, süttozuna kıyasla daha yüksek (Smith, 2008) olmasından kaynaklanmaktadır. Nitekim bu çalışmada miks hazırlanırken kullanılan yağsız süttozu ve yayıkaltı tozunun yağ içerikleri sırasıyla %0.67 ve %7.34, kül içerikleri ise %7.91 ve %8.32'dir.

Çizelge 3. Örneklerin pH, titrasyon asitliği değerleri, toplam kurumadde, yağ ve kül içerikleri (n=3)
Table 3. pH, titratable acidity values, total solid, fat and ash contents of the samples (n=3)

Örnekler <i>Samples</i>	pH	Titrasyon asitliği (%laktik asit) <i>Titratable acidity (lactic acid%)</i>	Toplam kurumadde (g/100 g) <i>Total solid (g/100 g)</i>	Yağ (g/100 g) <i>Fat (g/100 g)</i>	Kül (g/100 g) <i>Ash (g/100 g)</i>
A	6.43±0.02	0.39± 0.01	39.83±0.02	8.17±0.17 ^c	1.26±0.02 ^c
B	6.52±0.01	0.40±0.01	39.42±0.36	8.17±0.17 ^c	1.28±0.03 ^c
C	6.43±0.00	0.38±0.01	39.51±0.26	8.17±0.17 ^c	1.25±0.02 ^c
D	6.46±0.01	0.40±0.01	39.69±0.52	9.17±0.17 ^{ab}	1.35±0.02 ^b
E	6.48±0.04	0.39±0.00	39.02±0.26	9.00±0.00 ^b	1.41±0.00 ^a
F	6.46±0.05	0.40±0.00	39.27±0.11	9.67±0.33 ^a	1.43±0.01 ^a

A (kontrol): %0 yayıkaltı tozu, B: %5 yayıkaltı tozu, C: %10 yayıkaltı tozu, D: %20 yayıkaltı tozu, E: %30 yayıkaltı tozu, F: %40 yayıkaltı tozu

Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).

A (control): 0% buttermilk powder, B: 5% buttermilk powder, C: 10% buttermilk powder, D: 20% buttermilk powder, E: 30% buttermilk powder, F: 40% buttermilk powder

Values with the different letter within the same column are significantly different ($P < 0.05$).

Dondurma mikserlerinin Herschel-Bulkley davranış modeline göre kıvam indeksi değerleri Çizelge 4'te gösterilmektedir. Kıvam indeksi değerleri arasında farklılık görülmekle birlikte ($P < 0.05$), yayıkaltı tozu miktarına bağlı olarak düzenli bir değişim meydana gelmemiştir. Kontrol örneğiyle karşılaştırıldığında, yayıkaltı tozunun örneklerin kıvam indeksi değerlerini artırdığını söylemek mümkündür. En yüksek değerler 0.41 Pa.s ve 0.42 Pa.s ile sırasıyla % 20 ve % 30 toz kullanılan örneklerde görülmüştür. Yağsız süttözu, peyniraltı suyu tozu ile tatlı krema ve kültürlenmiş kremadan üretilen yayıkaltı tozlarının viskozite değerlerini karşılaştırmalı olarak inceleyen Sodini vd. (2006), yayıkaltı tozunun diğer toz ürünlere kıyasla viskoziteyi daha fazla artırdığını ve viskozite değişiminde pH ile çözünebilir protein miktarının en önemli faktörler olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde Akalın vd. (2008), yağ içeriği azaltılmış ürünlerde yağ ve protein esaslı ikame maddelerinin dondurma miksinin viskozitesini artırdığını belirtmiştir. El-Kholy vd. (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, yağsız manda sütü ile yayıkaltının belirli oranlarda karışımından üretilen mikserlerde, yayıkaltı miktarının artışıyla reolojik özellikler olumlu yönde etkilenmiş, viskozite ve kıvam indeksi değerlerinde artış gözlenmiştir. Diğer taraftan Thomas ve Combs (1944), yağsız süttözu yerine yayıkaltı kullanımının dondurma mikserlerinin viskozitelerinde belirgin bir farklılık yaratmadığını belirtmiştir.

Olgunlaştırma sırasında mikste veya erime sırasında dondurmada görülebilen serum ayrılması en önemli kusurlardandır. Hammaddelerin özellikleri, miks reçetesi, ürün işleme özellikleri gibi faktörler miksin stabilitesini etkileyebilmektedir. Miks bileşiminde yer alan polisakkarit yapıdaki stabilizatörler ile süt proteinleri, özellikle de kazein miselleri, hidrofilik karakterde olmalarına rağmen birbirlerinden ayrılma eğilimi göstermekte ve serum stabilitesi bozulmaktadır. Bu unsur, protein oranının artırılması ve birbiriyle uyumlu stabilizatör-emülgatör kullanımı ile azaltılabilmektedir (Vega ve Goff, 2005; Goff ve Hartel, 2013). Dondurma mikserlerinin faz ayrılması değerleri arasında istatistik olarak farklılık tespit edilmiştir ($P <$

0.05). Çizelge 4 incelendiğinde, yayıkaltı tozu miktarının artması ile faz ayrılması değerlerinin azaldığı görülmektedir. Bu çalışmada örneklerin faz ayrılması değerlerinin yayıkaltı tozu ile azaltılabilesinin, yayıkaltında bulunan protein ve fosfolipidlerden kaynaklandığı söylenebilir. Fosfolipidler hem polar hem de apolar özellik göstermekte ve β -kazein ve serum proteinleriyle hidrofobik ve elektrostatik interaksyonlarla oluşturduğu kompleks yapılar sayesinde miksin su tutma kapasitesi artmakta, diğer bir ifadeyle serum ayrılması azalmaktadır (Gallier vd., 2012; Elkashef vd., 2022). Benzer şekilde Meneses vd. (2020), yağlı süt yerine farklı oranlarda yayıkaltı kullanarak dondurma üretimi gerçekleştirmiş ve örneklerde serum ayrılması görülmeyeceğini bildirmişlerdir. Yazarlar, miksteki kurumadde, özellikle de protein miktarı ile, kullanılan stabilizatör çeşidinin ve bunların aralarındaki oranın serum ayrılmasının engellenmesinde etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Farklı oranlarda yayıkaltı tozu ilave edilmiş dondurma örneklerinin hacim artış değerleri Çizelge 4'te gösterilmektedir ($P < 0.05$). Örneklerin tamamının hacim artış değerlerinin %50'nin altında olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun, üretimde kesikli tipte dondurma makinesi kullanılmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu tip dondurma makinaları ile üretilen dondurmalarda nispeten düşük hacim artış değerleri elde edildiği belirtilmektedir (Akın, 1990; Muse ve Hartel, 2004; Kumar vd., 2017). Çizelge 4'te görüldüğü gibi, örnekler içerisinde en düşük hacim artışının, yayıkaltı tozu ilave edilmeyen örnekte (A) olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, yayıkaltı tozu içeren örneklerde, emülsifiye edici rolü olan lesitin bulunmasıyla açıklanabilir. Kontrol örneği ile karşılaştırıldığında, sıvı ya da toz formunda yayıkaltı ilave edilen dondurma örneklerinde hacim artış oranının belirgin bir biçimde yüksek olduğu farklı çalışmalarda da belirtilmiştir (Pradeep, 2005; El-Kholy vd., 2014; Kumar vd., 2017; Szkolnicka vd., 2020).

Dondurmanın sertlik değeri, ürünün tüketiciler tarafından kabul edilebilirliğini yakından etkileyen bir parametredir. Bu çalışmada üretilen dondurma örneklerinin sertlik değerleri arasında istatistik

açından farklılık olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4). Örneğin içerdiği yayıkaltı tozu miktarının artması ile sertlik değerinin düştüğü tespit edilmiş, bir başka ifade ile yayıkaltı tozu miktarının artması ile daha yumuşak tekstür elde edilmiştir. Bu durum, örneklerin hacim artış değerleri ile yakından ilişkilidir. Hacim artışı daha yüksek olan örneklerde büyük hacimli sıkıştırılabilir faz, sertlik değeri ölçümünde uygulanan kuvvete daha az direnç gösterebilmekte (Hartel vd., 2003), dolayısıyla daha düşük sertlik değerleri elde edilmektedir. Benzer sonuçlar Muse

ve Hartel (2004) ile Sofjan ve Hartel (2004) tarafından da bildirilmiştir. Diğer taraftan dondurmanın yağ içeriği de sertlik değerini etkilemektedir. Farklı çalışmalarda (Guinard vd., 1997; Akbari vd., 2016), yağ içeriği ile sertlik değeri arasında negatif bir korelasyon bulunduğu, yağ içeriğindeki artışın buz kristalleri oluşumunu azaltması ile daha yumuşak bir ürün elde edilebileceği belirtilmiştir. Çizelge 3 ve Çizelge 4 incelendiğinde, deneme örneklerinde yağ içeriğinin artışıyla sertlik değerlerinin azaldığı görülmektedir.

Çizelge 4. Örneklerin kıvam indeksi (K), faz ayrılması, hacim artışı ve sertlik değerleri (n=3)
Table 4. Consistency index (K), phase separation, overrun and hardness values of the samples (n=3)

Örnekler Samples	Kıvam indeksi - K			
	(Pa.s) Consistency index - K (Pa.s)	Faz ayrılması (%) Phase separation (%)	Hacim artışı (%) Overrun (%)	Sertlik (g) Hardness (g)
A	0.37±0.00 ^b	39.67±0.33 ^a	39.93±0.31 ^c	1271.91±22.00 ^a
B	0.29±0.00 ^c	38.00±1.00 ^{ab}	42.59±2.02 ^{bc}	936.30±24.50 ^b
C	0.30±0.00 ^c	37.33±0.33 ^b	44.78±1.22 ^{abc}	767.96±27.60 ^c
D	0.41±0.01 ^a	34.33±0.33 ^c	42.68±2.05 ^{bc}	573.15±112.00 ^d
E	0.42±0.01 ^a	34.00±1.00 ^c	44.92±1.46 ^{ab}	391.19±20.20 ^d
F	0.36±0.01 ^b	32.33±0.33 ^c	48.00±1.01 ^a	202.82±18.90 ^e

A (kontrol): %0 yayıkaltı tozu, B: %5 yayıkaltı tozu, C: %10 yayıkaltı tozu, D: %20 yayıkaltı tozu, E: %30 yayıkaltı tozu, F: %40 yayıkaltı tozu

Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).

A (control): 0% buttermilk powder, B: 5% buttermilk powder, C: 10% buttermilk powder, D: 20% buttermilk powder, E: 30% buttermilk powder, F: 40% buttermilk powder

Values with the different letter within the same column are significantly different ($P < 0.05$).

Dondurma örneklerinin erime özellikleri Çizelge 5'te verilmiştir. Örneklerin ilk damlama süreleri arasında istatistik açıdan farklılık olduğu tespit edilmiş ($P < 0.05$), en fazla oranda yayıkaltı tozu içeren F örneğinin en geç erimeye başlayan örnek olduğu belirlenmiştir. Bu durum örneklerin hacim artış oranlarıyla ilişkilidir. Hacim artışı yüksek olan dondurmaların erimeye karşı daha dirençli olduğu bilinmektedir. Sofjan ve Hartel (2004) bu durumun, havanın iyi bir yalıtkan olmasından dolayı hacim artışı yüksek dondurmalarda ısı transferinin daha yavaş gerçekleşmesinden

kaynaklandığını bildirmiştir. Örneklerin yağ içerikleri, ürünün erime hızını etkileyen bir diğer önemli parametredir. Süt yağı dondurmadaki köpük yapısını stabilize etmekte, dolayısıyla süt yağı içeriği yüksek üründe erime hızı düşmektedir (Goff ve Hartel, 2013). Bu çalışmada da yayıkaltı tozu miktarının artmasıyla son ürünlerdeki yağ içeriğinin daha yüksek olduğu tespit edilmiş olup, benzer şekilde bu örneklerde daha yavaş erime görülmüştür. Ayrıca, emülgatör kullanımı ile dondurmanın daha geç erimeye başladığı çeşitli çalışmalarda belirtilmiş olup (Mayadali, 2004;

Muse ve Hartel, 2004; Güven vd., 2010), bu çalışmada da yayıkaltı tozu miktarının yüksek olduğu örneklerde lesitin miktarının artışına bağlı olarak ilk damlama süresinin uzaması beklenen bir sonuçtur. Deneme örneklerinin toplam 90 dakika içerisinde 30'ar dakika aralıklarla belirlenen erime oranları da Çizelge 5'te yer almaktadır. Söz konusu

nitelik bakımından örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($P > 0.05$). Benzer şekilde, Meneses vd. (2020) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, dondurma örneklerinin erime oranlarının yayıkaltı kullanımından etkilenmediği bildirilmiştir.

Çizelge 5. Örneklerin ilk damlama zamanları ve erime oranları (n=3)

Table 5. First dripping times and melting rates of the samples (n=3)

Örnekler Samples	İlk damlama zamanı (dk) First dripping times (min)	Erime oranı (%) Melting rate (%)		
		30. dk 30. min	60. dk 60. min	90. dk 90. min
A	15.33±0.88 ^b	2.70±0.46	38.26±3.88	77.89±6.12
B	17.00±1.00 ^{ab}	2.55±0.31	37.68±4.42	82.87±5.02
C	12.33±0.33 ^c	2.62±0.37	36.51±2.91	83.02±6.27
D	14.33±1.20 ^{bc}	3.15±0.35	40.78±2.24	87.41±4.14
E	14.33±0.33 ^{bc}	2.58±0.50	38.36±7.19	90.45±3.76
F	18.67±1.20 ^a	2.58±0.35	37.75±4.55	88.75±4.56

A (kontrol): %0 yayıkaltı tozu, B: %5 yayıkaltı tozu, C: %10 yayıkaltı tozu, D: %20 yayıkaltı tozu, E: %30 yayıkaltı tozu, F: %40 yayıkaltı tozu

Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).

A (control): 0% buttermilk powder, B: 5% buttermilk powder, C: 10% buttermilk powder, D: 20% buttermilk powder, E: 30% buttermilk powder, F: 40% buttermilk powder

Values with the different letter within the same column are significantly different ($P < 0.05$).

Dondurma örneklerinin renk değerleri (L^* , a^* , b^*) arasında istatistik açıdan farklılık olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$) (Şekil 1). Parlaklığı ifade eden L^* değerleri incelendiğinde, en yüksek değeri yayıkaltı tozu ilave edilmeyen A örneğinin almış olduğu, bir başka ifade ile bu örneğin en parlak örnek olduğu görülmektedir. Benzer şekilde, farklı protein, serum proteini konsantratları veya çeşitli lifler kullanılarak üretilen dondurmalarda, kontrol örneğinin parlaklığının daha yüksek olduğu farklı çalışmalarda da belirtilmiştir (Akalin vd., 2008; Crizel vd., 2013; Kahveci, 2016). Kırmızılık (+) ve yeşillik (-) ifade eden a^* değerleri ile, sarılık (+) ve mavilik (-) ifade eden b^* değerleri incelendiğinde, yeşile ve sarıya en yakın örneğin, beklendiği gibi en yüksek oranda yayıkaltı tozu (%40) içeren F örneği olduğu görülmektedir. Bu durumun

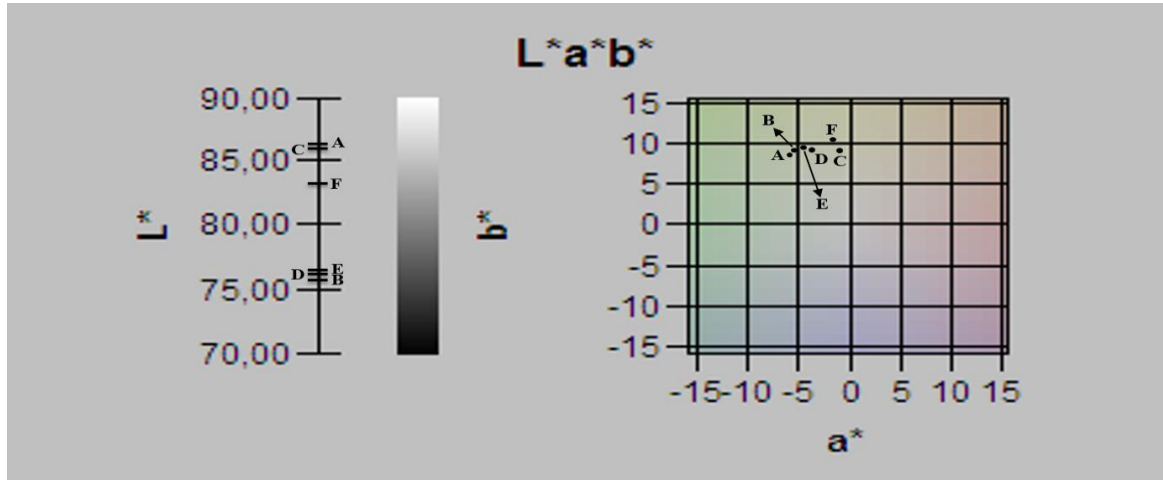
yayıkaltı tozunun yeşilimsi-sarı renkte olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yayıkaltı tozu ilaveli dondurma örneklerinin deneyimli panelistler tarafından gerçekleştirilen duyu analizi sonuçları Çizelge 6'da gösterilmektedir. Örnekler arasında, görünüş ve lezzet özellikleri açısından istatistik olarak farklılık olduğu tespit edilmiş ($P < 0.05$) olup, yapı özelliği bakımından ise herhangi bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$).

Yayıkaltı tozu içermeyen A örneği, panelistlerden görünüş ve lezzet özellikleri açısından en yüksek puanı almıştır. Çizelgeden lezzet özellikleri incelendiğinde, örneklerdeki yayıkaltı tozu içeriğinin artması ile ürünün panelistlerden bu özellik açısından aldığı puanın giderek düştüğü

görülmektedir. Panelistler, özellikle %30 ve %40 oranında yayıkaltı tozu içeren E ve F örneklerinin, lezzet özelliği açısından “tüketilebilir” nitelikte olmadığını bildirmişlerdir. Yine panelistler, bu örneklerde kullanılan yüksek orandaki yayıkaltı tozunun, üründe “yağlılık” hissini artırdığını,

ayrıca üründe tuzlu ve acı tadın hakim olduğunu belirtmişlerdir. Benzer bir çalışmada (Pradeep, 2005), dondurma üretiminde yayıkaltı tozu kullanımının ürünün lezzet ve toplam kabul edilebilirlik bakımından daha düşük puan almasına sebep olduğu bildirilmiştir.



Şekil 1. Örneklerin renk (L*, a*, b*) değerleri (n=3)

Figure 1. Color (L*, a*, b*) values of the samples (n=3)

A (kontrol): %0 yayıkaltı tozu, B: %5 yayıkaltı tozu, C: %10 yayıkaltı tozu, D: %20 yayıkaltı tozu, E: %30 yayıkaltı tozu, F: %40 yayıkaltı tozu

Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).

A (control): 0% buttermilk powder, B: 5% buttermilk powder, C: 10% buttermilk powder, D: 20% buttermilk powder, E: 30% buttermilk powder, F: 40% buttermilk powder

Values with the different letter within the same column are significantly different ($P < 0.05$).

Çizelge 6. Örneklerin görünüş, kıvam ve lezzet özellikleri (n=3)

Table 6. Appearance, texture and flavor properties of the samples (n=3)

Örnekler Samples	Görünüş Appearance	Yapı Texture	Lezzet Flavor
A	9.67±0.33 ^a	9.33±0.33	8.33±0.33 ^a
B	9.00±0.00 ^a	8.67±0.33	9.00±0.00 ^{ab}
C	9.00±0.00 ^a	8.00±0.58	8.00±0.00 ^{abc}
D	9.00±0.00 ^a	8.33±0.33	7.00±0.00 ^{bcd}
E	8.33±0.33 ^b	8.67±0.33	6.00±0.00 ^{cd}
F	9.00±0.00 ^a	8.00±0.00	5.00±0.58 ^d

A (kontrol): %0 yayıkaltı tozu, B: %5 yayıkaltı tozu, C: %10 yayıkaltı tozu, D: %20 yayıkaltı tozu, E: %30 yayıkaltı tozu, F: %40 yayıkaltı tozu

Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).

A (control): 0% buttermilk powder, B: 5% buttermilk powder, C: 10% buttermilk powder, D: 20% buttermilk powder, E: 30% buttermilk powder, F: 40% buttermilk powder

Values with the different letter within the same column are significantly different ($P < 0.05$).

SONUÇ

Bu çalışmada, bir süt yan ürünü olan yayıkaltı tozu, farklı oranlarda (yağsız süttozu miktarının %5, %10, %20, %30 ve % 40'ı) kullanılarak dondurma üretimi gerçekleştirilmiştir. Olgunlaştırılmış miksellerin genel bileşim, faz ayrılması ve kıvam indeksi özellikleri, son ürünün ise sertlik değerleri ile hacim artışı, erime, renk ve duysal özellikleri belirlenmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre, yayıkaltı tozu ilavesinin miksellerin titrasyon asitliği, pH değeri ve kurumadde içeriklerini etkilemediği, kıvam indeksi ile yağ ve kül içeriklerini artırdığı, faz ayrılmasını ise azalttığı tespit edilmiştir. Mikse ilave edilen yayıkaltı tozu miktarının artması ile örneklerde daha yüksek hacim artışı sağlandığı, sertlik değerlerinin düştüğü ve muhtemelen yayıkaltı tozunun sarımsı-yeşilimsi renginden dolayı b* değerlerinde bir artış olduğu belirlenmiştir. Örneklerin 30., 60. ve 90. dakikalardaki erime oranları arasında farklılık görülmezken, yayıkaltı tozu miktarının artması ile dondurmaların ilk damlama sürelerinin uzadığı tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen duysal analiz sonuçlarına göre, yayıkaltı tozu miktarı en yüksek iki örnek, lezzet özelliği bakımından panelistlerden daha düşük puanlar almıştır. İncelenen bütün özellikler dikkate alındığında, özellikle de duysal analiz sonuçları göz önünde bulundurulduğunda, %5, %10 ve %20 oranında yayıkaltı tozu ilaveli B, C ve D örneklerinin kabul edilebilir niteliklere sahip örnekler olduğunu söylemek mümkündür.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların makale ile ilgili herhangi bir kişi veya kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZARLARIN KATKISI

Bu çalışma Esin Doğan Özsungur'un yüksek lisans tezinin sonuçlarından hazırlanmıştır. Esin Doğan Özsungur, çalışmada gerçekleştirilen üretim ve analizlerde görev almıştır. Nazlı Kanca, üretim, analizler, sonuçların yorumlanması ile makalenin yazımına katkı sağlamıştır. Ayşe Gürsoy, çalışmanın planlanması ve yürütülmesi süreci ile sonuçların değerlendirilmesi ve makalenin yazımında katkıda bulunmuştur.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 17L0447016 kodlu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Ahn, Y., Ganesan, P., Kwak, H. (2011). Composition, structure, and bioactive components in milk fat globule membrane. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 31(1): 1-8. doi: 10.5851/kosfa.2011.31.1.001.

Akalın, A.S., Karagözlü, C., Ünal, G. (2008). Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate and inulin. *European Food Research and Technology*, 227(3): 889-895. doi: 10.1007/s00217-007-0800-z.

Akbari, M., Eskandari, M.H., Niakosari, M. (2016). The effect of inulin on the physicochemical properties and sensory attributes of low-fat ice cream. *International Dairy Journal*, 57: 52-55. doi: 10.1016/j.idairyj.2016.02.040.

Akın, M.S. (1990). İnek, keçi ve koyun sütlerinden üretilen dondurmaların kimyasal, fiziksel ve duysal özelliklerinin saptanması üzerine karşılaştırmalı bir araştırma. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 91 s.

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

AOAC (2013). Official Method 941.08 Total Solids in Ice Cream and Frozen Desserts. Washington DC, the USA.

Arslan, G. (2011). Gıda katkı maddeleri ve yeni yapılan dioksimlerin gıda katkı maddesi olarak kullanılabilirliğinin araştırılması. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 278 s.

Atamer, M. (2016). *Tereyağı teknolojisi*. 1inci Basım, Sidas Medya, İzmir, Türkiye, 184 s. ISBN: 978-6055267346.

- Atsan, E., Çağlar, A. (2008). Farklı stabilizör kullanımının dondurmanın bazı fiziksel ve duyuşsal özellikleri üzerine etkisi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39(2): 195-200.
- Bachmann, H.P. (2001). Cheese analogues: A review. *International Dairy Journal*, 11(4-7): 505-515. doi: 10.1016/S0958-6946(01)00073-5.
- Bilgin, B., Dağlıoğlu, O., Konyalı, M. (2006). Functionality of bread made with pasteurized whey and/or butter. *Italian Journal of Food Science*, 3(18): 277-286.
- Caric, M. (1994). *Concentrated and dried dairy products*. 1st Edition, VCH Publications, New York, the USA, 249 p.
- Castro-Gómez, P., Rodríguez-Alcalá, L.M., Monteiro, K.M., Ruiz, A.L., Carvalho, J.E., Fontecha, J. (2016). Antiproliferative activity of buttermilk lipid fractions isolated using food grade and non-food grade solvents on human cancer cell lines. *Food Chemistry*, 1(212): 695-702. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.06.030.
- Corredig, M., Dalgleish, D.G. (1998). Buttermilk properties in emulsions with soybean oil as affected by fat globule membrane-derived proteins. *Journal of Food Science*, 63(3): 476-480.
- Corredig, M., Roesch, R.R., Dalgleish, D.G. (2003). Production of a novel ingredient from buttermilk. *Journal of Dairy Science*, 86(1): 2744-2750. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73870-3.
- Crizel, T.D.M., Jablonski, A., Rios, A.D.O., Rech, R., Flores, S.H. (2013). Dietary fiber from orange by products as a potential fat replacer. *LWT - Food Science and Technology*, 53(1): 9-14, doi: 10.1016/j.lwt.2013.02.002.
- Dewettinck, K., Rombaut, R., Thienpont, N., Le, T.T., Messens, K., Camp, J.V. (2008). Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material. *International Dairy Journal*, 18(5): 436-457, doi: 10.1016/j.idairyj.2007.10.014.
- Elkashef, H., Mobdy, A.A., Hassan, A. (2022). Texture, microstructure, and antioxidant characteristics of bio-fermented milk fortified with buttermilk nano-powder. *International Dairy Journal*, 126: 105248. doi: 10.1016/j.idairyj.2021.105248.
- El-Kholy, A.M., El-Nour, A.M.A., El-Safty, M.S., Mokbel, S.M. (2014). Utilization of buttermilk in low fat ice cream making. *Ismailia Journal of Dairy Science & Technology*, 1: 11-18.
- Gallier, S., Gragson, D., Jimenez-Flores, R., Everett, D.W. (2012). β -casein-phospholipid monolayers as model systems to understand lipid-protein interactions in the milk fat globule membrane. *International Dairy Journal*, 22: 58-65. doi: 10.1016/j.idairyj.2011.08.007.
- Goff, H.D., Hartel, R.W. (2013). *Ice cream*. 7th Edition, Springer Science+Business Media, New York, the USA, 462 p. ISBN: 978-1461460954.
- Govindasamay-Lucey, S., Lin, T., Jaeggi, J.J., Martinelli, C.J., Johnson, M.E., Lucey, J.A. (2006). Effect of type of concentrated sweet cream buttermilk on the manufacture, yield, and functionality of pizza cheese. *Journal of Dairy Science*, 90: 2675-2688. doi: 10.3168/jds.2006-681.
- Guinard, J.X., Zoumas-Morse, C., Mori, L., Uatoni, B., Panyam, D., Kilara, A. (1997). Sugar and fat effects on sensory properties of ice cream. *Journal of Food Science*, 62(5): 1087-1094.
- Güven, M., Berkay Karaca, O., Yaşar, K. (2010). Düşük yağ oranlı Kahramanmaraş tipi dondurma üretiminde farklı emülgatörlerin kullanımının dondurmaların özellikleri üzerine etkileri. *GIDA*, 35(2): 97-104.
- Hartel, W.R., Muse, M., Sofjan, R. (2003). Effect of structural attributes on hardness and melting rate of ice cream. IDF International Symposium on Ice Cream, 14-16 Mayıs 2003, Selanik, Yunanistan, 417 s.
- Hickey, C.D., O'Sullivan, M.G., Davis, J., Scholz, D., Kilcawley, K.N., Wilkinson, M.G., Sheehan, J.J. (2018). The effect of buttermilk or buttermilk powder addition on functionality, textural, sensory and volatile characteristics of Cheddar-style cheese. *Food Research International*, 103: 468-477. doi: 10.1016/j.foodres.2017.09.081.
- Jinjarak, S., Olabi, A., Jimenez-Flores, R., Sodini, I., Walker, J.H. (2006). Sensory evaluation of whey and sweet cream buttermilk. *Journal of Dairy Science*, 1(89): 2441-2450. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72317-7.

- Kahveci, A. (2016). dondurma üretiminde balkabağından elde edilen lif konsantresinin kullanılması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 104 s.
- Kumar, D., Rai, D.C., Alam, T., Sawant, P. (2017). Effect of dried chicory root extract on sensory and physical characteristics of yoghurt-ice cream with addition of buttermilk using response surface methodology. *Research & Reviews: Journal of Food and Dairy Technology*, 5(1): 16-25.
- Madenci, A.B., Aktaş, K., Türker, S. (2013). Yayıktaltının sağlıklı beslenme açısından önemi ve fırıncılık ürünlerinde kullanımı. Uluslararası 2. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, 7-10 Kasım 2013, Konya, Türkiye, 709 s.
- Mayadalı, Y. (2004). Farklı oranda emülgatör ve stabilizatör kullanımının enerjisi azaltılmış dondurma niteliklerine etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 52 s.
- Meilgaard, M., Civille, G.V., Carr, T. (1999). *Sensory evaluation techniques*. 2nd Edition, CRC Press, Boca Raton, the USA, 354 p.
- Méndez-Velasco, C., Goff, H.D. (2012). Fat structures as affected by unsaturated or saturated monoglyceride and their effect on ice cream structure, texture and stability. *International Dairy Journal*, 24(1): 33-39. doi: 10.1016/j.idairyj.2011.11.009.
- Meneses, R.B., Silva, M.S., Monteiro, M.L.G., Rocha-Leao, M.H.M., Conte-Junior, C.A. (2020). Effect of dairy by-products as milk replacers on quality attributes of ice cream. *Journal of Dairy Science*, 103: 10022-10035. doi: 10.3168/jds.2020-18330.
- Morin, P., Britten, M., Jiménez-Flores, R., Pouliot, Y. (2007). Microfiltration of buttermilk and washed cream buttermilk for concentration of milk fat globule membrane components. *Journal of Dairy Science*, 90(5): 2132-2140. doi: 10.3168/jds.2006-832.
- Muse, M.R., Hartel, R.W. (2004). Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. *Journal of Dairy Science*, 87(1): 1-10, doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73135-5.
- Poduval, V.S., Mistry, V.V. (1999). Manufacture of reduced fat mozzarella cheese using ultrafiltered sweet buttermilk and homogenized cream. *Journal of Dairy Science*, 82(1): 1-9. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75202-1.
- Pradeep, G. (2005). Utilization of buttermilk powder and soybean products for the manufacture of ice cream., Master Thesis, Acharya N.G.Ranga Agricultural University, Hyderabad, India, 79 p.
- Rodriguez-Alcala, L.M., Fontecha, J. (2010). Major lipid classes separation of buttermilk, and cows, goats and ewes milk by high performance liquid chromatography with an evaporative light scattering detector focused on the phospholipid fraction. *Journal of Chromatography A*, 1217: 3063-3066. doi:10.1016/j.chroma.2010.02.073.
- Romeih, E.A., Abdel-Hamid, M., Awad, A.A. (2014). The addition of buttermilk powder and transglutaminase improves textural and organoleptic properties of fat-free buffalo yoğurt. *Dairy Science & Technology*, 94: 297-309. doi: 10.1007/s13594-014-0163-8.
- Sharma, A., Jana, A.H., Chavan, R.S. (2012). Functionality of milk powders and milk-based powders for end use applications-A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11: 518-528. doi: 10.1111/j.1541-4337.2012.00199.x.
- Shibu, A.V., Kumar, C.N., Narasimhan, R., Pugazhenth, T.R. (2000). Substitution of buttermilk powder in ice cream. *Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 31, 25-27.
- Smith, K. (2008). Dried dairy ingredients. Wisconsin Center for Dairy Research, the USA. <https://www.scribd.com/document/239816346/Dried-Dairy-Ingredients> (Accessed: 19 January 2022).
- Sodini, I., Morin, P., Olabi, A., Jimenez-Flores, R. (2006). Compositional and functional properties of buttermilk: A comparison between sweet, sour, and whey buttermilk. *Journal of Dairy Science*, 89(2):

- 525-536. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72115-4.
- Sofjan, R.P., Hartel, R.W. (2004). Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. *International Dairy Journal*, 14(3): 255-262. doi: 10.1016/j.idairyj.2003.08.005.
- Spitsberg, V.L. (2005). Bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. *Journal of Dairy Science*, 88: 2289-2294.
- Svanborg, S., Johansen, A.G., Abrahamsen, R.K., Skeie, S.B. (2015). The composition and functional properties of whey protein concentrates produced from buttermilk are comparable with those of whey protein concentrates produced from skimmed milk. *Journal of Dairy Science*, 98(9): 5829-5840. doi: 10.3168/jds.2014-9039.
- Szkolnicka, K., Dmytrow, I., Mituniewicz-Malek, A. (2020). Buttermilk ice cream-New method for buttermilk utilization. *Food Science & Nutrition*, 8: 1461-1470. doi: 10.1002/fsn3.1429.
- Thomas, E.L., Combs, W.B. (1944). Observations on the use of roller process sweet cream buttermilk powder in ice cream. *Journal of Dairy Science*, 27(6): 419-432. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(44)92618-4.
- Trachoo, N., Mistry, V.V. (1998). Application of ultrafiltered sweet buttermilk and sweet buttermilk powder in the manufacture of nonfat and low fat yogurts. *Journal of Dairy Science*, 81(12): 3163-3171. doi: 10.3168/JDS.S0022-0302(98)75882-5.
- Vanderghem, C., Bodson, P., Danthine, S., Paquot, M., Deroane, C., Blecker, C. (2010). Milk fat globule membrane and buttermilks: From composition to valorization. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 14(3): 485-500.
- Vega, C., Goff, H.D. (2005). Phase separation in soft-serve ice cream mixes: rheology and microstructure. *International Dairy Journal*, 15: 249-254. doi: 10.1016/j.idairyj.2004.07.007.
- Wong, P.Y.Y., Kitts, D.D. (2003a). A comparison of the buttermilk solids functional properties to nonfat dried milk, soy protein isolate, dried egg white, and egg yolk powders. *Journal of Dairy Science*, 86: 746-754.
- Wong, P.Y.Y., Kitts, D.D. (2003b). Chemistry of buttermilk solid antioxidant activity. *Journal of Dairy Science*, 86: 1541-1547.
- Zhao, L., Feng, R., Mao, X. (2019). Addition of buttermilk powder improved the rheological and storage properties of low-fat yogurt. *Food Science & Nutrition*, 8: 3061-3069. doi: 10.1002/fsn3.1373.



KOVANDAKİ GİZLİ MUCİZE: ARI POLENİ VE ARI EKMEĞİ İLE GIDALARIN ZENGİNLEŞTİRİLMESİ

Emine Nakilcioğlu¹, Eda Nurko^{2*}

¹Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 30.03.2022; Kabul / Accepted: 27.06.2022; Online baskı / Published online: 16.07.2022

Nakilcioğlu, E., Nurko, E. (2022). Kovandaki gizli mucize: Arı poleni ve arı ekmeği ile gıdaların zenginleştirilmesi. *GIDA* (2022) 47 (4) 604-615 doi: 10.15237/ gida.GD22044

Nakilcioğlu, E., Nurko, E. (2022). *The hidden miracle in the hive: Foods enriched with bee pollen and bee bread. GIDA* (2022) 47 (4) 604-615 doi: 10.15237/ gida.GD22044

ÖZ

Tarih boyunca çeşitli alanlarda kullanılan arı ürünleri, zengin besin içeriğine ve biyoaktif özelliklere sahiptir. Arı ürünleri, hastalıkların tedavisinde önemli rol oynamaktadır. Arı ürünlerinden olan arı poleni, tohumlu bitkilerin üreme hücresidir. Arı ekmeği ise doğal olarak korunmuş ve arıların salgılarıyla fermente edilmiş polendir. Yüksek besin içeriğine ve antioksidan özelliklere sahip olan arı poleni ve arı ekmeği, sağlığa faydalı etkileriyle tüketiciler tarafından ilgi görmektedir. Fonksiyonel özellikteki arı poleni ve arı ekmeği ile zenginleştirilmiş gıda matrislerinin, hem lezzet hem de duyu özellikler bakımından kabul edilebilir düzeyde olması gerekmektedir. Bu çalışmada, arı ürünlerinden birisi olan arı poleni ve arı ekmeği (perga) ile zenginleştirilmiş gıda ürünleriyle ilgili çalışmalar irdelenmiştir. Sonuç olarak yapılan literatür taraması sonucunda arı poleni ve arı ekmeği ile zenginleştirilmiş gıda ürünlerinin zengin besin içeriğine sahip olduğu ve bu ürünlerin antioksidan kapasitelerinde artış meydana geldiği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Arı ekmeği (perga), arı poleni, arıcılık ürünleri, fonksiyonel gıda, zenginleştirme

THE HIDDEN MIRACLE IN THE HIVE: FOODS ENRICHED WITH BEE POLLEN AND BEE BREAD

ABSTRACT

Bee products, which have been used in various fields throughout history, have rich nutritional content and bioactive properties. Bee products play an important role in treatment of diseases. Bee pollen, one of the bee products, is the reproductive cell of seed plants. Bee bread is pollen that is naturally preserved, fermented with the secretions of bees. Bee pollen and bee bread, which have high nutritional content and antioxidant properties, are of interest to consumers with their beneficial effects on health. Food matrices enriched with functional bee pollen and bee bread should be at an acceptable level in terms of both flavor and sensory properties. In this study, studies on food products enriched with bee pollen and bee bread (perga) were examined. In the review, it was seen that food products enriched with bee pollen and bee bread have rich nutritional content, an increase in the antioxidant capacity of these products.

Keywords: Bee bread (perga), bee pollen, beekeeping products, functional food, enrichment

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: nurkoeda.ege@gmail.com

☎: (+90) 232 311 3050

☎: (+90) 232 342 7592

Emine Nakilcioğlu; ORCID no: 0000-0003-4334-2900

Eda Nurko; ORCID no: 0000-0001-9598-7407

GİRİŞ

Eski çağlardan beri insanlar tarafından çeşitli alanlarda kullanılan arı ürünleri, beslenme alanında ve hastalıkların tedavisinde önemli rol oynamaktadır (Dadalı ve Elmacı, 2021). Arı ürünleri insan beslenmesinin değerli bileşenlerini içermektedir. Önleyici ve tedavi edici özellikleri bulunmaktadır. Çeşitli biyoaktif bileşikler açısından da zengin kaynaklardır (Juszczak vd., 2018). Yüzyıllar boyunca halk tıbbında kullanılmasının yanı sıra gıda ürünü olarak da kullanılmıştır (Silici, 2015). Arı ürünlerinin, sağlığa faydalı gıda bileşenleri ve fonksiyonel gıdaların bileşenleri olarak kullanılmasına olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır (Juszczak vd., 2018).

Türkiye, ekolojik ve coğrafik yapısı ile arıcılık faaliyetleri için oldukça elverişlidir (Altıntaş ve Bektaş, 2019). Ülkemizde arıcılık denildiğinde aklımıza öncelikle bal gelmektedir. Ancak arıcılıktan sağlanan polen, arı sütü, arı zehiri, bal mumu, propolis gibi farklı ürünler de bulunmaktadır (Silici, 2015). Bal, arı poleni, arı ekmeği ve propolis arıların bitkisel kaynakları kullanarak ürettikleri arı ürünleri iken; arı sütü, bal mumu, arı zehiri ve apilarnil ise arının vücut salgılarından veya doğrudan kendisi kullanılarak elde edilen ürünlerdir (Dadalı ve Elmacı, 2021).

Sağlıklı yaşamı destekleyen arı ürünlerinin tedavi amaçlı kullanılması, “apiterapi” olarak adlandırılmaktadır (Ekici ve Gölgeli, 2021). Günümüzde alternatif tıbbın önem kazanmaya başlaması ile birlikte apiterapiye olan ilgi de artmıştır (Altıntaş ve Bektaş, 2019). Yüzyıllardır var olan bal arılarının önemi, ürettikleri arıcılık ürünlerinin biyolojik özellikleri ve kimyasal özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Onbaşı, 2019). Arı ürünlerinden olan arı poleni ve arı ekmeği (perga), arı ürünleri arasında çok önemli bir yere sahiptir. Alternatif tıp alanında fonksiyonel gıda olarak, yeni ürünlerin geliştirilmesi ve iyileştirilmesinde kullanılmaktadır (Dadalı ve Elmacı, 2021).

Son zamanlarda doğal ürünlere, özellikle de arı ürünlerine artan bir talep vardır. Arı poleni ve arı ekmeği, besleyici ve tıbbi özellikleri nedeniyle farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Farklı bitki

türlerinden olan polenlerin, farklı biyolojik aktivitelere sahip 250'den fazla madde içerdiği belirlenmiştir (Ertosun, 2020). Kaynağına göre farklı renklerde olan polenlerin besin içeriği ve biyoaktif özellikleri, toplandığı bölgenin coğrafik yapısına, iklimine, bitki örtüsüne, uygulanan işlemlere, depolama koşullarına göre farklılıklar göstermektedir (Uçar vd., 2018).

Tohumlu bitkilerin üreme hücresi olan polen, yüksek protein içeriğine sahiptir. Aynı zamanda, bal arılarının beslenmesinde, sindirim sistemlerinin gelişmesinde ve yavru gelişiminde önemli rol oynamaktadır (Mayda vd., 2019). Polenler, rüzgâr veya böcekler tarafından taşınır; buna “tozlaşma” adı verilir (Ertosun, 2020). Bitki polenleri, bal arıları tarafından çiçeklerden toplanır (Bakkaloğlu, 2021). Arıların arka bacaklarında, tükürük veya nektarla nemlendirilen polenler biriktirilir (Bakkaloğlu, 2021; Habryka vd., 2021). Arıların tükürük enzimleriyle zenginleştirilen küçük tanelere, “arı poleni” denilmektedir (Dundar, 2021). Arı poleni, arıların tek protein kaynağı olması nedeniyle arı kolonisinin hayatta kalması açısından arılar ve beslenmeleri için oldukça önemlidir (Ertosun, 2020).

Polenin koruyucu tabakalarından biri olan eksin tabakası, çok karmaşık bir yapıya sahiptir ve gıda olarak tüketildiğinde sindirimi zordur. Eksin tabakası karbonhidratlar, glikoproteinler, proteinler, lipidler, terpenoidler, uzun zincirli alifatik ve fenolik maddelerden oluşur. Aynı zamanda uçucu bileşikler, pigmentler, fenolik maddeler ve flavonoidler gibi ikincil ürünler için depolama alanı sağlar (Dadalı ve Elmacı, 2021). Laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* bakterilerini de içeren arı poleni, probiyotik olarak da kullanılmaktadır (Uçar vd., 2018). Tarihin en eski besin takviyelerinden biri olan arı poleni, hemen hemen tüm besleyici bileşenleri içerir. Bu nedenle dünyanın en iyi gıdası olarak tanımlanmıştır (Dundar, 2021).

Arı ekmeği ise, hasat sırasında kovanın kısmen tahrip olması nedeniyle bu ürünü toplamayan birçok arıcı tarafından kovanın keşfedilmemiş bir ürünü olmuştur. Ancak arı ekmeği, son yıllarda

popüler hale gelmiş ve üretimi son derece önem kazanmıştır (Bakour vd., 2019). Aynı zamanda arı ekmeği, fermente edilmiş ve doğal olarak korunmuş polendir (Dozuotu ve Kürımas, 2015). Arı ekmeği, özellikle arı sütü üreten larvalar ve genç arılar için kovandaki ana besindir. Kovanda arı beslenmesi nektar ve polen gibi iki farklı bitkisel kaynakla sağlanır. Nektar, kovanda bal haline getirilerek arılara karbonhidrat kaynağına, çiçeklerden gelen polenler ise arılara karbonhidrat, protein, yağ, mineraller ve vitaminler gibi gerekli besin maddelerini sağlayan arı ekmeğine dönüştürülür (Bakour vd., 2019). Arı poleninın petekte depolanması sırasında, bal ve sindirim enzimleri eklenir. Daha sonra balmumu ile kapatılır ve laktik asidin fermantasyonu ile başlar (Mărgăoan vd., 2019; Mayda vd., 2020). Diğer fermente ürünlerde olduğu gibi, işlem tamamlandığında yüksek miktarda laktik asit ve diğer metabolitler, arı ekmeğini mikroorganizmalar tarafından bozulmaya karşı korur. Arı ekmeği ile arı poleni kıyaslandığında, laktik asit nedeniyle arı ekmeği daha yüksek asitliğe sahiptir ve yüksek miktarda K vitamini içerir (Vásquez ve Olofsson, 2009). Aynı zamanda arı ekmeği, fenolik bileşikler, α -tokoferol ve koenzim Q₁₀ gibi antioksidan bileşikler açısından iyi bir kaynaktır (Bakour vd., 2019).

Son yıllarda çok sayıda bilimsel araştırma günlük diyet planlarının yaşam tarzları, yetersiz beslenme ve hareketsiz davranışla ilgili olarak sağlık-hastalık ilişkisi üzerinde belirli etkileri olduğunu iddia etmektedir. Endüstrileşmiş dünya, hastalıkları önlemek ve sağlığı korumak için besinler veya biyoaktif bileşikler içeren bir beslenme modelinin benimsenmesine ihtiyaç duymaktadır (Camacho-Bernal vd., 2021). Son yıllarda popüler olan fonksiyonel gıdalar, yüksek besin içeriği ve sağlığa olumlu etkileriyle tercih edilmektedir (Mehmetoğlu vd., 2017). Artan tüketici talebiyle birlikte yeni fonksiyonel gıdalar üretmek, işlenmiş gıdalarda mikro besinler ve sağlığı geliştirici bileşikler sağlamak için bir seçenektir (Camacho-Bernal vd., 2021). Bu yaklaşım, gıda endüstrisinde arıcılık ürünlerinin özelliklerinden yararlanma konusunda ilgi uyandırmıştır. Bu çalışmanın amacı, arıcılık ürünlerinden olan arı poleni ve arı

ekmeği ile zenginleştirilmiş yeni gıda ürünlerini incelemektir.

ARI POLENİNİN BİYOKİMYASAL BİLEŞİMİ VE SAĞLIK ETKİLERİ

Arı poleni, %13-55 arasında karbonhidrat, %10-40 arasında protein, %1-13 arasında lipit, %0.3-20 arasında ham lif ve %2-6 arasında kül içermektedir (Thakur ve Nanda, 2020). Ayrıca hidrokarbonlar, organik asitler, vitaminler, steroller, aroma vericiler, flavonoidler, yüksek alkoller, fosfatidler, fenolik ve diğer biyoaktif maddeleri içermektedir (Lomova vd., 2014).

Yüksek protein kaynağı olan arı poleni içeriğindeki ortalama protein yüzdesi, triptofan, fenilalanin, metionin, lösin, lizin, treonin, histidin, izolösin ve valin gibi hayati amino asitlerden oluşmaktadır. Bu amino asitler vücudumuzda sentezlenmezler, ancak optimal büyüme ve sağlıkta önemli bir rol oynamaktadır (Khalifa vd., 2021).

B₁₂ ve K vitamini hariç bütün vitaminleri barındıran arı poleni, kateşin, rutin, kemferol, kersetin, kafeik asit gibi birçok flavonoidi de yapısında barındırmaktadır. Aynı zamanda, potasyum, kalsiyum, magnezyum, fosfor, demir, sodyum, çinko, bakır, selenyum gibi elementleri içermektedir (Uçar vd., 2018). Bu metabolitlere sahip olan arı poleni, tedavi edici ve önleyici olarak çeşitli aktiviteler gösterebilmektedir (Lomova vd., 2014; Sukhov ve Giro, 2021).

Antimikrobiyal, antioksidan, antikarsinojenik, antifungal, antiinflamatuar, antianemi, antidiyaretik, probiyotik ve daha birçok aktivitesi bulunan arı poleni, sağlıklı bir yiyecek olarak kabul edilmektedir (Uçar vd., 2018; Sorucu, 2019; Sig, 2019). Ek olarak, prostat problemleri, solunum hastalıkları, alerjiler, kemik erimesi ve ülser gibi hastalıklardan korunmak için destekleyici olarak kullanılmaktadır (Uçar vd., 2018; Karlıdağ ve Keskin, 2020). Karaciğer, böbrek ve tiroid bezleri için de faydalı olan arı poleni gençleştirici, hücre yenileyici etkiye de sahiptir (Karlıdağ ve Keskin, 2020; Sukhov ve Giro, 2021).

ARI EKMEĞİNİN BİYOKİMYASAL BİLEŞİMİ VE SAĞLIK ETKİLERİ

Arı tükürüğü, bitki poleni ve nektardan oluşan karamel rengindeki arı ekmeği, sadece insanlar için değil arılar için de çok önemlidir (Khalifa vd., 2020; Kieliszek vd., 2018). Fermente arı poleni olarak da bilinen arı ekmeği, gözeneklerde depolanan polenin yaklaşık 2 hafta fermente olmasıyla oluşur. Fermantasyon ile birlikte gerçekleşen biyokimyasal dönüşümlere rağmen fenolik bileşiklerde değişiklik olmamaktadır (Kieliszek vd., 2018; Parlakpınar ve Polat, 2021). Buna rağmen arı ekmeği, polenden daha yüksek besin değeri, daha iyi sindirilebilirlik ve daha zengin kimyasal bileşim ile karakterize edilmektedir (Kieliszek vd., 2018). Taze polene göre daha fazla şeker içerirken, daha az miktarda nişasta içermektedir. Arı ekmeği aynı zamanda, arı poleninde bulunmayan B vitaminleri bakımından da zengindir (Parlakpınar ve Polat, 2021). Polene göre aminoasit içeriği daha zengindir ve bu aminoasitler kolayca sindirilebilmektedir (Ekici ve Gölgeli, 2021). Polen dış kabuğu midede sindirilemezken, arı ekmeğinde polen dış kabuğu arının enzimleriyle bekletildiğinden dolayı kolaylıkla sindirilebilmektedir (Arıgül Apan vd., 2021).

Arı sütü üreten larvalar ve genç işçi arılar olmak üzere kovan için ana besin olan arı ekmeği proteinler, vitaminler, polifenoller ve biyoaktif bileşiklerin önemli bir kaynağıdır (Dranca vd., 2020). Arı ekmeği, yaklaşık %35 şeker, %24-35 oranında karbonhidrat, %20-22 oranında protein, %3.5 oranında laktik asit, %2.43 oranında mineral, %1.6 oranında lipit içermektedir (Parlakpınar ve Polat, 2021). Temel olarak A, B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₂, C, P, E, D, K, H vitaminlerini; Ca, Fe, P, S, Cl, K, Na, Mg, Cu, Zn, Co, Mo, Se, Cr, Si ve Ni minerallerini ve insan vücudu tarafından sentezlenemeyen triptofan, lösin, fenilalanin, valin, arginin izolösin, metiyonin, histidin, lizin, treonin gibi esansiyel aminoasitleri içermektedir (Arıgül Apan vd., 2021). Aynı zamanda, arı ekmeği, kemferol, p-kumarik asit ve izorhamnetin, apigenin, chrysin, naringenin, kafeik asit, kersetin, ferulik asit ve gallik asitlerce zengin bir polifenol kaynağıdır (Dranca vd., 2020).

Bileşimindeki maddeler açısından fonksiyonel bir ürün olan arı ekmeği, antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, antiaritmik, antibiyotik, antiinflamatuvar ve antikanser özelliklere sahiptir (Khalifa vd., 2020; Ekici ve Gölgeli, 2021). Karaciğer ve sinir sistemi üzerine olumlu etkileri olan arı ekmeği, organizmadan çeşitli toksinlerin atılmasına da yardımcı olmaktadır (Kieliszek vd., 2018; Şengül ve Vatansev, 2021). Aynı zamanda, dokuları yenilemede, zihin yorgunluğunu ve dikkat bozukluğunu azaltmada, bağışıklık sistemini güçlendirmede, prostat tedavisinde, obezitenin neden olduğu lipit peroksidasyonunu iyileştirmede yardımcı olmaktadır (Arıgül Apan vd., 2021; Özdemir vd., 2021; Şengül ve Vatansev, 2021). İçeriğindeki rutenyum ile kalp damar tıkanıklarını önlemede; asetilkolin ile tansiyon ve kronik kabızlık tedavilerinde kullanılmaktadır (Arıgül Apan vd., 2021; Parlakpınar ve Polat, 2021). Radyasyon önleyici etkisi de bulunan arı ekmeği, vücudumuzdaki mekanizmaları uyarır ve koruyucu etki gösterir (Mesci ve Esim, 2020).

Gıdaların zenginleştirilmesine yönelik yapılan çalışmalar incelendiğinde, arı ekmeği ile yapılan zenginleştirme çalışmalarının oldukça az sayıda olduğu görülmüştür. Arı ekmeğinde, genellikle fiziksel ve kimyasal karakterizasyon, biyolojik aktivite analizleri ve mikrobiyolojik analizlerin yapıldığı çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda yer almaktadır.

Bakour vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, Fas arı ekmeğinin besinsel ve kimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Ek olarak, in vitro antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri de araştırılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda, arı ekmeği besin içeriğinde, yüksek miktarda protein (19.96 g/100 g), serbest şeker (18 g/100 g), çoklu doymamış yağ asitleri (64.7 g/100 g), tokoferoller (10.9 mg/100 g), makro ve mikro elementler tespit edilmiştir. Özellikle, kersetin, kemferol, metilherbasetin ve izorhamnetin gibi fenolik bileşiklerce zengin olan arı ekmeğinin doğal bir antioksidan kaynağı olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda Fas arı ekmeği, test edilen tüm bakteri ve mantarlara karşı antioksidan aktivite göstermiştir.

Dranca vd. (2020) yaptıkları çalışmada, arı ekmeğinin pH, toplam fenolik içerik, toplam flavon içerigi, serbest asitlik, glikoz, fruktoz, sakaroz, melesitoz, rafinoz, yağ asitleri ve bireysel fenoliklerin karakterize edilmesini amaçlamışlardır. Analizde farklı ekstraksiyon koşulları uygulanmıştır. Etanolla ekstrakte edilen arı ekmeğinin ana fenolik bileşikleri kemferol, mirisetin ve luteolin olarak bulunmuştur. Araştırmalar sonucunda optimum ekstraksiyon koşulları, %87.20 ultrasonik ekstraksiyon genliği, 64.70 oC ve 23.10 dakika olarak belirlenmiştir. Optimum ekstraksiyon koşullarında, toplam fenolik içerik 146.2 mg GAE/L, toplam flavon içerigi 1231.5 mg QE/L ve ekstraksiyon verimi 5.72 g/100 g olarak bulunmuştur.

Kieliszek vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada ise, klasik mikrobiyoloji ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi moleküler yöntemler kullanılarak arı ekmeğinden izole edilen maya suşlarını tanımlamak ve karakterize etmek amaçlanmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda, arı ekmeğinde *Rhodotorula mucilaginosa* mayasının varliğı tespit edilmiştir. Bu mayanın varliğı, mikroflora kirletici arılar hakkında daha fazla araştırma yapılması gerektiğini göstermiştir. Aynı zamanda, diğer arı ürünlerinde de yeni mikroorganizma suşlarının ve bunların biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi gerektiği belirtilmiştir.

Ciric vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada ise, Sırbistan'ın farklı coğrafı bölgelerinden elde edilen 12 arı ekmeği örneğinin element konsantrasyonu ve yağ asidi bileşimi incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda, Potasyumun (5515 mg/kg-7487 mg/kg aralığında) ana element olduğu ve Lazarevac'tan alınan arı ekmeklerinin yüksek As ve Pb konsantrasyonuna sahip olduğu görülmüştür. Aynı zamanda Lazarevac'tan alınan arı ekmeklerinin yüksek düzeyde PUFA ve SFA içerdiği belirtilmiştir. Arı ekmeklerinin, uygun n-6/n-3 yağ asidi oranlarına (0.86-1.40 aralığında) sahip olduğu ve bu arı ekmeklerinin iyi bir doymamış yağ asidi kaynağı olabileceği belirtilmiştir.

ARI POLENİ VE ARI EKMEĞİ İLE GIDALARIN ZENGİNLEŞTİRİLMESİ ÇALIŞMALARI

Dundar (2021) tarafından yapılan çalışmada, farklı oranlarda (%5, %10, %15) arı poleninin fonksiyonel bir bileşen olarak kurabiyelerde kullanımı araştırılmıştır. Zenginleştirilmiş kurabiyelere toplam fenolik içerik, antioksidan kapasite ve duyuusal testler yapılmıştır. Arı poleni ilavesinin kurabiyenin hem besin değerini hem de polifenol içeriginin ve antioksidan kapasite değerini arttırdığı çalışmanın sonucunda gösterilmiştir. Ancak polen, dış kabuk tabakası nedeniyle düşük biyoerişilebilirliğe sahiptir. %15 arı poleni içeren numune hariç, tüm polenle zenginleştirilmiş bisküviler duyuusal olarak kabul edilmiştir.

Arı poleni ve propolis ekstraktı ilavesiyle sütlü dondurma üretimi için Mironova vd. (2020) tarafından yeni bir formülasyonun geliştirilmesi amaçlanmıştır. Zenginleştirilmiş ürünün fiziko-kimyasal analizleri yapılmış, propolis ve arı poleninin uygulanabilirliği araştırılmıştır. Sütlü dondurma yapmak için kullanılacak en iyi zenginleştirme konsantrasyonu arı poleninde %1 iken; propoliste %6 olarak tespit edilmiştir. Bu konsantrasyonlar duyuusal kaliteyi ve fiziko-kimyasal özellikleri bozmamıştır. Ürünün, bu değerli bileşenlerle zenginleştirilmesi uygun bulunmuştur.

Conte vd. (2018)'nin gerçekleştirdiği çalışmada, ekmek somunlarının fiziksel-kimyasal, teknolojik ve duyuusal özellikleri üzerindeki etkisini değerlendirmek için glutensiz hamuru farklı miktarlarda multifloral arı poleni ile zenginleştirme olasılığı araştırılmıştır. Polen ilavesi, hamurların reolojik özelliklerini etkilememiştir. Artan polen ilavesi düzeyleri, ekmeklerin hacimlerinde, ekmek içinin dokusal özelliklerinde ve kabuk gibi teknolojik özelliklerde önemli bir gelişme göstermiştir. Zenginleştirilmiş ekmekler, kontrol ekmeğine göre daha yumuşaktır. Ayrıca, %3 ile %5 arasında arı poleni ile zenginleştirilmiş glutensiz ekmeklerinin kabul edilebilirliği, kontrole göre daha yüksek çıkmıştır.

Polen ekstraktlarının antioksidan aktivitesini değerlendirmek ve besinsel ve duyuusal açıdan

yüksek kaliteli ürünler elde etmek için buğday unu yerine polen unu kullanarak gluten duyarlılığı olan hastalar için uygun bir kek formülasyonunun geliştirilmesi, Aljazy vd. (2021)'nin çalışmasının temel amacıdır. Bu çalışmanın sonucunda %75'e kadar polen içeren ve düşük gluten içeriğine sahip kek karışımlarının geliştirilmesi uygun bulunmuştur. %50 oranında polen unu kullanıldığında kekin süngerimsi dokusu etkilenmemiş; %75 oranında polen unu kullanıldığında ise kek kohezyon derecesinde düşüş yaşanmıştır. Bu çalışmada elde edilen polen unu ikameli kekin yağ oksidasyonunu ve kalite bozulmalarını önleyen antioksidan flavonoidlerin varlığı ile daha uzun raf ömrüne sahip olacağı raporu edilmiştir.

Kostić vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada, ayçiçeği arısı poleni ile zenginleştirilmiş, püskürtmeli kurutucu ile kurutulmuş, ısl işlem görmüş yağsız keçi sütünün polifenollerinin biyoerişilebilirliği ve antioksidan özellikleri in vitro sindirim yoluyla araştırılmıştır. Zenginleştirilmiş ürünün toplam polifenol ve flavonoid içeriği, önemli ölçüde azalmıştır. Bu azalmanın kazein miselleri ve polifenollerin etkileşimlerinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Sindirim sonrasında, zenginleştirilmiş ürünlerdeki polen polifenollerinin biyoerişilebilirliği azalmıştır. Aynı zamanda sindirimden sonra zenginleştirilmiş ürünün antioksidan aktivitesi artmıştır.

Doğal antioksidan olarak polenin kullanıldığı siyah pudingin raf ömrü Anjos vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada araştırılmıştır. Ürünün oksidatif stabilitesini ve duyuşsal kabul edilebilirliğini belirlemek için arı poleni, arı poleni ekstraktı ve sentetik antioksidan içeren farklı siyah puding formülasyonları incelenmiştir. Bir antioksidan olarak arı polenin dahil edilmesi, siyah pudingte lipit oksidasyonunu önlemek için doğal bir alternatif olarak kabul edilmiştir. Ek olarak, arı polenin ilavesi ürün kalitesini ve tüketici kabulünü arttırmıştır. Uygun arı poleni konsantrasyonunu belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir.

Farklı polen tozu konsantrasyonlarının Frankfurt sosilerine eklenmesi üzerine çalışan Novaković vd. (2021), sosilerin depolanması sırasında antioksidan aktivite değişimi, oksidatif stabilitenin değerlendirilmesi ve kalite üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Sosislerde polen seviyesinin artması, depolama sırasında antioksidan aktivitenin ve oksidatif stabilitenin artmasına neden olmuştur. Yapay antioksidan kullanılmadan, ürünlerin 60 günlük soğuk depolamada stabil kaldığı görülmüştür. Aynı zamanda ürünlerin duyuşsal özelliklerinde değişim gözlenmemiştir.

Brochard vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada, kestane unu ve polen tozunu makarna formülasyonuna dahil edip beslenme ve sağlık açısından zenginleştirilmiş ürün oluşturulması amaçlanmıştır. Makarna formülasyonları optimize edilmiş, kimyasal bileşim ve fiziksel özellikler açısından analiz edilmiştir. Makarnaya, %20'ye kadar polen tozu ilavesinin pişme süresini ve verimini kısalttığı görülmüştür. Yeni formülasyonlarda en uygun zenginleştirme oranları kestane için %50 ve polen için %10 olarak belirlenmiştir. Ürünlerin yapışkanlığı artmış, sertliği değişmemiştir. Ek olarak, yüksek lif, mineral ve vitamin içeren zengin ürünler elde edilmiştir.

Heldt vd. (2019)'nin çalışmasında, sığır etinden yapılmış ve arı poleni ekstraktı ile zenginleştirilmiş hamburger köftesinin işleme ve donuk depolama sırasında ekstraktın, doğal bir antioksidan olarak kabiliyeti araştırılmıştır. Aynı zamanda arı poleni ekstraktının fizikokimyasal bileşimi de incelenmiştir. Sığır eti hamburger köftesinde kullanılan arı poleni ekstraktının, sentetik antioksidanlardan çok daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuca arı poleni ekstraktının, depolama sırasında malonildialdehit konsantrasyonunu etkileyerek, lipit oksidasyonunu önleyici etkisinin daha yüksek bulunmasından varılmıştır. Güçlü antioksidan etkisi ve yüksek besleyici değeriyle et ürünlerinde doğal antioksidan olarak uygulanabileceği belirtilmiştir.

Balık sosisleri farklı konsantrasyonlarda arı ekmeği ekstraktları ile Mohammad vd. (2021)'nin

çalışmasında zenginleştirilmiştir. Depolama süresince besin kompozisyonları, antioksidan aktiviteleri ve lipit peroksidasyon aktiviteleri incelenmiştir. Arı ekmeği ekstraktının balık soslerine eklenmesi, ürünün karbonhidrat seviyesini arttırırken, nem içeriğini azaltmıştır. Arı ekmeği ekstraktının konsantrasyonu arttıkça fenolik ve flavonoid içeriğinde artış meydana gelmiştir. Aynı zamanda sentetik antioksidanlara göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Depolamadan sonra, lipit oksidasyonu kontrol grubuna kıyasla daha düşük çıkarken, fenolik bileşiklerde ve antioksidan aktivitede düşüş meydana gelmiştir.

Kowalski ve Makarewicz (2017) tarafından yapılan çalışmada, propolis ve arı ekmeği ile zenginleştirilmiş balın fonksiyonel özellikleri karakterize edilmiştir. Zenginleştirilmiş balların toplam fenolik içeriği, antioksidan aktivitesi ve mikroorganizmaların büyümesi üzerine etkileri incelenmiştir. Arı ürünleri ile zenginleştirilmiş balın, özellikle *Escherichia coli* 'ye karşı güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu ve güçlü antioksidan özellikler sergilediği gözlemlenmiştir. Arı ekmeğinin antioksidan aktivitede en önemli etkiye sahip olduğu ve %1 oranında propolis ilavesinin antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Yapılan diğer çalışmalar Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1: Gıdaların arı poleni veya arı ekmeği ile zenginleştirilmesi alanındaki diğer çalışmalar

Zenginleştirmede kullanılan ürün	Son ürün	Uygulanan İşlem	Çalışmanın sonucu	Referans
Arı poleni	Narenciye suyu	Arı poleni ile zenginleştirilmiş narenciye suyunun geliştirilmesi ve kalite parametrelerinin (C vitamini, polifenoller, antioksidan aktivite, duyusal kalite) değerlendirilmesi amaçlanmıştır.	Zenginleştirilmiş ürünün polifenol içeriği ve antioksidan aktivitesi önemli ölçüde artmıştır. C vitamini içeriğinde önemli bir artış gözlemlenmemiştir. Zenginleştirilmiş narenciye suyu, tüketiciler tarafından da kabul edilmiştir.	(Stan, 2018)
Arı poleni	Malt içecek (bira)	Farklı tür (kolza, ayçiçeği ve haşaş polenleri) ve farklı (kuru ve donmuş) arı poleni içeriğinin malt içeceklerinin antioksidan özellikleri üzerindeki etkisi incelenmiş ve fenolik ve flavonoid profilleri karşılaştırılmıştır.	Arı poleni ile zenginleştirilmiş tüm içeceklerin kontrol numunesi saf şıraya göre daha yüksek polifenol, flavonoid içeriği ve antioksidan potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir. En iyi sonuç, yüksek arı poleni içeren (%0.6) haşaş poleninde elde edilmiştir.	(Sulgajová vd., 2014)

Çizelge 1: devam

Zenginleştirmede kullanılan ürün	Son ürün	Uygulanan İşlem	Çalışmanın sonucu	Referans
Arı poleni	Yoğurt	Farklı konsantrasyonlardaki arı poleni ekstraktları ile inek, keçi ve koyun sütünden yoğurt yapılmıştır. Yoğurdun duysal özellikleri, antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik içeriği incelenmiştir.	Yoğurtlara arı polenin eklenmesi, daha yüksek in vitro antioksidan kapasiteye ve toplam fenolik içeriğe sahip bir gıda matrisi ile sonuçlanmış; yoğurdun tadı, kokusu, görünümü ve kohezyonunu iyileştirmiştir.	(Karabagias vd., 2018)
Arı poleni	Glutensiz ekmek	Farklı oranlarda polen ilavesi ile formüle edilmiş glutensiz ekmeklerin besin özellikleri, aroma profilleri, fenolik bileşik fraksiyonları ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır.	Polenle zenginleştirilmiş ekmeklerin çoğunda daha yüksek protein ve kül içeriği değerleri görülmüştür. K ve Ca elementlerinde artış gözlemlenmiştir. Ek olarak, toplam polifenol içeriği, polifenol biyoerişilebilirliği, karotenoid içeriği ve antioksidan aktivitede önemli bir artış gözlemlenmiştir. Artan furan içeriği ise ekmeklerin aromatik bileşimini güçlendirmiştir.	(Conte vd., 2020)
Arı poleni veya arı ekmeği	Bal	Eklenen arı poleni ve arı ekmeğinin multifloral balda seçilen mineral içeriği üzerindeki etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır.	Bala arı poleni veya arı ekmeği eklenmesi, Na hariç seçilen makro ve mikro elementlerin içeriğini arttırmıştır. Balın en yüksek dozda (%25) arı poleni veya arı ekmeği ile zenginleştirilmesi, Mg ve Fe içeriğinde 20 kat, Zn içeriğinde yaklaşık 14 kat artışa neden olmuştur. Bala arı ekmeğinin eklenmesi K, Ca, Mg, Fe ve Cu içeriğinde arı polenine kıyasla daha fazla artışa sebep olmuştur.	(Habryka vd., 2020)

SONUÇ

Bu çalışmada, arı ürünlerinden olan arı polenin ve arı ekmeğinin fizikokimyasal özellikleri, sağlığa etkileri ve bu ürünlerle gıda alanında yapılan zenginleştirme çalışmaları incelenmiştir. Arı poleni ve arı ekmeği, zengin besin içerikleri ve biyoaktif özellikleriyle son zamanlarda tüketiciler tarafından tercih edilen fonksiyonel gıdalardır. Endüstrileşmiş dünyada, hastalıkları önlemek ve sağlığı korumak için besin içeriği zengin ve biyoaktif bileşikler içeren beslenme modeli oldukça önemlidir. Arı poleni ve arı ekmeği ile zenginleştirilmiş çalışmalar genel olarak incelendiğinde; zenginleştirilen gıdaların fizikokimyasal özelliklerinin ve duysal kalitelerinin iyileştiği, besin içerikleriyle birlikte antioksidan kapasitelerinin ve biyoaktif bileşik içeriklerinin arttığı gözlemlenmiştir. Önemli olan farklı gıda matrislerinde kullanılan arı poleni ve arı ekmeğinin optimum zenginleştirme konsantrasyonunu bulmaktır. Antioksidanlar bakımından zengin, sağlığa yararlı ve duysal özellikleri açısından tüketicinin beklentisini karşılayan yeni fonksiyonel gıdalar geliştirilmesi ana hedefdir. Arı poleni ve arı ekmeğiyle yeni fonksiyonel gıda ürünleri geliştirmek ve kullanılacak optimum konsantrasyonları tespit edebilmek için daha ayrıntılı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

Aljazy, N. A. S., Abdulstar, A. R., Alrakabi, J. M. F. (2021). Analytical study of phytochemicals and antioxidant activity of pollen (typha domingensis pers.) extracted from the papyrus plant and its use in cake enrichment. *Al-Qadisiyah Journal For Agriculture Sciences*, 11(2): 126-136. <https://doi.org/10.33794/qjas.2021.132392.1017>

Altıntaş, L., Bektaş, N. (2019). Apiterapi: 1. arı zehri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 19(1): 82-95. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.568311>

Anjos, O., Fernandes, R., Cardoso, S. M., Delgado, T., Farinha, N., Paula, V., ..., Carpes, S. T. (2019). Bee pollen as a natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in black pudding. *LWT-Food Science and Technology*, 111: 869-875. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.105>

Arıgül Apan, M., Zorba, M., Kayaboynu, Ü. (2021). Bal arısı ve bal arısı ürünleri. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 6(2): 202-223. <https://doi.org/10.33484/sinopfdb.992345>

Bakkaloğlu, Z. (2021). Arı poleni proteinleri ve fonksiyonel özellikleri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 21(2): 247-256. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.984837>

Bakour, M., Fernandes, A., Barros, L., Sokovic, M., Ferreira, I. C. (2019). Bee bread as a functional product: chemical composition and bioactive properties. *LWT-Food Science and Technology*, 109: 276-282. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.008>

Brochard, M., Correia, P., Barroca, M. J., Guiné, R. P. (2021). Development of a new pasta product by the incorporation of chestnut flour and bee pollen. *Applied Sciences*, 11(14): 6617. <https://doi.org/10.3390/app11146617>

Camacho-Bernal, G. I., Cruz-Cansino, N. D. S., Ramírez-Moreno, E., Delgado-Olivares, L., Zafra-Rojas, Q. Y., Castañeda-Ovando, A., Suárez-Jacobo, A. (2021). Addition of bee products in diverse food sources: functional and physicochemical properties. *Applied Sciences*, 11(17): 8156. <https://doi.org/10.3390/app11178156>

Ciric, J., Spiric, D., Baltic, T., Janjic, J., Petronijevic, R., Simunovic, S., Djordjevic, V. (2019). Element concentration and fatty acid composition of Serbian bee bread. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 333(1): 012050. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/333/1/012050>

Conte, P., Del Caro, A., Balestra, F., Piga, A., Fadda, C. (2018). Bee pollen as a functional ingredient in gluten-free bread: a physical-chemical, technological and sensory

- approach. *LWT-Food Science and Technology*, 90:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.002>
- Conte, P., Del Caro, A., Urgeghe, P. P., Petretto, G. L., Montanari, L., Piga, A., Fadda, C. (2020). Nutritional and aroma improvement of gluten-free bread: is bee pollen effective?. *LWT-Food Science and Technology*, 118: 108711. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108711>
- Dadalı, C., Elmacı, Y. (2021). Bee bread and bee pollen. 31st International Scientific-Expert Conference of Agriculture and Food Industry, 27-28 Eylül 2021, İzmir, Türkiye, 124 s.
- Dozuotu, B. D. T. I. J., Kūrımas, F. (2015). Investigation of bee bread and development of its dosage forms. *Medicinos teorija ir praktika*, 21(1): 16-22. <https://doi.org/10.15591/mtp.2015.003>
- Dranca, F., Ursachi, F., Oroian, M. (2020). Bee bread: physicochemical characterization and phenolic content extraction optimization. *Foods*, 9(10):1358. <https://doi.org/10.3390/foods9101358>
- Dundar, A. N. (2021). Total phenolic and antioxidant bioaccessibilities of cookies enriched with bee pollen. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(6): e16085. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16085>
- Ekici, T., Gölgeli, A. (2021). Geleneksel ve tamamlayıcı tıpta apiterapi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 30(2): 200-203. <https://doi.org/10.34108/eujhs.654811>
- Ertosun, S. (2020). Thermal stability of nutraceuticals in bread enriched with bee products. Ph.D. Dissertation, Instituto Politécnico De Bragança Escola Superior Agrária, Bragança, 3 p.
- Habryka, C., Socha, R., Juszcak, L. (2020). The influence of honey enrichment with bee pollen or bee bread on the content of selected mineral components in multifloral honey. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 14: 874-880. <https://doi.org/10.5219/1329>
- Habryka, C., Socha, R., Juszcak, L. (2021). Effect of bee pollen addition on the polyphenol content, antioxidant activity, and quality parameters of honey. *Antioxidants*, 10(5): 810. <https://doi.org/10.3390/antiox10050810>
- Heldt, L. F. S., Pereira, D., Souza, B. R., Almeida-Muradian, L. B., Carpes, S. T. (2019). Fortification of beef burger with the addition of bee pollen from *Apis mellifera* L. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 31(11): 895-901. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2019.v31.i11.2025>
- Juszczak, L., Florkiewicz, A., Socha, R., Galkowska, D., Piotrowska, A. (2018). Effect of honey supplementation with bee products on quality parameters and mineral composition. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 30(12): 990-997. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i12.1864>
- Karabagias, I. K., Karabagias, V. K., Gatzias, I., Riganakos, K. A. (2018). Bio-functional properties of bee pollen: the case of “bee pollen yoghurt”. *Coatings*, 8(12): 423. <https://doi.org/10.3390/coatings8120423>
- Karlıdağ, S., Keskin, M. (2020). Arı ürünlerine genel bir bakış. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(1): 58-63.
- Khalifa, S. A., Elashal, M. H., Yosri, N., Du, M., Musharraf, S. G., Nahar, L., ..., El-Seedi, H. R. (2021). Bee pollen: current status and therapeutic potential. *Nutrients*, 13(6): 1876. <https://doi.org/10.3390/nu13061876>
- Khalifa, S. A., Elashal, M., Kieliszek, M., Ghazala, N. E., Farag, M. A., Saeed, A., ..., El-Seedi, H. R. (2020). Recent insights into chemical and pharmacological studies of bee bread. *Trends in Food Science & Technology*, 97: 300-316. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.021>
- Kieliszek, M., Kolotylo, V., Mikołajczuk-Szczyrba, A., Giurgiulescu, L., Kot, A. M., Kalisz, S., ..., Cendrowski, A. (2021). Isolation and identification of new yeast strains from bee bread. *Carpathian Journal of Food Science & Technology*, 13(1): 207-213. <https://doi.org/10.34302/crpfjst/2021.13.1.17>
- Kieliszek, M., Piwowarek, K., Kot, A. M., Błażej, S., Chlebowska-Śmigiel, A., Wolska, I. (2018). Pollen and bee bread as new health-oriented products: a review. *Trends in Food Science*

- Technology*, 71: 170-180. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.021>
- Kostić, A. Ž., Milinčić, D. D., Stanisavljević, N. S., Gašić, U. M., Lević, S., Kojić, M. O., ..., Pešić, M. B. (2021). Polyphenol bioaccessibility and antioxidant properties of in vitro digested spray-dried thermally-treated skimmed goat milk enriched with pollen. *Food Chemistry*, 351: 129310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129310>
- Kowalski, S., Makarewicz, M. (2017). Functional properties of honey supplemented with bee bread and propolis. *Natural Product Research*, 31(22): 2680-2683. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1286481>
- Lomova, N., Snizhko, O., Narizhnyi, S. (2014). Yoghurt enrichment with natural bee farming products. *Ukrainian Food Journal*, 3(3): 405-411.
- Mărgăoan, R., Stranț, M., Varadi, A., Topal, E., Yücel, B., Cornea-Cipcigan, M., ..., Vodnar, D. C. (2019). Bee collected pollen and bee bread: bioactive constituents and health benefits. *Antioxidants*, 8(12): 568. <https://doi.org/10.3390/antiox8120568>
- Mayda, N., Keskin, M., Keskin, Ş., Özkök, A. (2019). Bilecik ilinden toplanan arı polenlerinin botanik orijinleri ile toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin belirlenmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 19 (2): 152-160. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.605692>
- Mayda, N., Özkök, A., Ecem Bayram, N., Gerçek, Y. C., Sorkun, K. (2020). Bee bread and bee pollen of different plant sources: determination of phenolic content, antioxidant activity, fatty acid and element profiles. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(4): 1795-1809. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00427-y>
- Mehmetoğlu, S., Tarakçı, Z., Demirkol, M., Çakıcı, N., Güney, F. (2017). Gıda katkı maddesi olarak propolis. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 9(1): 32-39. ISSN: 2146-2720.
- Mesci, E., Esim, N. (2020). Gıdaların raf ömürleri için yeni bir yaklaşım: arı ürünleri ile yenilebilir kaplamalar. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 9(2): 211-220. <https://doi.org/10.46810/tdfd.810214>
- Mironova, I. V., Galieva, Z. A., Konovalov, S. A., Bychkova, T. S., Baydan, D. V., Rozhkov, K. A. (2020). Enrichment of milk ice cream with bee products. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 613(1): 012082. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/613/1/012082>
- Mohammad, S. M., Badrul Hisham, A. A., Mustapa, N. A., Chan, K. W., Zawawi, N. (2021). Proximate analysis, antioxidant activity, and antibacterial activity of fish sausages fortified with bee bread extract. *Journal of Food Quality*, 2021: 9. <https://doi.org/10.1155/2021/6657553>
- Nisbet, C., Tabatabaei, P. (2021). Investigation of phenolic compounds and antioxidant capacity of bee pollen collected from different geographical regions in Turkey. *Kocatepe Veterinary Journal*, 14 (3): 359-365. <https://doi.org/10.30607/kvj.846905>
- Novaković, S., Djekic, I., Pešić, M., Kostić, A., Milinčić, D., Stanisavljević, N., ..., Tomasevic, I. (2021). Bee pollen powder as a functional ingredient in frankfurters. *Meat Science*, 182: 108621. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108621>
- Onbaşı, D. (2019). Apiterapi ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(1): 49-56. <https://doi.org/10.32707/ercivet.538001>
- Özdemir, G., Ersöz, E., Dilek, N. (2021). Apitherapy and health. *Black Sea Journal of Health Science*, 4 (2): 168-174. <https://doi.org/10.19127/bshealthscience.816036>
- Parlakpınar, H., Polat, S. (2021). Apiterapi ürünlerinin biyokimyasal içeriği. Atayoğlu, A.T. (ed.), 1. Baskı, Türkiye Klinikleri, Ankara, Türkiye, s. 38-48.
- Sig, A. K., (2019). Bee pollen—a potential therapeutic agent. *Archives Medical Review Journal*, 28(2): 156-160. <https://doi.org/10.17827/aktd.423992>
- Silici, S. (2015). Arı poleni ve arı ekmeği. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 14(2): 99-105. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.376901>

- Solgajová, M., Ivanišová, E., Nôžková, J., Frančáková, H., Tóth, Ž., Dráb, Š. (2014). Antioxidant activity and polyphenol content of malt beverages enriched with bee pollen. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3: 281-284.
- Sorucu, A. (2019). Arı ürünleri ve apiterapi. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 10 (1): 1-15. ISSN: 1309-4769.
- Stan, L. (2018). Bee pollen as antioxidant ingredient in ready-to-serve citrus juice. *Scientific Papers: Series D, Animal Science*, 61(1). ISSN: 2285-5750.
- Sukhov, M. A., Giro, T. M. (2021). Development of technology for meat products enriched with essential trace elements. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 640(3): 032032. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/3/032032>
- Şengül, F., Vatansev, H. (2021). Overview of apitherapy products: anti-cancer effects of bee venom used in apitherapy. *International Journal of Traditional and Complementary Medicine Research*, 2(1): 36-48.
- Thakur, M., Nanda, V. (2020). Composition and functionality of bee pollen: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 98: 82-106. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.001>
- Uçar, M., Vanizor Kural, B., Bulut, V. N., Aliyazıcıoğlu, R., Kopuz, M., Değer, O., Menteşe, A. (2018). Kuzeydoğu anadolu bölgesinden toplanan arı poleni karışımındaki element düzeyleri. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(3): 57-62.
- Vásquez, A., Olofsson, T. C. (2009). The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. *Journal of Apicultural Research*, 48(3): 189-195. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.48.3.07>

OMEGA-3 YAĞ ASİDİ NANOEMÜLSİYONLARININ FARKLI KOŞULLARDA FİZİKSEL STABİLİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Z. Merve ABACI^a, Sibel ULUATA^{b*}

^a Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye

^b Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye

Geliş / *Received*: 11.03.2022; Kabul / *Accepted*: 27.06.2022; Online baskı / *Published online*: 25.07.2022

Abacı, Z.M., Uluata, S. (2022). Omega-3 yağ asidi nanoemülsiyonlarının farklı koşullarda fiziksel stabilitelerinin belirlenmesi. *GIDA* (2022) 47 (4) 616-629 doi: 10.15237/ gida.GD22031

Abacı, Z.M., Uluata, S. (2022). Determination of physical stability of omega-3 fatty acid nanoemulsions at different conditions. GIDA (2022) 47 (4) 616-629 doi: 10.15237/ gida.GD22031

ÖZ

Bu çalışmada, omega-3 yağ asitlerince zengin balık yağı (%5) ve Tween 80 (T80), Quillaja Saponin (QS), Gam Arabik (GA) sürfaktanları (%1) kullanılarak mikroakışkanlaştırıcı yardımı ile su içinde yağ (Y/S) nanoemülsiyonları hazırlanmıştır. Nanoemülsiyonların fiziksel stabilite; pH (4-7), sıcaklık (40-80°C) ve iyonik şiddet (0-500 mM NaCl) etkisi ile belirlenmiştir. Nanoemülsiyonların partikül boyutlarının 125 ± 0.40 ile 542 ± 0.45 nm ve partikül yüklerinin -12.80 ± 0.63 ile -69.1 ± 0.14 mV aralığında olduğu tespit edilmiştir. T80 ve QS ile stabilize edilen nanoemülsiyonların farklı pH, sıcaklık ve iyonik şiddet koşullarında fiziksel stabilitelerinin değişmediği görülmüştür. GA ile stabilize edilmiş nanoemülsiyonların ise pH, sıcaklık ve iyonik şiddet etkisine nispeten hassas olduğu ancak fiziksel stabilitesinde önemli bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak, omega-3 ile zenginleştirilmiş fiziksel olarak stabil nanoemülsiyonlar hem sentetik (T80) hem de doğal (QS ve GA) sürfaktanlar kullanılarak üretilmiştir. Elde edilen bu sonuçların omega-3 yağ asidi ile zenginleştirilmiş gıda üretimi ile ilgili çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Omega-3 yağ asitleri, nanoemülsiyon, emülsifiyer, fiziksel stabilize

DETERMINATION OF PHYSICAL STABILITY OF OMEGA-3 FATTY ACID NANOEMULSIONS AT DIFFERENT CONDITIONS

ABSTRACT

In this study, physical stability of omega-3 oil-in-water emulsion was investigated at different environmental conditions. Omega-3 oil (5%) and Tween 80 (T80), Quillaja Saponin (QS), Gam Arabic (GA) (1%) were used to produce oil-in water nanoemulsions. The physical stability of nanoemulsions were examined at different pH (4-7), temperature (40-80°C) and ionic strength (0-500 mM NaCl). The particles size of nanoemulsions were 125 ± 0.40 to 542 ± 1.70 nm, and the charge were -12.80 ± 0.63 and -69.10 ± 0.14 mV. It was observed that nanoemulsions containing T80 and QS were kinetically stable and the particle size/zeta potential did not change at different pH, temperature and salt concentrations. However, there was a small changes in the particle size of nanoemulsion containing GA at different conditions. As a result, physically stable nanoemulsions enriched with omega-3 were produced using both synthetic and natural surfactants. These results will be useful for the production of food enriched with omega-3 oils.

Keywords: Omega-3 fatty acid, nanoemulsion, emulsifier, physical stability

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉: sibel.uluata@inonu.edu.tr

☎: (+90) 422 377 3790

☎: (+90) 422 377 3822

Z. Merve Abacı; ORCID no: 0000-0002-5082-2104

Sibel Uluata; ORCID no: 0000-0002-7451-9791

GİRİŞ

Balık yağı, Eikosapentaenoik asit (EPA) ve Dokosapentaenoik asit (DHA) gibi uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri açısından çok zengin bir kaynaktır (Maki vd., 2014). EPA'nın kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde önemli bir yeri olduğu, DHA'nın ise beyin ve sinir sistemi gelişimi için gerekli olduğu uzun yıllardır bilinmektedir (Patch ve Brown, 2008; Shahidi ve Ambigaipalan, 2018; Walker vd., 2015). EPA ve DHA ayrıca astım, kistik fibroz ve romatoid artrit gibi enflamatuvar hastalıkların önlenmesi ve bu hastalıkların olası tedavisinde kullanılmaktadır (Ruxton vd., 2004; Tur vd., 2012). DHA, insan sinir sisteminde yüksek miktarda bulunduğu için eksikliği sinir sistemi hastalıklarıyla ilişkilendirilmiştir (Ruxton vd., 2004).

Omega-3 yağ asitlerinin, bebeklerde beyin gelişimi ve çalışmasında görevli olduğu, yüksek zeka katsayısı (IQ) ve görme keskinliğini arttırdığı yönünde araştırmalar mevcuttur (Helland vd., 2003; Ruxton vd., 2004). Ayrıca, omega-3 yağ asidi tüketiminin, dikkat eksikliği, hiperaktivite bozukluğu, Alzheimer ve Demans dahil olmak üzere zihinsel sağlık durumları ile bağlantısı rapor edilmiştir (Ruxton vd., 2004). Ayrıca omega-3 yağ asitleri, Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL) miktarını azaltarak ve Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL) miktarını arttırarak, kan lipit profilinde olumlu etkiler sağlamaktadır (Din vd., 2008; Pottel vd., 2014; Tur vd., 2012).

Son yıllarda balık ve balık yağının insan sağlığına olumlu etkilerinin olması konusunda farkındalık artmıştır. Ancak, yüksek balık maliyeti, denizde bulunan ağır metallerin toksik etkisi ve birçok tüketicinin deniz ürünü tüketmekten hoşlanmaması gibi faktörlere bağlı olarak tüketicilerin çoğu hala önerilen EPA ve DHA miktarı alımına sahip değildir (Deckelbaum, 2007; Nielsen vd., 2007). Bu ve buna benzer nedenlerden dolayı, omega-3 yağ asidi takviyeli gıdalara ilgi giderek artmaktadır. Gıda endüstrisi tüketicilere fonksiyonel gıdalar sunarak omega-3 yağ asidi alımını arttırmaya yönelik çalışmalar yapmaktadır (McClements vd., 2007; Nielsen vd., 2007; Walker vd., 2015; Walker vd., 2017). Omega-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmiş

fonksiyonel ürünler arasında özellikle içecekler oldukça talep görmektedir (Walker vd., 2015).

Omega-3 yağ asitlerinin sudaki düşük çözünürlükleri, zayıf kimyasal stabiliteleri ve biyoyararlanımlarının değişken olması nedeniyle bunları çoğu gıda ürününe fonksiyonel olarak dâhil etmede önemli zorluklar vardır. Omega-3 yağ asitlerinin muhafazası, koruması ve serbest bırakılması için uygun dağıtım sistemleri geliştirilmektedir (Haahr ve Jacobsen, 2008; Uluata vd., 2015; Vellido-Perez vd., 2021; Walker vd., 2015). Nanoemülsiyonlar; hazırlanma kolaylığı, küçük partikül boyutları ($d < 200$ nm), nispeten yüksek stabiliteleri ve yüksek biyoyararlanımları nedeniyle giderek daha popüler hale gelen sistemlerdir (Acosta, 2009; McClements, 2013).

Gıda endüstrisinde nanoemülsiyonların en önemli odak noktası, nano yapıdaki çeşitli biyoaktif maddeleri (omega-3 yağ asitleri, aroma maddeleri vb) kapsülleyerek korumak, salınımlarını kontrol etmektir (Acosta, 2009; McClements vd., 2007; Waraho vd., 2011). Nanoemülsiyonlar, omega-3 ile zenginleştirilmiş yiyecek ve içecek ürünleri geliştirmeye ilişkili zorlukların üstesinden gelmek için büyük bir potansiyele sahiptir.

Nanoemülsiyon sistemleri mikroemülsiyonların aksine termodinamik olarak stabil olmayan sistemlerdir (Riquelme et al., 2019). Günümüzde bu sistemlerin tasarımları geliştirilerek fiziksel ve kimyasal stabilitelerini arttırmak ve bu sistemlerden yüksek biyoyararlanım sağlamak mümkün olmaktadır (Anton ve Vandamme, 2009; Walker vd., 2015). Nanoemülsiyonlar, yüksek veya düşük enerjili yöntemlerle üretilir. Düşük enerjili yöntemler ile hazırlanan nanoemülsiyon sistemleri ortam koşulları kontrollü olarak değiştirilerek kendiliğinden damlacık oluşumu esasına dayalı sistemlerdir (McClements ve Rao, 2011). Yüksek enerjili yöntemler ile hazırlanan nanoemülsiyon sistemlerinde ise partikül boyutunu küçültmek için mikroakışkanlaştırıcı, yüksek basınçlı valf homojenleştirici veya sonikatör gibi özel mekanik cihazlar kullanılır (McClements ve Rao, 2011; Tadros vd., 2004; Walker vd., 2015). Ayrıca

nanoemülsiyonların fiziksel stabilitesini sağlamak üzere alternatif yollar araştırılmıştır.

Uluata ve arkadaşlarının (2015) yapmış olduğu bir çalışmada lesitin, QS, T80 ve sodyum dodesil sülfat (SDS) kullanılarak omega-3 yağ asitlerince zengin, stabil su içinde yağ emülsiyonları (YIS) oluşturulmuş ve omega-3 yağ asitlerinin hem doğal hem de sentetik sürfaktanlar kullanılarak stabilize edilebileceklerini rapor etmişlerdir. Peynir altı suyu proteini izolatu ve ksantan zamkı kullanılarak hazırlanan su içinde yağ emülsiyonlarının fiziksel stabilitesi ve reolojik özellikleri üzerine farklı koşulların (iyonik şiddet ve sıcaklık) etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise izoelektrik noktanın (pI) altındaki pH değerlerinde emülsiyonların flokülasyona daha meyilli olduğu ancak pH değeri pI'den yüksek olan emülsiyonlarda tam tersi bir eğilim gözlemlendiği ve yüksek iyonik kuvvete kıyasla düşük iyonik kuvvette daha az kremalaşma sergilediği raporlanmıştır (Sriprablom vd., 2019). Riquelme ve arkadaşlarının (2019) sentetik bir emülgatör olan T80 yerine doğal kökenli bir emülgatör olan QS kullanarak hazırladığı avokado yağı bazlı nanoemülsiyonların fiziksel stabilitesi üzerindeki etkisini araştırdıkları bir çalışmada quilla saponinin nanoemülsiyonlara dâhil edilmesi ile nanoemülsiyonların termal stabilitesinin arttığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı, omega-3 yağ asitleri bakımından zengin balık yağının su bazlı ürünlerde kullanımını sağlamak amacıyla doğal (QS ve GA) ve sentetik (T80) sürfaktanlar kullanılarak emülsiyonlar hazırlanması, elde edilen bu emülsiyonların farklı koşullar altında fiziksel ve oksidatif stabilitelerinin araştırılmasıdır. Elde edilen bu nanoemülsiyonların uygun şartlar altında gıda sistemlerine dâhil edilebileceği ve böylece potansiyel omega-3 yağ asidi kaynağı olabilecek fonksiyonel ürünlerin geliştirilebileceği öngörülmektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Emülsiyon hazırlama

Su içinde yağ emülsiyonu hazırlamak için, %5 oranında omega-3 yağ asitlerince zengin (%19 EPA, %12 DHA) balık yağı (MEG-3 1812 TG 3a Food Oil) (DSM Nutritional Products Ltd., Basel,

Switzerland), %1 oranında sürfaktan içeren fosfat tamponu (pH 7.0) ile karıştırılmıştır. Sürfaktan olarak T80, QS ve GA kullanılmıştır. GA, fosfat tamponu (pH 7.0) içinde 24 sa. boyunca 4°C'de 400 rpm'de çoklu manyetik karıştırıcıda (Velp Scientifica, Italy) karıştırılarak hazırlanmıştır. Ön emülsiyonlar, balık yağının ayrı ayrı T80, QS ve GA çözeltilerine eklenerek yüksek hızlı homojenizatörde (IKA T18 digital, Staufen, Germany) 14000 rpm'de 4'er dak boyunca homojenize edilmesiyle hazırlanmıştır. Hazırlanan bu ön emülsiyonlar 10000 psi basınç altında mikroakışkanlaştırıcıdan (LM20 Microfluidizer, Microfluidics Co., MA, USA) 3 defa geçirilerek son emülsiyonlar elde edilmiştir. Tüm bu işlemler 4°C'de gerçekleştirilmiştir.

Partikül boyutu ve partikül yükü ölçümleri

Üretilen su içinde yağ (Y/S) emülsiyonlarının partikül boyutu ve yükü, dinamik ışık saçınım spektrofotometresi (DLS) (Nano-ZS, model ZEN3600, Malvern Instruments, Worcestershire, UK) ile belirlenmiştir. Sonuçlar ortalama partikül çapı ve zeta (ζ) potansiyeli olarak kaydedilmiştir.

Termal stabilite

Su içinde yağ (Y/S) emülsiyonlarının termal stabilitesinin araştırılması için Uluata vd. (2005) yönteminde minör değişiklikler yapılarak emülsiyonlar 40, 50, 60, 70 ve 80°C'lerde sıcak su banyosunda 10'ar dakika ısı işleme tabi tutulmuş ardından oda koşullarında 24 sa. bekletilmiştir. Emülsiyonlar fosfat tamponu (pH 7.0) ile 500 kat seyreltilip, partikül boyutları ve zeta potansiyelleri dinamik ışık saçınım spektrofotometresi (Nano-ZS, model ZEN3600, Malvern Instruments, Worcestershire, UK) cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

İyonik şiddet stabilitesi

Farklı tuz konsantrasyonlarının emülsiyon stabilitesine etkisinin ölçülmesi amacıyla NaCl (100-500 mM) içeren emülsiyonlar hazırlanarak cam test tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra 25°C'de 24 sa. karanlıkta bekletilen su içinde yağ emülsiyonları fosfat tamponu (pH 7.0) ile 500 kat seyreltilip partikül boyutları ve zeta potansiyelleri dinamik ışık saçınım spektrofotometresi (Nano-ZS, model ZEN3600, Malvern Instruments,

Worcestershire, UK) cihazı kullanılarak ölçülmüştür (Qian vd., 2011; Uluata vd., 2015).

pH stabilitesi

Y/S emülsiyonlarının stabilitesinin değişen pH koşullarında araştırılması için Uluata vd. (2005) yönteminde minör değişiklikler yapılarak emülsiyonların pH'ları 1 M HCl ve 1 M NaOH kullanılarak 4.0, 5.0, 6.0 ve 7.0'ye ayarlanmış ve oda sıcaklığında 24 sa. karanlıkta bekletilmiştir. Emülsiyonların her biri fosfat tamponu (pH 7.0) ile 500 kat seyreltilerek dinamik ışık saçınım spektrofotometresi cihazı (Nano-ZS, model ZEN3600, Malvern Instruments, Worcestershire, UK) kullanılarak ölçülmüştür.

Bulanıklık (Türbidite) ölçümleri

Emülsiyonların bulanıklığı, 600 nm dalga boyunda UV-VIS spektrofotometre (UV-1800, SHIMADZU, Kyoto, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Absorbans okumalarını uygun bir aralığa düşürmek için, örnekler pH'sı 7.0 olan fosfat tamponu ile 500 kat seyreltilmiştir.

Kremalaşma indeksi

Emülsiyonların kremalaşmaya karşı duyarlılığı test tüpünün üstündeki opak damlacık açısından zengin serum katmanı ile emülsiyonun toplam yüksekliği ölçülerek denklem (1) yardımı ile belirlenmiştir (McClements, 2005).

$$CI = 100 \times (H_S/H_T) \quad (1)$$

CI = Kremalaşma indeksi

H_S = Serum fazının yüksekliği

H_T = Emülsiyonun toplam yüksekliği

İstatistiksel analizler

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak SPSS 16.0 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler arasındaki farkların ($P < 0.05$) belirlenmesi için "One way ANOVA (Analysis of variances - tek yönlü varyans analizi)" testi ve istatistiksel önem düzeyleri arasındaki farkların karşılaştırılması "DUNCAN" çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

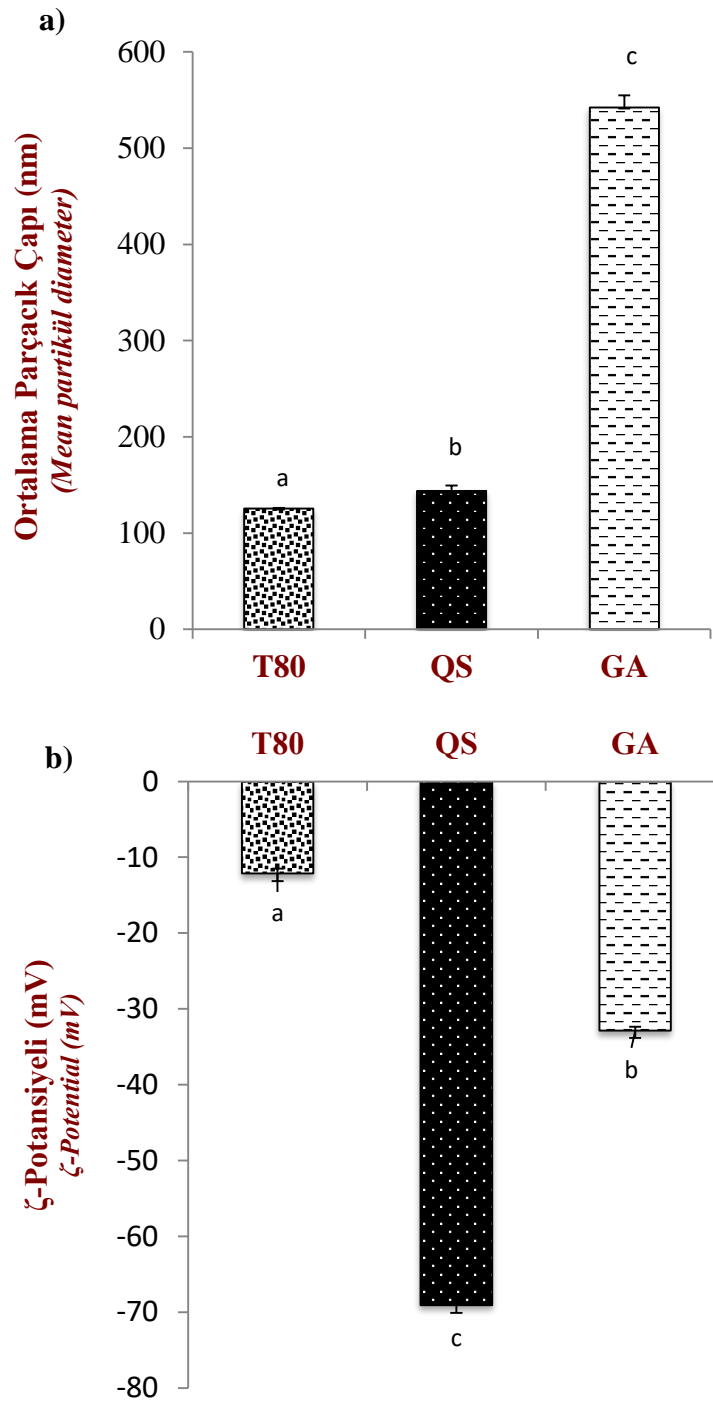
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Partikül boyutu, dağılımı ve Zeta potansiyeli Mikroakışkanlaştırıcı ile homojenize edilerek üretilen tüm emülsiyonların ortalama partikül

boyutları T80, QS ve GA için sırasıyla 125 ± 0.40 nm, 147 ± 0.45 nm ve 542 ± 1.70 nm olarak ölçülmüştür (Şekil 1a). Elde edilen sonuçlara göre en küçük partikül boyutu T80 ile stabilize edilen emülsiyondur. GA gibi polisakkarit yapıdaki emülsifiyerlerin daha kalın ara yüzey oluşturdukları rapor edilmiştir (McClements ve Gumus, 2016). Bu da GA ile emülsifiye edilen emülsiyonların daha büyük partikül boyutuna sahip olmasını açıklamaktadır. Partikül yükü ölçümü sonuçlarına göre tüm emülsiyonların damlacık yükünün negatif olduğu ve büyükten küçüğe sıralandığında ise T80 (-12.15 ± 0.63 mV) < GA (-32.85 ± 0.28 mV) < QS (-69.10 ± 0.14 mV) şeklinde sıralandığı gözlenmiştir (Şekil 1b). Elde edilen sonuçlara göre, en küçük partikül yükü T80 ile stabilize edilen emülsiyonlarda, en büyük partikül yükü ise QS ile stabilize edilen emülsiyonlarda görülmüştür. Non-iyonik sürfaktanlar tarafından stabilize edilen lipit damlacıklarının, sürfaktan ya da yağ içinde serbest yağ asidi mevcudiyetinden veya OH⁻ adsorbsiyonu nedeniyle nötr pH'da negatif bir yüke sahip oldukları bildirmiştir (Chang ve McClements, 2016). T80'de non-iyonik bir yüzey aktif maddedir ve yağ damlacıkları tarafından çok iyi absorbe edilir (Izquierdo vd., 2002). pH 7'de QS ve GA içerdikleri karboksilik asit grupları nedeniyle negatif yüke sahiptir (Bai vd., 2017; Uluata vd., 2015; Yang vd., 2013)

Ortalama damlacık boyutu azaldıkça emülsiyonların daha az bulanık veya şeffaf hale gelmesi beklenir. Damlacık boyutu ışığın dalga boyu ile eşit ya da büyük olduğunda emülsiyonlar opak görünürler. Tam tersi damlacık boyutları ışığın dalga boyutundan küçük olduğunda ise emülsiyonun hafif bulanık ya da şeffaf olması beklenir. T80, QS ve GA ile stabilize edilmiş emülsiyonların opak görünüme sahip olduğu görülmüştür (Şekil 2).

T80, QS ve GA kullanılarak üretilmiş emülsiyonların partikül dağılımları Şekil 3'te gösterilmiştir. Partikül boyutu dağılımları incelendiğinde tüm emülsiyonların düzgün bir partikül boyutu dağılımına sahip olduğu görülmektedir. Bu da emülsiyonların iyi bir fiziksel stabiliteye sahip olduğunun bir göstergesidir.

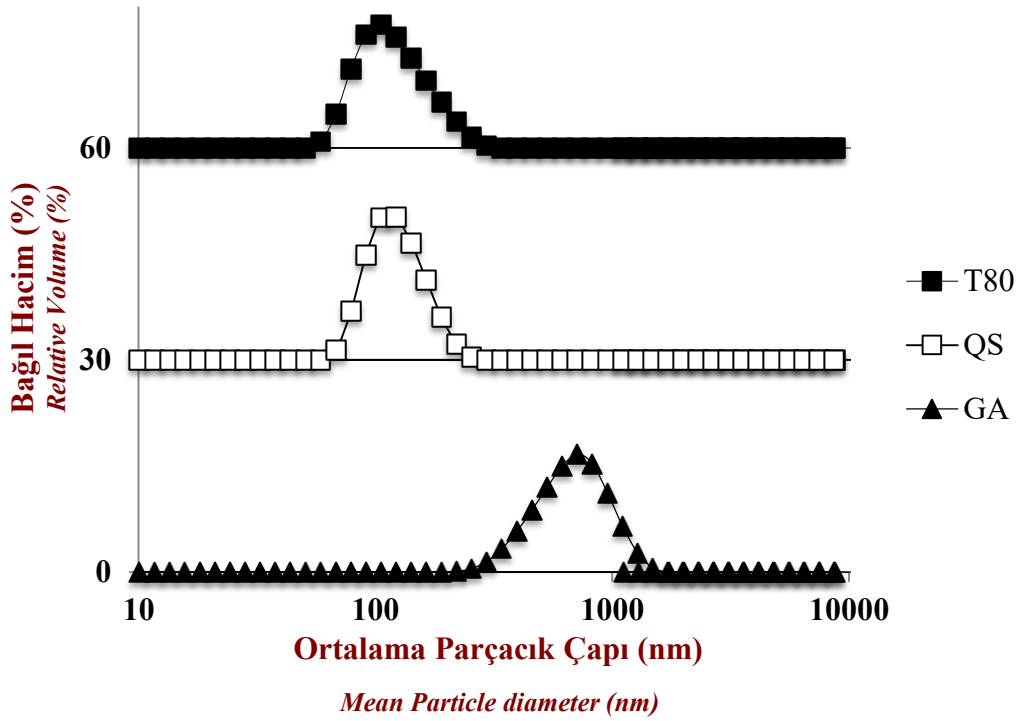


Şekil 1. Sürfaktan türlerinin ağırlıkça %1 Omega-3 yağ asidi içeren sudaki yağ emülsiyonlarının (a) ortalama partikül boyutu (b) zeta potansiyeline etkisi. Aynı sütundaki farklı harfler (a, b, c) ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir (P <0.05).

Figure 1. The effect of emulsifier types on the (a) mean particle diameter (b) zeta potential of oil in water emulsions containing 1 wt% Omega-3 fatty acid homogenized at 20 kpsi. The small letters (a, b, c) on the bars indicate the difference between the samples (p <0.05).



Şekil 2. T80, QS ve GA ile stabilize edilmiş ağırlıkça %5 omega-3 yağ asidi emülsiyonlarının görünümü.
 Figure 2. Appearance of 1 wt% omega-3 fatty acid emulsions stabilized by T80, QS and GA.



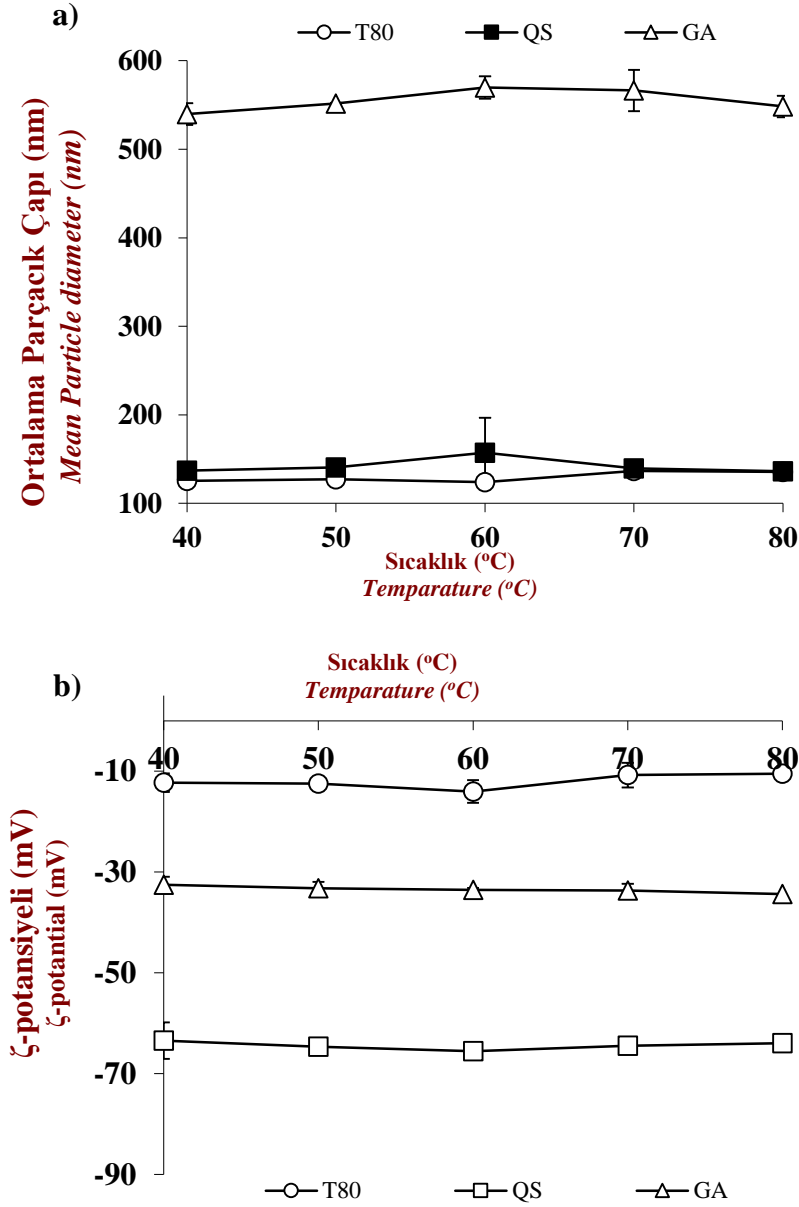
Şekil 3. T80, QS ve GA ile stabilize edilmiş ağırlıkça %1 omega-3 yağ asidi emülsiyonlarının partikül boyutu dağılımları.

Figure 3. Particle size distribution of 1 wt % omega-3 fatty acid emulsions stabilized by T80, QS and GA

Termal stabilite

Sıcaklık değişimi ile emülsiyonların ortalama damlacık büyüklüğünde meydana gelen değişim Şekil 4a'da gösterilmiştir. Bu çalışmada farklı sıcaklıklarda, partikül boyutlarında belirgin bir değişim olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca partikül yükleri incelendiğinde emülsiyonların elektriksel yüklerinde de istatistiksel olarak önemli bir

değişiklik olmadığı görülmüştür (Şekil 4b). Bu da hazırlanan tüm emülsiyonların iyi bir termal stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir. Daha önce de aynı surfaktanlar kullanılarak yapılan çalışmalarda tüm emülsiyonlarda partiküller arasında güçlü bir elektrostatik ve sterik itmenin olduğu belirtilmiştir (Ozturk vd., 2014; Uluata vd., 2015).



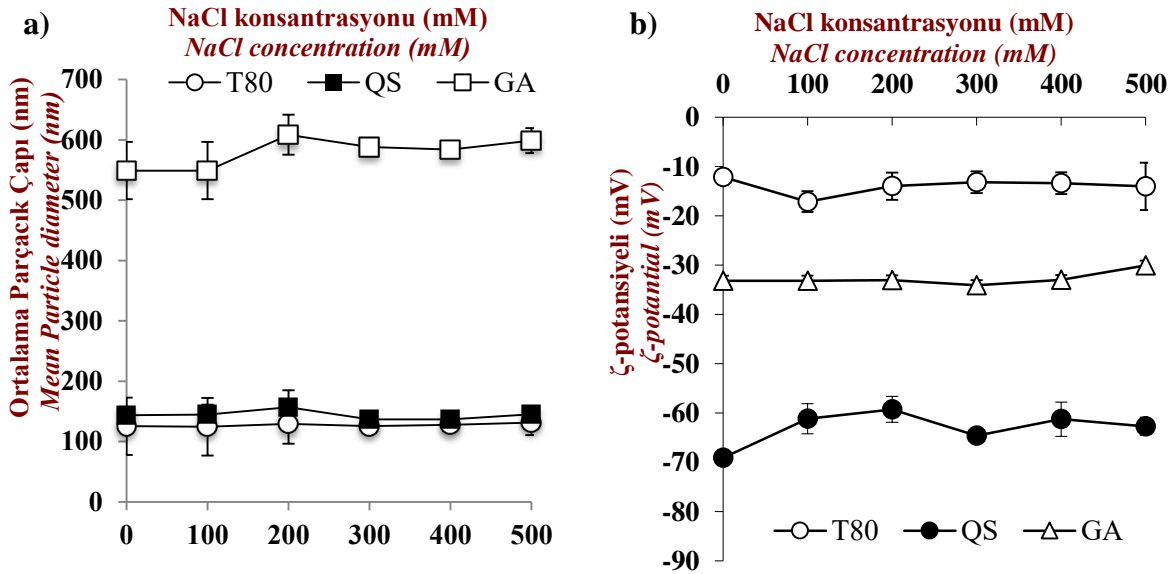
Şekil 4. Sıcaklığın (a) ortalama parçacık çapı (b) zeta potansiyeli üzerindeki etkisi.

Figure 4. Effect of temperature (a) on mean particle diameter (b) zeta potential.

İyonik şiddetin fiziksel stabilite üzerine etkisi
Emülsiyon sistemlerinde iki damlacık arasındaki elektrostatik etkileşimlerin büyüklüğü arttıkça damlacıkların yüzeylerinde karşı iyon birikmesine neden olur. Bu durumda damlacıkların bir araya gelme eğilimi göstermelerine yol açmaktadır. Elektrostatik etkileşimler, emülsiyon partiküllerini çevreleyen pozitif yükteki iyonların konsantrasyonu arttıkça daha da belirgin hale gelmektedir (McClements, 2005). Emülsiyon sistemlerine NaCl ilave edildikçe sulu fazdaki pozitif iyonlar (Na^+), elektrostatik çekim nedeniyle protein yüzeyinde negatif yüklü gruplar (COO^-) etrafında birikir ve böylece net yüklerini daha da azaltır (Charoen vd., 2011; McClements, 2005).

Bu çalışmada başlangıçta da düşük partikül yüklerine sahip olan emülsiyonlara NaCl ilavesi ile

elektrostatik etkileşiminin artması sonucunda emülsiyonların partikül boyutları ve yüklerinde değişimler gözlenmiştir (Şekil 5a ve 5b). T80 ve QS ile kaplı lipit partikülleri içeren emülsiyonların, NaCl ilavesinden sonra partikül büyümesine karşı GA kaplı lipit partiküllerine göre nispeten daha kararlı olduğu bulunmuştur. GA ile stabilize edilmiş emülsiyonlar 100 mM'yi aştığında partikül boyutlarında hafif derecede bir artış olduğu ancak daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında nispeten kararlı olduğu gözlenmiştir. Her üç emülsiyonda artan NaCl konsantrasyonu ile partikül yüklerinde ufak çaplı değişimler olmuştur. Farklı tuz konsantrasyonlarında emülsiyon stabilitesinin değişmemesi bu emülsiyonların farklı gıda sistemlerinde, özellikle içecek sistemlerinde kullanılabilirliklerini göstermektedir.



Şekil 5. İyonik derişimin (a) ortalama parçacık çapı (b) zeta potansiyeli üzerindeki etkisi.
Figure 5. Effect of ionic concentration (a) on mean particle diameter (b) on zeta potential.

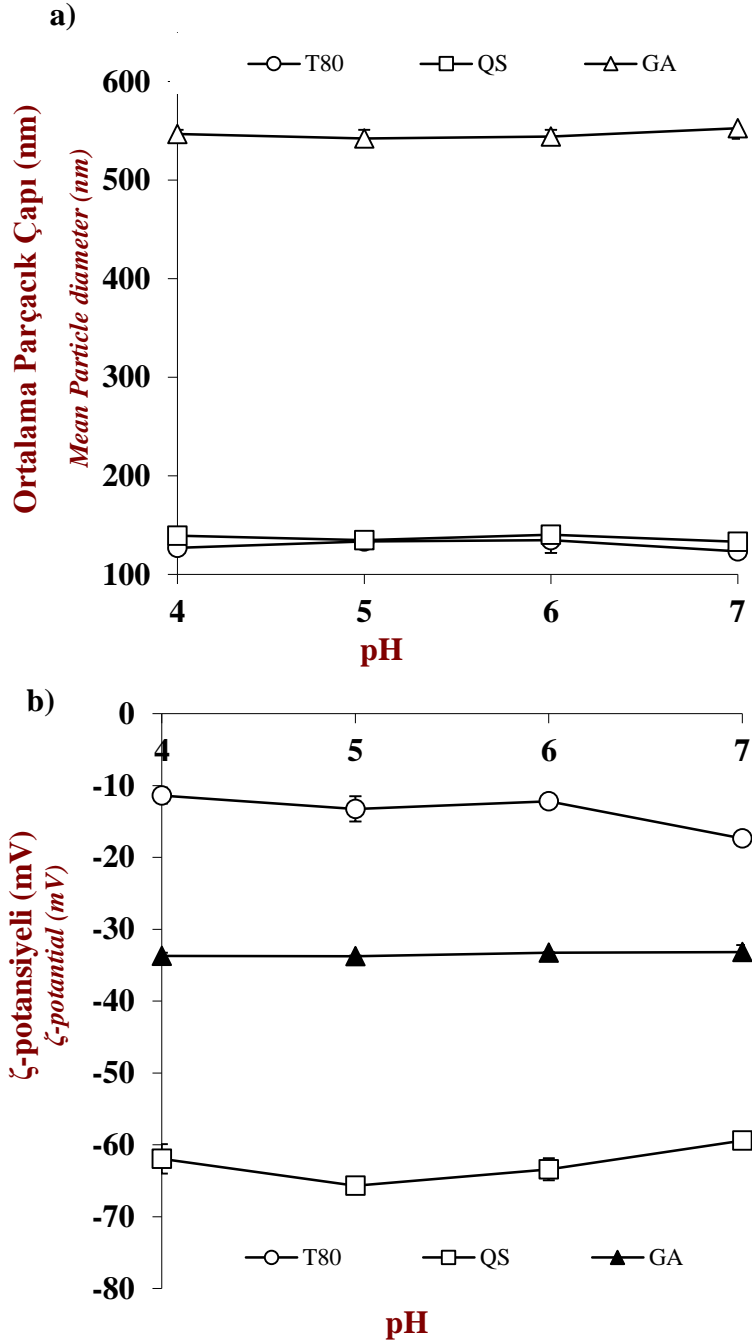
pH stabilitesi

Emülsiyon örneklerinin partikül büyüklüğü ve zeta potansiyeli değerlerinde pH'ya bağlı değişim sırasıyla Şekil 6a ve 6b'de gösterilmiştir. T80, QS ve GA içeren emülsiyonların partikül boyutlarında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik göstermemiştir ($P > 0.05$). Bu durum damlacık birleşmesinin meydana gelmediğini göstermektedir. T80 ile hazırlanmış emülsiyonun

zeta potansiyeli pH arttıkça azalma eğilimi göstermiştir ($P < 0.05$) (Şekil 6b). QS ile hazırlanmış emülsiyonda ise pH azaldıkça önce bir azalma ve daha sonra bir artış gözlenmiştir. pH değerindeki azalma, damlacıkların yüzeyine daha yakın yerlerde daha yüksek pozitif iyon konsantrasyonuna (H^+) yol açmıştır bu durum da partikül yüklerinde artışa neden olmuştur. Wu vd. (2016)'nin başka bir anyonik sürfaktan olan lesitin

ile yapmış olduğu bir çalışmada da bu duruma benzer sonuçlar görülmüştür. GA ile hazırlanmış emülsiyonun partikül yükünde ise herhangi bir değişim olmamıştır. GA polisakkarit yapısındadır ve lipit damlacıklarının etrafında kalın bir

hidrofilik kaplama olarak görev yapmaktadır. Bu sayede de güçlü bir sterik itme gücüne sahiptir ve pH değişimlerinden çok daha az etkilenme eğilimindedir (McClements ve Gumus, 2016).



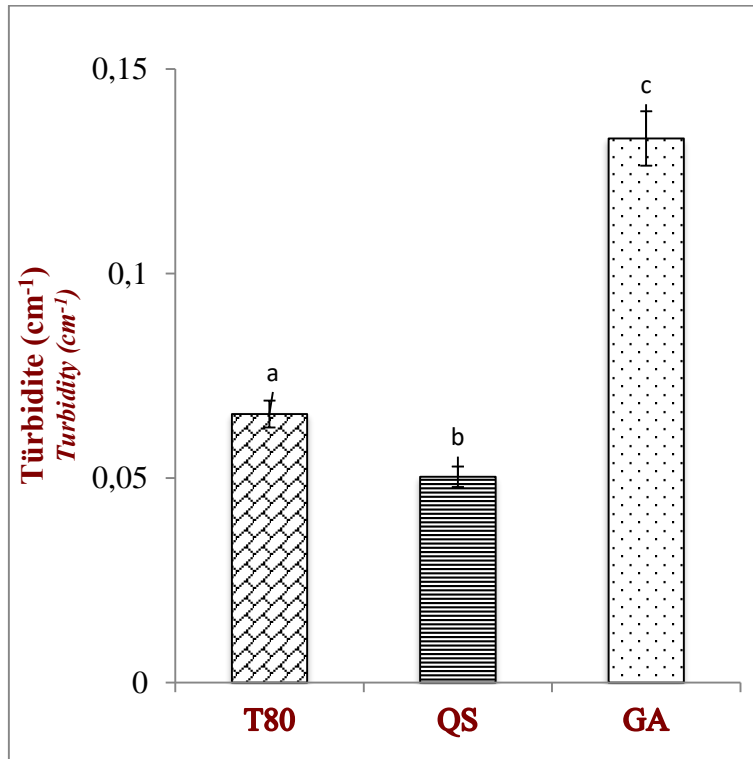
Şekil 6. pH'nin (a) ortalama parçacık çapı (b) zeta potansiyeli üzerindeki etkisi.

Figure 6. Effect of pH (a) on mean particle diameter (b) on zeta potential.

Bulanıklık (Türbidite)

Emülsiyonların türbidite sonuçları Şekil 7'de verilmiştir. Emülsiyonlar aynı konsantrasyonlarda sürfaktan içermesine rağmen T80 ve QS içeren emülsiyonlar, GA içerenlere göre daha küçük partikül boyutuna sahip olduğundan daha az bulanıklığa sahiptir. Işık dalgalarının emülsiyondaki damlacıklar tarafından saçılması emülsiyonun bulanıklığı, opaklığı ve açıklığı gibi karakteristik özelliklerini belirlediğinden

emülsiyonun arzu edilebilirliğini etkiler. Emülsiyonların bulanıklığı, mevcut damlacıkların konsantrasyonu ve boyutuna bağlıdır (McClements, 2005). Daha küçük partikül boyutuna sahip T80 ile stabilize edilen emülsiyonda bulanıklık QS ile stabilize edilen emülsiyona göre daha yüksektir. Bu durum partikül dağılımı grafiklerinden görüldüğü gibi emülsiyonların polidispers yapıda olmaları ile açıklanmaktadır.



Şekil 7. T80, QS ve GA ile stabilize edilmiş ağırlıkça %1 omega-3 yağ asidi emülsiyonlarının bulanıklığı.

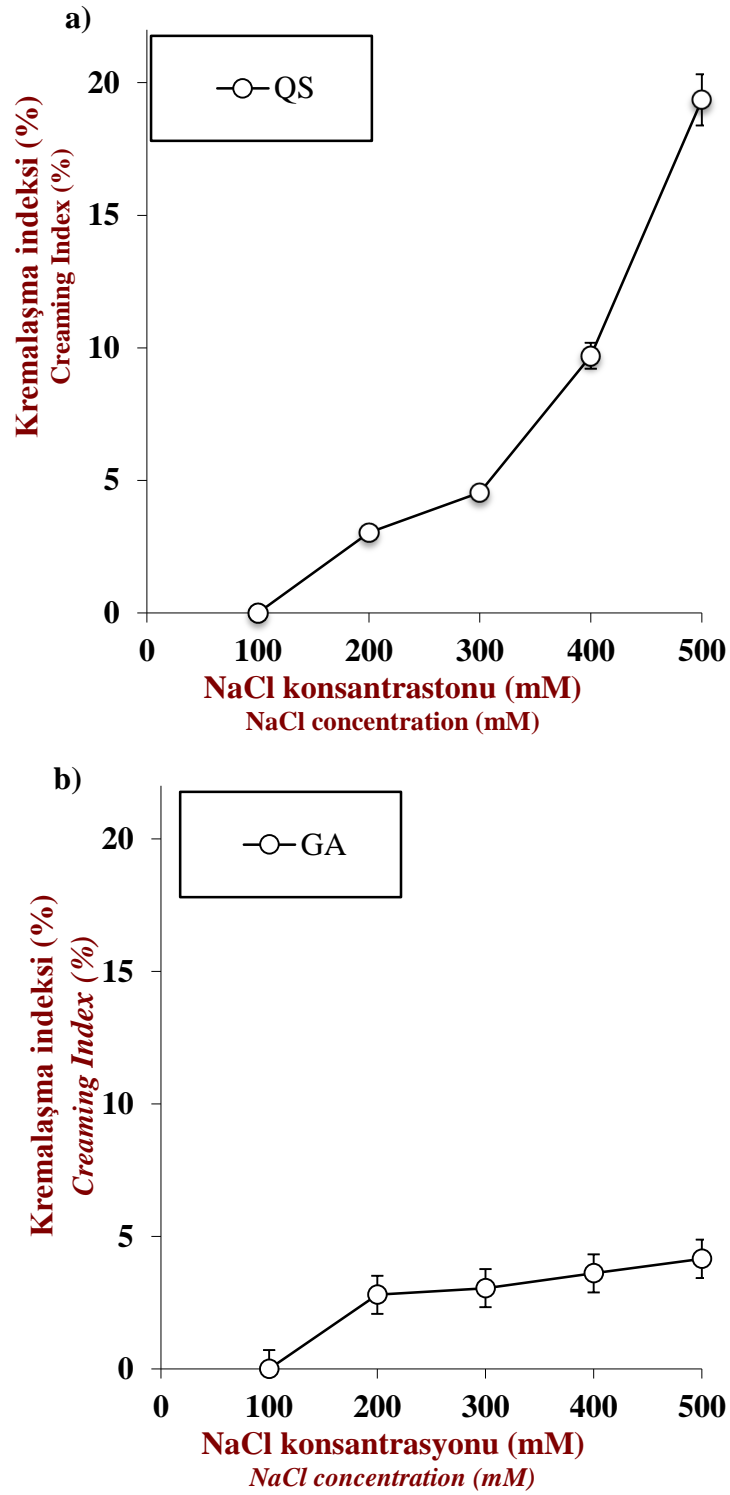
Aynı sütundaki farklı harfler (a, b, c) ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir ($P < 0.05$).

Figure 7. (a) Turbidity of 1 wt % omega-3 fatty acid emulsions stabilized by T80, QS and GA. Small letters (a, b, c) on bars represent the difference between samples ($P < 0.05$).

Kremalaşma indeksi

QS ve GA ile hazırlanmış emülsiyonlarda iyonik şiddet değiştirildikçe partikül boyutunda istatistiksel olarak önemli bir artış meydana gelmemesine rağmen yüzeyde kremalaşma gözlenmiştir ($P > 0.05$). Bu kremalaşma partikül yüklerindeki dalgalanma ile ilişkilendirilmiştir. İyonik şiddet stabilitesi bölümünde de bahsedildiği gibi NaCl konsantrasyonu arttıkça emülsiyon damlacıkları etrafındaki pozitif yük

artması ve partiküllerin birbirine yaklaşması beklenmektedir (Charoen vd., 2011; McClements, 2005). Bu nedenle QS ve GA ile hazırlanmış emülsiyonlarda NaCl konsantrasyonları arttıkça üst katmanda krem tabakasının oluşmasının nedeninin yük dengesindeki değişimden kaynaklandığı tahmin edilmektedir (Şekil 8a ve 8b). T80 ile hazırlanmış emülsiyonlarda kremalaşma gözlenmemiştir.



Şekil 8. QS ve GA ile stabilize edilmiş ağırlıkça %1 omega-3 yağ asidi emülsiyonlarının kremleşme indeksi.

Figure 8. Creaming index of 1 wt % omega-3 fatty acid emulsions stabilized by QS and GA.

SONUÇ

Bu çalışmada elde edilen emülsiyonlar nanoemülsiyon boyutundadır ve en küçük partikül boyutuna sahip emülsiyonlar T80 ile stabilize edilen emülsiyonlardır. Nanoemülsiyonların partikül dağılımlarının düzenli olması, iyi bir fiziksel stabiliteye sahip olduklarını göstermektedir. Başlangıçta farklı sürfaktanlar (T80, QS, GA) kullanılarak stabilize edilen nanoemülsiyonlar küçük ve anyonik lipid partiküllerine sahip olsa da farklı koşulların değiştirilmesinin nanoemülsiyonların stabilitesi üzerindeki etkileri incelendiğinde QS ile stabilize edilmiş nanoemülsiyonlarda pH ve sıcaklık değişimlerinin etkisi görülmezken, NaCl konsantrasyonu arttırıldıkça emülsiyon stabilitesinde azalma olmuştur. Yine iyonik şiddet değişimine bağlı olarak QS ve GA ile stabilize edilmiş nanoemülsiyonlarda partikül yükünde hafif bir dalgalanma olmasına bağlı olarak 200 mM NaCl konsantrasyonundan itibaren kremalaşma görülmüştür. Farklı pH, sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarında diğer nanoemülsiyonlara göre en çok GA ile stabilize edilmiş emülsiyonların etkilendiği tespit edilmiştir ancak emülsiyon stabilitesinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmamıştır ($P > 0.05$). En küçük partikül boyutuna sahip olan T80 ile stabilize edilmiş emülsiyonların ise farklı koşullardan etkilenmediği görülmüştür. Sonuç olarak, Omega-3 yağ asidince zengin olan balık yağı ile zenginleştirilmiş fiziksel olarak stabil nanoemülsiyonlar hem sentetik (T80) hem de doğal (QS ve GA) sürfaktanlar kullanılarak üretilebilir. Bu çalışma Omega-3 yağ asidince zengin olan balık yağı ile zenginleştirilmiş gıda ürünlerin hazırlanmasına katkı sağlayacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların, bu çalışmada başka kişi ya da kurum ve kuruluşlar ile bir çıkar çatışması olmadığını bildirmektedir.

YAZARLARIN KATKISI

Zeynep Merve ABACI, laboratuvar çalışmalarını, literatür taramasını ve makale hazırlığını, Sibel ULUATA araştırma planı, literatür taraması, metodların seçimi, finansman desteği ve makale hazırlığına katkı sağlamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma FLY-2019-1348 nolu proje ile İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Acosta, E. (2009). Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. In *Current Opinion in Colloid and Interface Science* (Vol. 14, Issue 1, pp. 3–15). <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2008.01.002>

Anton, N., Vandamme, T. F. (2009). The universality of low-energy nano-emulsification. *International Journal of Pharmaceutics*, 377(1–2), 142–147. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.05.014>

Bai, L., Liu, F., Xu, X., Huan, S., Gu, J., McClements, D. J. (2017). Impact of polysaccharide molecular characteristics on viscosity enhancement and depletion flocculation. *Journal of Food Engineering*, 207, 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.021>

Chang, Y., McClements, D. J. (2016). Influence of emulsifier type on the in vitro digestion of fish oil-in-water emulsions in the presence of an anionic marine polysaccharide (fucoidan): Caseinate, whey protein, lecithin, or Tween 80. *Food Hydrocolloids*, 61, 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.047>

Charoen, R., Jangchud, A., Jangchud, K., Harnsilawat, T., Naivikul, O., McClements, D. J. (2011). Influence of Biopolymer Emulsifier Type on Formation and Stability of Rice Bran Oil-in-Water Emulsions: Whey Protein, Gum Arabic, and Modified Starch. *Journal of Food Science*, 76(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01959.x>

David Julian McClements. (2005). Food Emulsions Principles, Practices, and Techniques. In *Journal of Chemical Information and Modeling*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Deckelbaum, R. A. R. and R. J. (2007). Sources of the very-long-chain unsaturated omega-3 fatty acids: Eicosapentaenoic acid and

- docosahexaenoic acid. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 10(2), 123–128.
- Din, J. N., Harding, S. A., Valerio, C. J., Sarma, J., Lyall, K., Riemersma, R. A., Newby, D. E., Flapan, A. D. (2008). Dietary intervention with oil rich fish reduces platelet-monocyte aggregation in man. *Atherosclerosis*, 197(1), 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2007.04.047>
- Haahr, A., Jacobsen, C. (2008). Emulsifier type, metal chelation and pH affect oxidative stability of n-3-enriched emulsions. *European Journal of Lipid Science and Technology*. (Vol. 110). 949–961. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800035>
- Helland, I. B., Smith, L., Saarem, K., Saugstad, O. D., Drevon, C. A. (2003). Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics*, 111(1). <https://doi.org/10.1542/peds.111.1.e39>
- Izquierdo, P., Esquena, J., Tadros, T. F., Dederen, C., Garcia, M. J., Azemar, N., Solans, C. (2002). Formation and stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method. *Langmuir*, 18(1), 26–30. <https://doi.org/10.1021/la010808c>
- Maki, K. C., Yurko-Mauro, K., Dicklin, M. R., Schild, A. L., Geohas, J. G. (2014). A new, microalgal DHA- and EPA-containing oil lowers triacylglycerols in adults with mild-to-moderate hypertriglyceridemia. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 91(4), 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2014.07.012>
- McClements, D. J., Decker, E. A., Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*, 72(8), 109–124. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x>
- McClements, David Julian. (2013). Edible lipid nanoparticles: Digestion, absorption, and potential toxicity. *Progress in Lipid Research*, 52(4), 409–423. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.04.008>
- McClements, David Julian, Gumus, C. E. (2016). Natural emulsifiers — Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance. *Advances in Colloid and Interface Science*, 234, 3–26. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.03.002>
- McClements, David Julian, Rao, J. (2011). Food-Grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, Biological fate, and Potential Toxicity. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 51, Issue 4, pp. 285–330). <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.559558>
- Ozturk, B., Argin, S., Ozilgen, M., McClements, D. J. (2014). Formation and stabilization of nanoemulsion-based vitamin e delivery systems using natural surfactants: Quillaja saponin and lecithin. *Journal of Food Engineering*, 142, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.06.015>
- Patch, C. S., Brown, I. L. (2008). Long-chain omega-3 PUFAs and their role in healthy ageing. *Chemistry in Australia*, 75(10), 14–16.
- Pottel, L., Lycke, M., Boterberg, T., Foubert, I., Pottel, H., Duprez, F., Goethals, L., Debruyne, P. R. (2014). Omega-3 fatty acids: Physiology, biological sources and potential applications in supportive cancer care. *Phytochemistry Reviews*, 13(1), 223–244. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9309-1>
- Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H., McClements, D. J. (2011). Comparison of biopolymer emulsifier performance in formation and stabilization of orange oil-in-water emulsions. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(1), 47–55. <https://doi.org/10.1007/s11746-010-1658-y>
- Riquelme, N., Zúñiga, R. N., Arancibia, C. (2019). Physical stability of nanoemulsions with emulsifier mixtures: Replacement of tween 80 with quillaja saponin. *Lwt*, 111(May), 760–766. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.067>
- Ruxton, C. H. S., Reed, S. C., Simpson, M. J. A., Millington, K. J. (2004). The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: A review of the evidence. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 17(5), 449–459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2004.00552.x>

- Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2018). Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9, 345–381. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-111317-095850>
- Skall Nielsen, N., Debnath, D., Jacobsen, C. (2007). Oxidative stability of fish oil enriched drinking yoghurt. *International Dairy Journal*, 17(12), 1478–1485. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.04.011>
- Sriprabhom, J., Luangpituksa, P., Wongkongkatap, J., Pongtharangkul, T., Suphantharika, M. (2019). Influence of pH and ionic strength on the physical and rheological properties and stability of whey protein stabilized o/w emulsions containing xanthan gum. *Journal of Food Engineering*, 242(August 2018), 141–152. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.08.031>
- Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., Solans, C. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108–109, 303–318. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.023>
- Tur, J. A., Bibiloni, M. M., Sureda, A., Pons, A. (2012). Dietary sources of omega 3 fatty acids: Public health risks and benefits. *British Journal of Nutrition*, 107(SUPPL. 2). <https://doi.org/10.1017/S0007114512001456>
- Uluata, S., McClements, D. J., Decker, E. A. (2015). Physical Stability, Autoxidation, and Photosensitized Oxidation of ω -3 Oils in Nanoemulsions Prepared with Natural and Synthetic Surfactants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(42), 9333–9340. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03572>
- Vellido-Perez, J. A., Ochando-Pulido, J. M., Brito-de la Fuente, E., Martinez-Ferez, A. (2021). Novel emulsions-based technological approaches for the protection of omega-3 polyunsaturated fatty acids against oxidation processes – A comprehensive review. *Food Structure*, 27(December 2020), 100175. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2021.100175>
- Walker, R., Decker, E. A., McClements, D. J. (2015). Development of food-grade nanoemulsions and emulsions for delivery of omega-3 fatty acids: Opportunities and obstacles in the food industry. In *Food and Function* (Vol. 6, Issue 1, pp. 42–55). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c4fo00723a>
- Walker, R. M., Gumus, C. E., Decker, E. A., McClements, D. J. (2017). Improvements in the formation and stability of fish oil-in-water nanoemulsions using carrier oils: MCT, thyme oil, lemon oil. *Journal of Food Engineering*, 211, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.05.004>
- Waraho, T., McClements, D. J., Decker, E. A. (2011). Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 22, Issue 1, pp. 3–13). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.003>
- Yang, Y., Leser, M. E., Sher, A. A., McClements, D. J. (2013). Food Hydrocolloids Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: *Food Hydrocolloids*, 30(2), 589–596. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.08.008>

MİKROYEŞİLLİKLER: BESİNSEL İÇERİĞİ, SAĞLIK ÜZERİNE ETKİSİ, ÜRETİMİ VE GIDA GÜVENLİĞİ

**Sefa Işık^{1,2*}, Hasan Işık¹, Zeynep Aytemiş³, Senem Güner⁴,
Aziz Aksoy⁵, Bülent Çetin², Zeynal Topalcengiz⁶**

¹Muş Alparslan Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Muş, Türkiye

²Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

³Muş Alparslan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Güvenliği Anabilim Dalı, Muş, Türkiye

⁴Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye

⁵Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Malatya, Türkiye

⁶Muş Alparslan Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Muş, Türkiye

Geliş / Received: 24.03.2022; Kabul / Accepted: 04.07.2022; Online baskı / Published online: 28.07.2022

Işık, S., Işık, H., Aytemiş, Z., Güner, S., Aksoy, A., Çetin, B., Topalcengiz, Z. (2022). Mikroyeşillikler: besinsel içeriği, sağlık üzerine etkisi, üretimi ve gıda güvenliği. *GIDA* (2022) 47 (4) 630-649 doi: 10.15237/ gida.GD22041

Işık, S., Işık, H., Aytemiş, Z., Güner, S., Aksoy, A., Çetin, B., Topalcengiz, Z. (2022). Microgreens: nutritional content, health effect, production, and food safety. GIDA (2022) 47 (4) 630-649 doi: 10.15237/ gida.GD22041

ÖZ

Günümüzde sağlıklı ve organik gıdalara olan talep giderek artmaktadır. Bu gıdalardan biri olan mikroyeşillikler; sahip oldukları canlı renk, hassas yapı, yüksek aroma ve özellikle içerdikleri biyoaktif bileşenlerden dolayı sağlık üzerinde olumlu etkileri nedeniyle son yıllarda tüketicilerin ilgisini çekmektedir. Mikroyeşillikler çeşitli sebze, tahıl ve bitki tohumlarının çimlenmesinden sonra ilk gerçek yapraklarının oluşumunu takiben hasat edilen küçük boyutlardaki bitkilerdir. Mikroyeşilliklerin üretimi, genellikle gurme mutfaklarda kullanılmak üzere endüstriyel ve ev ölçekli olarak yaygınlaşmaktadır. Mikroyeşilliklerin raf ömürlerinin kısa olması ve çabuk bozulabilmesi nedenleriyle bu ürünlere hasat sonrası muhafaza ve depo koşullarında farklı prosedürler uygulanabilmektedir. Üretim şartları ve genellikle çiğ olarak tüketilmeleri nedeniyle olası bir kontaminasyon durumunda, mikroyeşillikler gıda kaynaklı hastalıklara yol açabilecek potansiyel riskli gıdalar olarak görülmektedir. Bu derlemede; üreticiler, tüketiciler ve araştırmacılar için önem taşıyan mikroyeşilliklerin besinsel içerikleri, sağlığa faydaları, yetiştirilme koşulları, muhafaza yöntemleri, kontaminasyon riskleri ve gıda güvenliğine dair bilgiler güncel araştırmalar ışığında kapsamlı bir şekilde sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Mikroyeşillikler, filizler, fonksiyonel gıda, biyoaktif bileşikler, gıda güvenliği, hidroponik sistem

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: s.isik@alparslan.edu.tr

☎: (+90) 436 249 4949/2521

☎: (+90) 436 249 1025

Sefa Işık; ORCID no: 0000-0002-1480-7230

Hasan Işık; ORCID no: 0000-0002-1783-9019

Zeynep Aytemiş; ORCID no: 0000-0002-2989-8788

Senem Güner; ORCID no: 0000-0002-6697-5535

Aziz Aksoy; ORCID no: 0000-0002-9683-6691

Bülent Çetin; ORCID no: 0000-0002-4679-2555

Zeynal Topalcengiz; ORCID no: 0000-0002-2113-7319

MICROGREENS: NUTRITIONAL CONTENT, HEALTH EFFECT, PRODUCTION, AND FOOD SAFETY

ABSTRACT

Demand for healthy and organic foods have been enourmously increasing. Microgreens are small-sized various vegetables, cereal and plant seeds harvested after the formation of the first true real leaves on germinated plants. Microgreens attract consumers attention with via their vibrant bright color, fragile structure and positive effects on health, especially with high amounts of bioactive components. Industrial and household production of microgreens have been increasing as a new gourmet culinary ingredient. The short shelf life and fast degradation of the microgreens requires the application of different procedures in the optimization of storage methods and conditions after the harvest. Food safety risks associated with the consumption of microgreens differ from mature vegetables due to growth conditions. In this review; The nutritional content, health benefits, growing conditions, storage methods, contamination risks and safety of microgreens, which are important for producers, consumers and researchers, have been comprehensively reviewed in the light of current research.

Keywords: Microgreens, sprout, functional food, bioactive compounds, food safety, hydroponic system

GİRİŞ

Mikroyeşillikler, gastronomik olarak mutfak ürünlerinin albenisini ve tadını arttıran ürünlerdir. Bu ürünler çeşitli sebze, bitki veya tahıl tohumlarının çimlenmesi ve ilk gerçek yapraklarının oluşması sonrası hasat edilen yeşilliklerdir. Canlı renk ve lezzete sahip olmalarının yanı sıra biyoaktif bileşikleri, vitaminleri ve mineralleri yüksek oranda muhteva etmeleri nedeniyle mikroyeşillikler “fonksiyonel gıda” olarak kabul edilmektedir (Treadwell vd., 2010; Kou vd. 2014; Delian vd., 2015; Marchioni vd., 2021). Son yıllarda sağlıklı beslenme amacıyla bu ürünlere olan ilgi artmaktadır (Le vd., 2020). Mikroyeşillikler aynı zamanda, vejetaryen ve vegan beslenmede diyetleri çeşitlendirebilecek ve zenginleştirebilecek bir ürün grubunu temsil etmektedir (Di Gioia vd., 2015). Olgun türlerine kıyasla daha kolay ve kısa sürede (7-21 gün) yetişmesi, insektisit gerektirmemesi, daha az su ihtiyacının olması, kolay hasat edilmesi ve taşınması gibi üretim avantajlarına sahiptir (Weber, 2017). Bu sebeplerle mikroyeşillikler üreticileri için fırsatlar sunmaktadır (Marchioni vd., 2021).

Son yıllarda tüketimi artan mikroyeşillikler, genellikle çiğ olarak tüketilmektedir. Bu nedenle mikroyeşilliklerin üretimde kullanılan sudan, ekipmanlardan ve görevli personelin yetersiz hijyeninden kaynaklı olası bir kontaminasyonda

gıda kaynaklı hastalıklara neden olma potansiyeline sahiptir (Kyriacou vd., 2016). Evlerde, küçük ve büyük boyutlu işletmelerde üretimi yapılan, buna bağlı olarak farklı risklere sahip olan mikroyeşilliklerin (Işık vd., 2020) gıda güvenliği açısından değerlendirilmesi önem taşımaktadır. Bu derlemenin amacı; mikroyeşilliklerin özellikleri, kullanım alanları, üretimi, besinsel içeriği ile sağlık üzerindeki etkileri hakkında bilgi vermek ve mikroyeşillikleri gıda güvenliği açısından değerlendirmektir.

MİKROYEŞİLLİK NEDİR?

Yeşillikler, tüketim tercihlerine göre farklı gelişme evrelerinde hasat edilerek tüketilebilmektedir. Tohumdan oluşan ilk çimlenmiş yapıya “filiz” denilmektedir. Filizler; gerçek yaprak içermeyen, tomurcuk halinde satılan ve tohumun çimlenmesinden hemen sonra tüketilen ürünlerdir. Mikroyeşillikler ise; çeşitli sebze, bitki veya tahıl tohumlarının çimlenmesi sonrası ilk gerçek yaprakların oluşmasıyla hasat edilen yeşilliklerdir (Xiao vd., 2012). Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) verilerine göre ilk kez 1980’li yıllarda menülerde yer almaya başlamış, son yıllarda ise daha yaygın hale gelmiştir (Treadwell vd., 2010). Mikroyeşillikler; Türkçe kaynaklarda “mikrofilizler”, “bebek yeşillikleri” veya “mikro sebzeler” olarak adlandırılabilir. Sebze, tahıl, aromatik ve otsu bitki tohumlarından üretilen bu

olgunlaşmamış küçük boyutlardaki yeşillikler, filizlerden daha olgun, bebek yeşilliklerinden ise daha genç olarak tüketilen bitkilerdir. Dünyada hızla yaygınlaşan mikroyeşillikler Türkiye’de de ilgi görmeye başlamıştır. Çeşitli yenilebilir sebze ve bitki türlerinin spesifik bir sınıfı olan (Xiao vd., 2012; Sun vd., 2013; Pinto vd., 2015) mikroyeşilliklere giderek artan ilginin temelinde besleyici ve duyuşal özelliklerinin yanında sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı fonksiyonel gıda özelliği taşıması da yatmaktadır. Birçok çalışma mikroyeşilliklerin tohum ve olgun türlerine göre daha yoğun tat ve aromanın yanı sıra daha yüksek oranda vitamin, mineral ve biyoaktif bileşenleri içerebileceğini göstermiştir

(Janovská vd., 2010; Treadwell vd., 2010; Xiao vd., 2012). İçerdikleri besin bileşenleri açısından konsantre ürün olarak düşünülebilen bu ürünler, türlerine ve tipik boyutlarına göre sınıflandırılarak pazarlanmaktadır (Treadwell vd., 2010).

Mikroyeşillik ve Filizlerin Karşılaştırması

Mikroyeşillikler ve filizler, benzer şekilde tam olgunlaşmadan tüketilen ürünler olmalarına rağmen birbirlerinden yetiştirme şekli, yetiştirme ortamı, yaprak oluşumu, tüketilen kısımları, ışık ihtiyacı ve gübre kullanımı gibi faktörler açısından farklılıklara sahiptirler. Filizler ve mikroyeşillikler arasındaki farklılıklar Çizelge 1’de detaylı olarak gösterilmiştir.

Çizelge 1. Mikroyeşillikler ve filizlerin karşılaştırması (Murphy ve Pill, 2010; Mir vd., 2017; Treadwell vd., 2010)

	Mikroyeşillik	Filiz
Yetiştirme süresi (gün)	7-21	3-5
Yetiştirme ortamı	Topraklı ve topraksız (hidroponik)	Topraksız
Yaprak oluşumu	Gerçek yaprak	Sadece tohum yaprakları
Tüketimi	Kökler haricindeki kısımlar	Tüm kısımlar
Işığa ihtiyaç	Var	Yok
Gübre kullanımı	Gerekebilir	Yok

Mikroyeşillikler gerçek yaprakların oluşmasına kadar türlere bağlı olarak genellikle 2.5-7.6 cm yüksekliğe sahip olup filizlere göre daha olgun ürünlerdir (Xiao vd., 2012). Bebek yeşillikleri ise mikroyeşilliklere kıyasla daha büyük olup genellikle 10 cm uzunluğunda hasat edilmektedirler. Hem bebek yeşilliklerin hem de mikroyeşilliklerin herhangi bir yasal tanımı henüz yoktur. Mikroyeşillikler, bebek yeşilliklerden farklı olarak kesilmeden hasat edilip satılabilme avantajına da sahiptirler (Yetim vd., 2010; Renna vd., 2017). Mikroyeşillikler, filiz ve bebek yeşilliklerine kıyasla lezzet ve besin değerleri açısından daha fazla talep edilmektedir (Yetim vd., 2010; Renna vd., 2017).

Kullanım Alanları

Mikroyeşillik yetiştiriciliği başta seracılar, sebze ve meyve fidan üreticileri, restoran işletmecileri, ev kadınları olmak üzere çoğu kişinin ilgi alanına girmektedir. Bu durum yeni ekonomik fırsatlar sunan bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır. Evsel üretim dışında ticari olarak üretilen

mikroyeşillikler, restoranlara ve lüks marketlere pazarlanmaktadır. Genellikle yemeklerde, çorbalarda, salatalarda, sandviçlerde, garnitürlerde ve tatlılarda; renk, doku, tat ve lezzeti geliştirmek amacıyla kullanılmaktadırlar. Ayrıca içecekleri, özel yemekleri ve salataları süslemek için yenilebilir bir garnitür olarak da kullanılabilir (Treadwell vd., 2010; Xiao vd., 2012; Chandra vd., 2012; Kou vd., 2013; Pinto vd., 2015; Renna vd., 2017; Choe vd., 2018; Riggio vd., 2019).

MİKROYEŞİLLİKLERİN BESİNSEL İÇERİĞİ VE SAĞLIK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Bitkilerin sekonder metabolik aktivitesi sonucu meydana gelen, sağlık üzerinde olumlu etkileri olan biyoaktif bileşiklere “fitokimyasallar” denilmektedir (Visioli vd., 2000; Sevindik, 2018). Mikroyeşillikler yapılarında bulunan yüksek miktardaki fitokimyasallar sayesinde çeşitli hastalıkların önlenmesinde etkili olabilmektedir (Xiao vd., 2012; Choe vd., 2018; Wojdylo vd.,

2020). Dejenaratif hastalıkları önleyici, antialerjenik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antitrombotik (kanın pıhtılaşmasını önleyici), antikarsinojen, antiaterojen (damar sertliğini önleyici), antiülser ve vasodilatör (kan damarlarını genişletici) ajan olarak görev yapan biyoaktif bileşiklerin (Weisburger, 2000; Cemeroğlu, 2004; Halliwell, 2007) yanı sıra çeşitli vitaminleri (Singh vd., 2021) ve mineralleri (de la Fuente vd., 2019) bünyesinde bulundurması nedeniyle mikroyeşillikler, beslenmede önemli bir yere sahiptir. Ayrıca cilt ve göz sağlığına iyi gelmesi, vücudun genel hormonal dengesini iyileştirmeye yardımcı olması (Singh vd., 2021), kilo artışı engellemenisi (Huang vd., 2016) ve anti-besin olan oksalat seviyesinin az olması (Ghoora vd., 2020) mikroyeşilliklerin önemini arttırmaktadır.

Vitamin İçeriği

Vitaminler, enzimler veya proteinlerin yapısal bileşenleri için kofaktörler olarak çeşitli fizyolojik ve biyolojik süreçlerde önemli bir rol oynayan küçük miktarlarda gerekli mikro besinlerdir (Rajagopal vd., 2022). Epidemiyolojik araştırmalar insanlarda vitamin eksikliğine bağlı olarak çeşitli hastalıkların meydana gelebileceğini göstermiştir (Combs ve McClung, 2017). Literatürde mikroyeşilliklerin besinsel içeriği üzerine yapılan çalışmalar sınırlı olmakla birlikte bu bitkilerin çeşitli vitaminleri (K1, E, C) bulundurabileceği bildirilmiştir (Xiao vd., 2012; Choe vd., 2018; Singh vd., 2021; Zou vd., 2021).

K1 vitamini olarak da bilinen filokinon, kanın pıhtılaşması ve kemiğin yeniden şekillenmesi için gereklidir (Choe vd., 2018). Daikon turpu ve kırmızı amaranth mikroyeşillikleri yüksek düzeyde K vitamini içermektedir (Singh vd., 2021). 25 mikroyeşillik türünde yapılan çalışmada özellikle yeşil sebzelerde bol bulunan K1 miktarının en yüksek kırmızı amaranthta ve en düşük macenta ıspanağında olmak üzere 0.6-4.1 µg/g arasında değiştiği belirtilmiştir. Ayrıca filokinonu yüksek oranda içeren mikroyeşilliklerin yeşil ve parlak kırmızı renge, düşük oranda içerenlerin ise sarı renge sahip oldukları bildirilmiştir (Xiao vd., 2012). *Brassica rapa* subsp. *chinensis* var. *parachinensis* bitkisi üzerine yapılan bir araştırmada K1 vitamin miktarının mikroyeşillik, fide ve yetişkin

dönemlerinde sırasıyla 377 µg, 433 µg, 363 µg/100 g şeklinde değiştiği belirlenmiştir. Literatürde mikroyeşillik dönemindeki K1 vitamin olgun haline göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Choe vd., 2018). Amerika Birleşik Devletleri Tarım Dairesi (USDA) Ulusal Besin Veri Tabanı'na göre, olgun amaranth, fesleğen ve kırmızılaha sırasıyla 1.14, 0.41 ve 0.04 µg/g filokinon konsantrasyonlarına sahiptir (Haytowitz vd., 2002).

E vitamini ailesinin bir parçasını oluşturan tokoferoller, güçlü ve doğal antioksidanlardır. Bu bileşenler belirli kanser türlerine, oksidatif ve inflamatuvar hastalıklara karşı koruma gibi sağlık açısından faydalı etkilere sahiptir (Flakelar vd., 2017). 25 mikroyeşillik türünde yapılan çalışmada doğada tokoferol ve tokotrienolün olmak üzere 4 izomer formu (α , β , γ ve δ) bulunan E vitamini en yüksek, yeşil daikon turpunda α (87.4 mg/100 g) ve γ (39.4 mg/100 g) tespit edilmiştir (Xiao vd., 2012). *Brassica* familyasına ait 30 mikroyeşillik üzerine yapılan başka bir araştırmada, tüm mikroyeşilliklerde α -tokoferol içeriğinin γ -tokoferolden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar çalışmada en yüksek α -tokoferol içeriğinin (4.1 mg/100 g TA (taze ağırlık)) kırmızı turp, en düşük α -tokoferol içeriğinin (1.6 mg/100 mg TA) savoy lahanası mikroyeşilliklerinde olduğunu; en yüksek γ -tokoferol içeriğinin (1.5 mg/100 g TA) yakut turp, en düşük γ -tokoferol içeriğinin ise mizuna ve kırmızılaha mikroyeşilliklerinde olduğunu bildirmiştir (Xiao vd., 2019). Ayrıca diğer araştırmacılar da daikon turpunun yanı sıra kırmızı amaranth mikroyeşillikleri (Singh vd., 2021) ve brokoli mikroyeşilliklerinin de (Jang vd., 2015) yüksek E vitamini içerdiğini bildirmiştir. Koley (2016), bazı lipofilik vitaminlerin mikroyeşilliklerde olgun türlerine göre çok daha yüksek olduğunu, E vitamininin ise olgun türlerine göre 40 kat daha yüksek tespit edildiğini belirtmiştir. Zou vd. (2021) ise *Brassica rapa* subsp. *chinensis* var. *parachinensis* bitkisinin (choy sum) mikroyeşillik, fide ve olgun hallerinde meydana gelen tokoferol (α -tokoferol ve γ -tokoferol) miktarındaki değişimin önemli olmadığını belirlemiştir. Bu durum gelişme dönemlerine bağlı olarak

bileşenlerin miktarında meydana gelen değişimin türden türe değişebileceğini göstermektedir.

C vitamini olarak bilinen askorbik asit (AA) insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Choe vd., 2018). 25 çeşit mikroyeşillikdeki toplam askorbik asit (TAA) değerinin en yüksek kırmızılahanada olduğu ve mikroyeşilliklerdeki TAA içeriğinin 20.4-147.0 mg/100 g arasında değiştiği belirtilmiştir (Xiao vd., 2012). Turp mikroyeşilliklerinde TAA miktarının 106.3 mg/kg olduğu rapor edilmiştir (Xiao vd., 2015). *Brassicaceae* üyesi olan 30 mikroyeşillik üzerine yapılan bir araştırmada en yüksek TAA içeriğinin (120.8 mg/100 g) karnabahar, en düşük (32.9 mg/100 g) ise biber mikroyeşilliklerinde olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada en yüksek AA konsantrasyonu (89.3 mg/100 g TA) brokoli ve karnabahar, en düşük AA konsantrasyonu (18.9 mg/100 g TA) ise Çin lahanası mikroyeşilliklerinde bulunmuştur (Xiao vd., 2019). C vitamini ve TAA içeriğinin olgun halinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Xiao vd., 2012). Ancak yapılan başka bir çalışmada ise kale bitkisi ve hardal mikroyeşilliklerinin olgun hallerine göre daha az C vitamini içerdiği rapor edilmiştir (de la Fuente vd., 2019). Ebert vd. (2015)'de amaranth bitkisinin olgun halinde filizlerden daha fazla C vitamini olduğunu belirtmiştir. Mikroyeşilliklerde olan ancak filiz oluşumunda gerçekleşmeyen fotosentetik aktivitenin, mikroyeşilliklerdeki AA seviyesinin filizlere oranla daha yüksek olmasına neden olduğu düşünülmektedir (Smirnoff ve Wheeler, 2000).

Mineral İçeriği

Mikroyeşillikler mineral açısından zengin kaynaklardır (Xiao vd., 2016; de la Fuente vd., 2019). Bu açıdan mikroyeşillikler, insan beslenmesinde gerekli olan temel mineralleri içermesi nedeniyle önem taşımaktadır (White ve Broadley, 2009). Mikroyeşilliklerdeki besin öğeleri çeşide göre değişmekle birlikte çoğu potasyum açısından zengin bir kaynaktır (Singh vd., 2021). *Brassica* familyasından 30 mikroyeşillik üzerine yapılan bir çalışmada, tüm mikroyeşillik çeşitlerinin en fazla potasyum olmak üzere fosfor, kalsiyum, magnezyum ve sodyumu içerdiği tespit

edilmiştir. Potasyum oranı en yüksek (387 mg/100 g) wasabide, en düşük (176 mg/100 g) ise daikon turpunda tespit edilmiştir. Doğal gübreleme yöntemiyle yetiştirilen brokoli mikroyeşilliklerindeki mineral miktarı (P, K, Mg, Mn, Zn, Fe, Ca, Na, ve Cu) olgun türlerine göre 1.15-2.32 kat daha fazladır (Xiao vd., 2016, Weber, 2017). Amaranth bitkisinin ortalama Fe ve Zn içeriğinin filizlerde mikroyeşilliklere kıyasla daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Ebert vd., 2015). Mikroyeşilliklerde ağır toksik metallere olan kadmiyum ve kurşun ise tespit edilmemiştir (Xiao vd., 2016). Yapılan çalışmalara göre mikroyeşilliklerin besin içerikleri farklılık gösterse de çoğu özellikle potasyum, demir, çinko, magnezyum ve bakır açısından zengindir.

Biyoaktif Bileşik İçeriği

Epidemiyolojik kanıtlar, içerdikleri biyoaktif bileşenler sayesinde düzenli olarak *Brassicaceae* üyelerinin tüketiminin kanser, kardiyovasküler hastalıklar (KVH) ve diğer dejeneratif hastalıkların görülme sıklığını azalttığını göstermektedir (Ferrarini vd., 2011; Xiao vd., 2019; Le vd., 2020). Biyoaktif bileşiklerin antiinflamatuvar özellikleri sayesinde sağlık üzerinde olumlu etkileri vardır. Brokoli filizleri ve mikroyeşillikleri, olgun hallerinden daha yüksek oranda biyoaktif bileşik içermeleri sayesinde yüksek antiinflamatuvar etki göstererek doğal savunma sistemlerini uyarabilmekte ve kronik hastalık riskini azaltabilmektedir (Kopsell vd., 2014; Le vd., 2020). Mikroyeşillikler, ülseratif kolit ve Crohn hastalığı gibi inflamatuvar bağırsak hastalıklarının önlenmesinde ve tedavisinde de potansiyele sahiptir (Subedi vd., 2019).

Yapısındaki bileşenler sayesinde mikroyeşillikler, hücre lipitlerini ve proteinlerini okside ederek DNA'ya zarar veren reaktif oksijen türlerinin azaltılmasında doğrudan; inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde ise dolaylı olarak etkileri bulunmaktadır (Mittal vd., 2014, Choe vd., 2018).

Bitkilerin fitokimyasal bileşik çeşitliliği ve miktarı, hem bitki türü gibi genetik şartlara hem de çimlenme, depolama ve işleme zamanı gibi çevresel koşullarla birlikte yetiştirme koşullarına göre değişebilmektedir (Kyriacou vd., 2016;

Bulgari vd., 2017; Samuolienė vd., 2019; Kyriacou vd., 2020; Wojdylo vd., 2020). *Brassica* familyasına ait 30 çeşit mikroyeşillik fitokimyasal ve antioksidan kapasitesinin belirlendiği çalışmada, çeşitler arasında farklılıklar bulunmasına rağmen bu mikroyeşilliklerin iyi bir antioksidan ve fitokimyasal kaynağı olduğu tespit edilmiştir (Xiao vd., 2019). Fitokimyasal seviyesi gelişme evrelerine göre değişerek filiz evresinden tam olgunlaşma evresine doğru azalmaktadır. Bu nedenle mikroyeşillikler yetişkin bitkilere oranla polifenol (fenolikler, flavonoidler), pigment ve antioksidan madde gibi fitokimyasal bileşikler daha yüksek seviyede ve daha geniş çeşitlilikte içerebilmektedir. (Mir vd., 2017; Ilakiya vd., 2020; Turner vd., 2020; Singh vd., 2021).

Fenolik bileşikler (polifenoller), flavonoidler, fitosteroller, fitoestrogenler, izotiyosiyanatlar, saponinler, sülfidler, sülfurafanlar, karotenoitler, kumarinler, tokoferoller, terpenler, tanenler, terpenoidler, alkaloidler ve indoller en çok bilinen fitokimyasal bileşiklerdir (Fidan ve Dündar, 2007). Fenolik bileşikler esas olarak antioksidan, antikanserojenik, antimikrobiyal, antiinflamatuvar aktiviteye sahip ve yaşlanmayı önleyici etkilerle ilişkilendirilen metabolitlerdir (Kumar ve Goal, 2019). Zengin bir polifenol kaynağı olan mikroyeşilliklerin tüketilmesinin KVH riskinin azalmasına katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Tangney ve Rasmussen, 2013). Yapılan araştırmalar mikroyeşilliklerin trigliserit, LDL ve kolesterol seviyesini düşürebileceğini; kilo artışı azaltabileceğini, aynı zamanda hiperkolesterolemiye karşı koruma sağlayabileceğini göstermektedir (Jiang vd., 2016; Huang vd., 2016). Bitki kaynaklı polifenollerin bilişsel işlevleri iyileştirmekle birlikte alzheimer dahil belirli nörodejeneratif hastalıkların başlamasını önlemede ve geciktirmede önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (Villaflora vd., 2012; Malar ve Devi, 2014; Teçza ve Žylińska, 2016; Thenmozhi vd., 2016).

Flavonoidlerin, flavonların, antosiyanidinlerin ve glukozinolatların kansere karşı önlem ve tedavide etkili olduğuna dair birçok araştırma vardır (Christensen vd., 2012; Geybels vd., 2013 Hui vd., 2013; Chen vd., 2014; Woo vd., 2014; Rigalli vd.,

2016; Zhou vd., 2016; Le vd., 2020). Antioksidanlarca zengin olan yeşil yapraklı sebzelerin günlük tüketiminin artırılması ile tip 2 diyabet riskinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Carter, 2010). Benzer şekilde çemen otu mikroyeşilligi ve nane yaprağının antidiyabetik potansiyel sergilediği görülmüştür (Wadhawan vd., 2017). Brokoli filizlerinin obezite ve diyabeti hafifletebileceği belirtilmiştir (Xu vd., 2018). Mikroyeşillikler, filizlerden daha yüksek antidiyabetik ve antikolinergik aktivite sergilemektedir (Wojdylo vd., 2020).

Brassicaceae üyesi mikroyeşilliklerde, 164 farklı polifenolik bileşik (30 antosiyanin, 105 flavonol glikozitler ve 29 hidrokisisinamik asit ve hidrokisibenzoik asit türevleri) tespit edilmiştir (Sun vd. 2013). Mercimeğin yüksek antioksidan, karabuğdayın ise dolaylı olarak antioksidan etkiye sahip bazı fenolik bileşiklerce zengin olduğu bildirilmiştir (Kowitcharoen vd., 2021). Brokoli mikroyeşilliklerinin ise yüksek polifenol içeriğine ve iyi bir antioksidan yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (Marchioni vd., 2021). Xiao vd. (2019) tarafından *Brassicaceae* üyesi 30 mikroyeşillik üzerine yapılan bir araştırmada, en yüksek toplam fenolik madde içeriğine (811.2 mg GAE (gallik asit ekvivalent)/100 g TA) yakut turp mikroyeşilliklerinde, en düşük fenolik madde içeriğine (88.6 mg GAE/100 g TA) ise yayla teresi mikroyeşilliklerinde rastlanılmıştır. Aynı çalışmada toplam fenolik madde içeriği Çin gül turpunda 357.4, kırmızılahana 306.7, mor alabaşta 300.5, daikon turpunda 298.7, brokolide ise 282.8 mg GAE/100g TA olarak belirlenmiştir. Othman vd. (2022) toplam fenolik madde miktarının yeşil ve kırmızı fesleğende sırasıyla 642.64, 873.15 mg GAE/g KA (kuru ağırlık), yeşil ve kırmızı mizunada ise sırasıyla 349.5, 474.29 mg GAE/g KA olduğunu bildirmişlerdir.

Glukozinolatlar, lahana ve brokoliye özgü sekonder bitki metabolitleridir. *Brassica* familyasına ait 30 mikroyeşillik üzerine yapılan bir araştırmada, en yüksek toplam glukozinolat içeriğinin (535.5 μ mol/100 g TA) Çin gül turpu, en düşük toplam glukozinolat içeriğinin (1.0 μ mol/100 g TA) ise kırmızı hardal mikroyeşilliklerinde olduğu bildirilmiştir (Xiao

vd., 2019). Aynı çalışmada toplam glukosinolat içeriği kırmızı komatsuna mikroyeşilliklerinde 397.1 µmol/100 gr TA, kırmızıturp mikroyeşilliklerinde 393.0 µmol/100 g TA ve tatsoi mikroyeşilliklerinde 377.8 µmol/100 g TA olarak tespit edilmiştir. Mikroyeşilliklerdeki glukosinolat miktarı gelişmeye bağlı olarak azalabilmektedir. Yapılan bir çalışmada kırmızılahana mikroyeşilliklerindeki glukosinolat içeriğinin (17.15 µmol/g), olgun kırmızılahanadaki glukosinolat içeriğinden (8.30 µmol/g) daha yüksek olduğu bulunmuştur (Huang vd., 2016).

Karotenoidler, bitkilere açık sarıdan kırmızıya kadar değişen renkleri vermekle beraber antioksidan aktivitesine de sahip olan pigmentlerdir (Ötleş ve Yeşim, 1997). Bunlardan beta-karoten, bitkilere kırmızı-turuncu rengi veren pigment olup A vitamininin öncül maddesidir. Brokoli, karnabahar ve bezelye mikroyeşillikleri yetişkin hallerine kıyasla daha fazla karotenoid içermektedir (Klopsch vd., 2018; Xiao vd., 2019). Bunun yanı sıra amarant bitkisinde Provitamin A, α-karoten ve β-karoten miktarının, filizlerden mikroyeşilliklere doğru önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Ebert vd., 2015). *Brassica* familyasına ait türlerden mercimek mikroyeşillliği yüksek klorofil ve karotenoid içeriğine sahiptir. Bu pigmentler açısından mikroyeşillikler, filizlerinden daha zengin kaynaklardır (Kowitcharoen vd., 2021). 25 tür mikroyeşillik örneğinde yapılan çalışmada en yüksek β-karoten oranına (12.1 mg/100 g) kırmızı kuzukulağında rastlanılmıştır. Kırmızılahana mikroyeşilliklerindeki β-karoten miktarı (11.5 mg/100 g) (Xiao vd., 2012), olgun kırmızılahana yapraklarındaki β-karoten miktarından (0.044 mg/100 g) (Singh vd., 2006) daha yüksektir. Brokoli mikroyeşillliği yüksek karotenoid ve klorofil içeriğine sahiptir (Marchioni vd., 2021). Lutein ve zeaksantin pigmentleri göz sağlığı için büyük öneme sahiptir (Ma ve Lin, 2010). 25 tür mikroyeşillik içerisinde en yüksek toplam lutein ve zeaksantin miktarı kişnişte (10.1 mg/100 g TA), en düşük (1.3 mg/100 g TA) ise patlamış mısır sürgünlerinde görülmüştür (Xiao vd., 2015). Aynı şekilde bitkilerde doğal olarak bulunan violaksantin pigmenti de en yüksek kişnişte (7.7

mg/100 g), en düşük (0.9 mg/100 g) patlamış mısır sürgünlerinde tespit edilmiştir (Xiao vd., 2012).

Diğer Besin Öğeleri ve Kuru Ağırlığı

Mikroyeşilliklerin kuru ağırlıkları üzerine yapılan bir çalışmada, ticari olarak üretilen mikroyeşilliklerin kuru ağırlık yüzdelерinin %4.6 ila %10.2 aralığında değişim gösterdiği belirtilmiştir. Buna göre en yüksek kuru ağırlık yüzdesi (%10.2) altın bezelye mikroyeşillğinde, en düşük ise (%4.6) kırmızı pancar mikroyeşillğinde tespit edilmiştir (Xiao vd., 2012). Biyoaktif bileşikler ve antioksidanlar açısından zengin olan mikroyeşillikler düşük enerjiye sahip gıdalardır (Ghoora vd., 2020; Wojdylo vd., 2020). *Brassicaceae* üyesi 14 tür mikroyeşillik üzerine yapılan bir çalışmada, bu gıdaların düşük kalori (20.22 ila 53.43 kcal/100 g) ve düşük yağ (0.15 ila 0.66 g/100 g) içeriğine sahip olduğu görülmüştür (Kowitcharoen vd., 2021). Yonca mikroyeşilliklerinin, diğer bitkilerden daha yüksek miktarlarda oleik ve linoleik asitler gibi doymamış yağ asitlerine sahip olduğu bildirilmiştir (Sangronis ve Machado, 2007). Ayrıca düşük şeker ve düşük glisemik indeks ile karakterize edilmişlerdir (Wojdylo vd., 2020).

MİKROYEŞİLLİK ÜRETİMİ

2020 yılında 1.4 milyar dolardan fazla pazar büyüklüğüne sahip mikroyeşilliklerin 2028 yılına kadar 3.8 milyar dolara yakın pazar büyüklüğüne ulaşarak, %13.1'lik yıllık bileşik büyüme gerçekleştireceği beklenmektedir (Anonim, 2020). Olgun türlerinden farklı olarak filizler ve mikroyeşillikler genellikle seralarda ve yüksek tünellerde ticari ölçekte üretildiği gibi bu ürünlerin ev tipi üretimi de mevcuttur (Treadwell vd., 2010; Taormina vd., 1999; Kyriacou vd., 2016). Ev tipi üretimde mikroyeşillikler az miktarlarda, saksı ya da yayvan plastik kaplarda yetiştirildiği için ticari üretime göre daha kolaydır. Ticari olarak mikroyeşillik yetiştiriciliğinde ise kalite ve gıda güvenliği açısından çeşitli planlama ve uygulamalar gerekmektedir (Treadwell vd., 2010).

Mikroyeşillikler farklı yöntemlerle yetiştirilebilmektedir. Bu amaçla 3-5 cm yüksekliğe sahip tepsi şeklindeki plastik kaplara

yetiştirme materyali konularak ekim gerçekleştirilmekte ve üretim bu kaplar içinde yapılabilmektedir. Diğer yöntem ise, yetiştirme ortamı olarak kullanılacak materyalin, bir kanal içine veya tezgâh (ahşap, plastik, alüminyum, galvanizli demir) üzerine yerleştirilmesi sonrası ekim yapılarak üretimdir. Bu iki yöntem mikroyeşillik üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Di Gioia vd., 2015).

Mikroyeşillik yetiştiriciliğinde tohumun çimlenmesini takip eden süreçte öncelikle kotiledon oluşmakta, ilerleyen safhada ise gerçek yapraklar meydana gelmektedir. Böylece yaklaşık 2.5-7.6 cm (1-3 inç) yüksekliğine ulaşan mikroyeşillikler, tüketilmek amacıyla köklerin hemen üzerinden hasat edilmekle birlikte (Xiao vd., 2012; Sun vd., 2013; Reed, 2018) yetiştirildiği tepsiler veya kapların içerisinde kesilmeden de satılabilmektedir (Xiao vd., 2014a; Renna vd., 2017).

Gelişme Koşulları

Mikroyeşillik üretiminde tür seçimi, tohum ekim oranı, yetiştirme ortamı, gübreleme ve aydınlatma gibi çeşitli faktörlere dikkat edilmesi gerekmektedir (Kyriacou vd., 2016; Renna vd., 2017).

Tür seçimi

Mikroyeşillik üretiminde tür seçimi, yetiştirilecek ürünün tüketici açısından tamamen kabul edilebilir yüksek albeniye ve lezzete sahip olması açısından kritik önem taşımaktadır (Xiao vd., 2015; Renna vd., 2017). Günümüzde 80-100 kadar bitki çeşidinin mikroyeşillik olarak kullanıldığı bildirilmekle beraber (Treadwell vd., 2010) mikroyeşilliklerin üretimi için hemen hemen her sebze tohumu kullanılabilir (Xiao vd., 2019). En çok üretilen mikroyeşillik türleri *Brassicaceae*, *Asteraceae*, *Chenopodiaceae*, *Lamiaceae*, *Apiaceae*, *Amarillydaceae*, *Amaranthaceae* ve *Cucurbitaceae* üyesi türlerdir (Kyriacou vd., 2016). Ancak ticari mikroyeşillik türlerinin çoğu *Brassicaceae* üyesi bitki veya otlardır (Xiao vd., 2019). Ticari olarak 25 çeşit mikroyeşillik üretilmektedir. Bunlar: roka, boğa kan pancarı, kereviz, Çin gül turp, kişniş, garnet amaranth (horozibiği), altın bezelye dalları, yeşil fesleğen,

yeşil daikon turp, macenta ıspanağı (kırmızı ıspanak), mizuna, opal fesleğen, opal turp, bezelye dalları, tere, patlamış mısır sürgünleri, alabaş, mor hardal, kırmızı pancar, kırmızılahana, kırmızı hardal, kırmızı orach (dağ ıspanağı), kırmızı kuzukulağı, kuzukulağı ve vasabidir (Xiao vd., 2012). Ayrıca sebzelerin biyoaktif bileşen içeriğindeki çeşitlilikten dolayı farklı besin içeriğine sahip mikroyeşillik tüketmek isteyen tüketiciler için ticari tohum şirketleri, çeşitli türler içeren belirli ürün karışımları sunmaktadır (Kyriacou vd., 2016).

Tohum ekim oranı

Mikroyeşilliklerin gelişmesinde ekim yapılacak alandaki tohum miktarı, birim alandan elde edilecek verim açısından önemlidir. Yetiştiriciler, birim alandan daha fazla ürün sağlamak amacıyla tohum yoğunluğunu arttırmak isteyebilirler. Ancak tohum yoğunluğunun artmasına bağlı olarak uzun gövde oluşumu, hastalık riskinde artış ve sürgün kuru ağırlığında meydana gelen azalma gibi sorunlarla karşılaşılacağı için uygun oranlarda tohumlamanın yapılması gerekmektedir (Treadwell vd., 2010). Uygun oranda ekim yapılmadığı takdirde, mikroyeşillik sürgünü için gerekli olan su ve besin gibi kısıtlı kaynaklar, gelişim açısından rekabeti de beraberinde getirmektedir. Kırmızı pancar (Murphy vd., 2010) ve roka (Murphy ve Pill, 2010) mikroyeşillikleri üretiminde tohum ekim oranı üzerine yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar birbirlerini destekler niteliktedir. Her iki çalışmada da tohum ekim oranı arttırıldıkça mikroyeşillik sürgünlerinin yoğunluğunda artış olmasına rağmen sürgünlerin taze ağırlığında azalma meydana gelmiştir. Ayrıca kırmızı pancar mikroyeşilliklerinde tohumlama oranı arttıkça gerçek yaprakların uzunluğunda azalma tespit edilmiştir.

Yetiştirme ortamı

Mikroyeşillikler için kullanılan yetiştirme ortamları, ürünün kalitesi ve üretimin sürdürülebilirliği açısından önemlidir. Kaliteli bir ürün elde etmek için ideal yetiştirme ortamı toplam hacmin %85'inden fazla gözenekli yapı, %55-70'i oranında su tutma kapasitesi ve %20-30'u oranında havalandırma seviyesi özelliklerine sahip olmalıdır (Abad vd., 2001; Kyriacou vd.,

2016). Seçilen yetiştirme ortamının patojen mikroorganizma içermemesi ve mikrobiyal kontaminasyonundan korunması gerekmektedir (Natvig vd., 2002; Renna vd., 2017).

Mikroyeşillikler, topraklı ortamlarda yetiştirilebildiği gibi hidroponik (topraksız) ortamlarda da yetiştirilebilmektedir (Di Gioia vd., 2015). Hidroponik ortamlarda mikroyeşillikleri yetiştirmek için turba, vermikülit, perlit, torf, taş yünü, tekstil elyafı matı gibi sentetik elyafların yanı sıra biyolojik olarak parçalanabilen pamuk ve jüt gibi ortam ve karışımları kullanılmaktadır (Janovská vd., 2010; Treadwell vd., 2010; Xiao vd., 2015; Di Gioia vd., 2017).

Gübreleme

Toprak yerine kullanılacak herhangi bir materyale, bitkinin yaşaması için gerekli olan tüm unsurları içeren bir besin çözeltisi ilave edilerek yetiştirme yapılabilmektedir (Di Gioia vd., 2015). Bitkilerin gelişmesi için gerekli olan bileşenleri ihtiva eden gübreler uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Gübre olarak kalsiyum klorür (CaCl_2), kalsiyum nitrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), amonyum nitrat (NH_4NO_3) gibi bileşikler veya bunların kombinasyonları kullanılabilmektedir (Treadwell vd., 2010; Kyriacou vd., 2016) Geç büyüyen mikroyeşillikler için de (havuç, dereotu, kereviz vb.) 80 mg/L azottan hazırlanan besin çözeltisi ile düşük oranlarda gübre uygulaması yapılabilmektedir (Treadwell vd., 2010). Gübrelemenin mikroyeşilliklerin gelişimi üzerine etkisinin incelendiği bazı çalışmalarda, belirli konsantrasyonlarda hazırlanan gübrelerin ekim öncesi ve ekim sonrası uygulanmasının mikroyeşilliklerin taze ağırlıklarında %21-%144 oranında artış sağladığı belirlenmiştir (Murphy ve Pill, 2010; Murphy vd., 2010). Brokoli mikroyeşilliklerine hasat öncesi CaCl_2 uygulamasının biyokütlede %50'den fazla artış sağladığı ve glukosinolat konsantrasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir (Kou vd., 2014; Sun vd., 2015).

Aydınlatma

Mikroyeşillikler çoğunlukla kapalı ortamlarda kullanılan çeşitli aydınlatma sistemleri ile yetiştirilirler (Turner vd., 2020). Işığın kaynak tipi,

dalga boyu, atım sıklığı, türü ve şiddeti; mikroyeşilliklerin gelişimini, fitokimyasalların oluşumunu ve birikimini etkileyebilmektedir (Delian vd., 2015; Carvalho ve Folta, 2016; Vaštakaitė vd., 2017; Jones-Baumgardt vd., 2019; Turner vd., 2020). Bitkisel üretimde; metal halojenür, floresan, akkor, yüksek basınçlı sodyum (HPS) ve gelişmiş ışık yayan diyot (LED) yaygın olarak kullanılan lambalardır (Agarwal ve Gupta, 2016; Kyriacou vd., 2016). Brokoli mikroyeşilliklerinde mavi (470 nm) LED ışığının kısa süreli kullanımı sürgün dokusunda, karotenoidlerde, glukosinolatlarda, çeşitli makro ve mikro elementlerde %29.3-%65.1 aralığında değişen oranlarda artış sağlamıştır (Kopsell ve Sams, 2013). Mikroyeşilliklere %16-33 oranında mavi LED ışığı uygulamasının karotenoid pigmentini artırdığı belirlenmiştir (Samuolienė vd., 2017). Kırmızı (638 nm ve 665 nm'de) LED ışığı altında yetiştirilen bazı mikroyeşilliklerdeki antioksidan madde miktarındaki artışın dalga boyu ve şiddetine bağlı olduğu görülmüştür (Samuolienė vd., 2016).

MİKROYEŞİLLİKLERDE GIDA GÜVENLİĞİ

Tüketiciler, taze ürünleri mikrobiyolojik olarak güvenli algılamaktadır (Yu vd., 2018). Bununla birlikte taze ürünler hem hasat öncesi hem de hasat sonrası aşamalarda patojenik mikroorganizmalarla kontamine olabilmektedir (Machado-Moreira vd., 2019). Mikroyeşillikler ve filizler genellikle çiğ olarak tüketildiklerinden dolayı, olası bir kontaminasyonda gıda kaynaklı hastalıklara yol açabilecek potansiyel risk unsurlarıdır (Kyriacou vd., 2016). 1995'ten 2006 yılına kadar, ürünlerin tüketim miktarındaki artış %9 olmasına rağmen, üretime bağlı gıda kaynaklı hastalıklarda %38,6'lık bir artış meydana gelmiştir (CDC, 2016). 1998'den 2008'e kadar ortaya çıkan salgınla ilişkili hastalıklardan elde edilen veriler, gıda kaynaklı hastalıkların %46'sına sebze ve meyvelerin neden olduğu ve yapraklı sebzelerin bu gıda kaynaklı hastalıkların %22'sinden sorumlu olduğu belirtilmiştir (Painter vd., 2013). Filizlerin dâhil olduğu taze tarımsal ürünlerle ilgili salgınlar ABD, İngiltere ve dünyanın diğer bölgelerinde belgelenmiştir (Waje ve Kwon, 2007; Nagar ve Bandekar, 2009;

Goodburn ve Wallace, 2013). 1973 ve 2005 yıllarında, filizlerin dünyadaki 37 gıda kaynaklı salgından sorumlu olduğu bilinmektedir (Zhang vd., 2011). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi, filizlerle ilişkili 43 gıda kaynaklı salgını rapor etmiştir (EFSA, 2011). 2011 yılında Almanya'da *Escherichia coli* O104:H4 ile kontamine olmuş filiz tüketimine bağlı olarak 4000 kişi enfekte olmuştur (Frank vd., 2011). ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC)'nin (2016) raporuna göre 2000 ile 2014 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) filizlerin tüketimine bağlı olarak 42 salgın meydana gelmiş ve *Salmonella* bu salgınların 29'una neden olmuştur. 2004'ten 2012'ye kadar Avrupa Birliği'nde gıda kaynaklı salgınlara en fazla *E. coli*'nin, ikinci olarak ise *Salmonella*'nın neden olduğu bildirilmiştir (Callejon vd., 2015). ABD'de 1995 ile 1999 yılları arasında gerçekleşen 9 ticari filiz salgınından 7'sinin *Salmonella*'nın farklı serotiplerinden, 2'sinin de *E. coli* O157:H7 ve *E. coli* O157:NM'den kaynaklandığı bildirilmiştir (NACMCF, 1999). Crowe vd. (2015), *S. enterica*, *Listeria monocytogenes* ve shiga toksin-üreten *E. coli*'nin salgınlara neden olduğunu belirtmiştir.

Gıda kaynaklı salgın ve hastalıklara neden olmasından dolayı CDC filizleri yüksek riskli gıdalar olarak kategorize etmiştir (NACMCF, 1999). Filizler, mikroyeşillik ve bebek yeşilliklerinden farklı olarak gıda kaynaklı salgınlarda sık sık rol oynamaktadır (Ebert, 2012; Xiao vd., 2014b). Bunun nedeni filizlerin yetiştirildiği sıcaklık ve nemli koşulların *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* gibi patojen mikroorganizmaların gelişimi için elverişli ortama sahip olması ve filizlerin kökleriyle tüketilebilir olmasıdır (Dechet vd., 2014; Xiao vd., 2014b; CDC, 2016; Baker vd., 2019; Lacumin ve Comi, 2019). Filizlerin üretim ve dağıtım aşamaları için çok sayıda ulusal ve uluslararası standart bulunmasına rağmen, mikroyeşilliklerin mikrobiyolojik güvenliği hakkında eksiklikler bulunmaktadır (Xiao vd., 2014b). Mikroyeşilliklerin patojenler tarafından muhtemel kontaminasyonu halinde potansiyel tehlikesini temsil ettiği ve riski azaltmak için filizlenmiş tohumlarla aynı şekilde düşünülmesi gerektiği bildirilmiştir (Wright ve Holden 2018).

Mikroyeşillik kaynaklı bir zehirlenme vakası henüz bildirilmemesine karşın filizlerden kaynaklanan hastalıklar göz önüne alındığında, mikroyeşilliklerle ilgili risklerin kontrolü önem taşımaktadır (Kyriacou vd., 2016). Yapılan çalışmalar, mikroyeşilliklerin mikrobiyal açıdan risk taşıdığını doğrulamaktadır. Turp filizi ve mikroyeşilligi üzerinde yapılan bir çalışmada hasat edilen mikroyeşilliklerde, aynı seviyelerde aşılansız tohumlardan elde edilen filizlerden daha az *E. coli* olmasına rağmen hem filizlenme hem de mikroyeşilligin gelişimi esnasında *E. coli* O157:H7 ve O104:H4 popülasyonunda artış meydana gelmiştir (Xiao vd., 2014b). Nitekim mikroyeşillik üretiminde kontaminasyonun olması halinde, patojen bakterilerin (Riggio vd., 2019; Işık vd., 2020; Namlı vd., 2021; Işık vd., 2022) ve insan norovirüsünün mikroyeşilliklerin yenilebilir dokularına transfer olduğunu (Wang ve Kniel, 2016) gösteren çalışmalar mevcuttur.

Mikroyeşilliklerin mikrobiyolojik kontaminasyon kaynakları arasında; kontamine tohum, gübre, sulama suyu, toprak, hayvancılık/yaban hayatı gibi birçok faktör bulunmaktadır (Alegbeleye vd., 2018; Riggio vd., 2019; Misra ve Gibson, 2020). Sulama suyu özellikle topraksız (hidroponik) tarım yapılarak filiz ve mikroyeşillik üretiminde risk oluşturmaktadır (Riggio vd., 2019). Tarımsal sularda *Salmonella* ve STEC serotiplerinin uzun süre canlı kalarak kontaminasyon riskini arttırdığı rapor edilmiştir (Topalcengiz ve Danyluk, 2019; Topalcengiz vd., 2019). Riggio vd. (2019), sulama tipinin patojen transferini etkilediğini bildirmiştir. Ancak bazı araştırmacılar, mikroyeşillik türlerine patojen transferinin sulama yöntemlerinden bağımsız olduğunu fakat üretim ortamının ve tohum türlerinin patojen transferini etkileyebileceğini bildirilmiştir (Işık vd., 2020). Tohum kontaminasyonunun önlenmesi, sulama için kullanılacak suyun mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesinin iyi olması, tohumdan mikroyeşilliklere patojen transferinin daha düşük olduğu yetiştirme ortamlarının tercihi ve hasat sonrası tedbirler, riskleri azaltmada etkili olacaktır (Işık vd., 2020).

Kontaminasyon derecesi; kontaminasyon kaynağına, kaynaktaki patojen popülasyonuna, maruz kalma süresine, çevresel faktörlere (sıcaklık

ve nem gibi), bitki yetiştirme materyaline, tohum çeşidine, mikroyeşillik çeşidine ve kısımlarına bağlıdır (Wright ve Holden, 2018; Reed vd., 2018; Işık vd., 2020). Işık vd. (2022), turp mikroyeşilligi üzerine yapmış olduğu çalışmada, bitkinin kotiledon ve üst hipokotil kısımlarında abiyotik vekilin bulunduğunu ve mikroyeşilliklerin tüketilebilir herhangi bir kısmında kontaminasyonun olabileceğini bildirmişlerdir. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile elde ettikleri görüntülerde jenerik *E. coli*'nin yaprak yüzeyinde abiyotik vekil ile birlikte bulunduğunu tespit etmişlerdir. Farklı ortamlarda ve farklı sulama teknikleri kullanılarak yetiştirilen bazı mikroyeşillik türlerine jenerik *E. coli* ve shiga toksin-üreten *E. coli*'nin (STEC O157:H7) transferinde turpun marula göre, perlitin torfa göre ve bitkilerin yenilmeyen kısımlarının yenilen kısımlarına göre daha yüksek popülasyonda patojen *E. coli* içerdiği bildirilmiştir (Işık vd., 2020). Brokoli mikroyeşilliklerinde, kotiledonlardaki STEC popülasyonunun gerçek yapraklara göre daha yüksek olduğu; kontamine sulama suyundan mikroyeşillige STEC geçişinin kontamine tohuma kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Wright ve Holden 2018). Üç çeşit brokoli (Tiburon, Belstar ve Lucky) ve iki çeşit turp (Rebel ve Bolide) filizi üzerine yapılan bir çalışmada, hem brokoli hem de turp tohumlarının çimlenmesi aşamasında mikrobiyal yükte artış olduğu; ancak brokoli tohumlarına göre turp tohumlarındaki aerobik mezofil bakteri (AMB) sayısının daha fazla olduğu belirlenmiştir (Martínez-Villaluenga vd., 2008).

MİKROYEŞİLLİKLERİN MUHAFAZASI

Mikroyeşilliklerin hassas ve tam olgunlaşmamış dokusu, hasat sonrası solunumlarının devam etmesi ve muhtemel mikrobiyal kontaminasyonlar (bu ürünlerin) raf ömürlerini sınırlandırmaktadır (Chandra vd., 2012). Hızlı bozulmanın temelinde hasattan sonra yoğun şekilde gerçekleşen biyokimyasal ve fizyolojik reaksiyonlar yer almaktadır. Uygun olmayan depolama koşulları ve hijyen eksikliği bu süreci hızlandırmaktadır (Artés vd., 2009). Hasat sırasında mikroyeşilliklerin mekanik zedelenmesini en aza indirme, hasattan sonra uygun şekilde ambalajlama ve hızlı soğutma sonrası depolama işlemleri sayesinde oluşabilecek

kalite kayıpları önlenmektedir (Mir vd., 2017). Düşük sıcaklıkta muhafaza ile mikroyeşilliklerdeki solunum, yaşlanma ve bozulma geciktirilebilmekte; mikroorganizmaların çoğalması ise önemli ölçüde engellenebilmektedir. Bu sayede kalite kaybı azaltılarak raf ömrü uzatılabilmektedir (Kou vd., 2014).

Depolama sıcaklığı ve atmosferik koşullar, hasat sonrasında mikroyeşilliklerin raf ömrünü etkileyen en önemli faktörlerdendir (Hodges ve Toivonen, 2008). Artan talep sonucunda mikroyeşilliklerin raf ömrünün uzatılması için ambalajlama ve hasat sonrası depolama koşullarının optimizasyonu önem kazanmış, bu kapsamda yapılan çalışmalar da hız kazanmıştır (Mir vd., 2017). Genellikle mikroyeşillikler oda sıcaklığında 2-4 gün, 5 °C'de ise 10-14 güne kadar uzayabilen bir raf ömrüne sahiptir (Kou vd., 2013). Karabuğday mikroyeşillikleri üzerine yapılan bir çalışmada, depolama sıcaklığı düştükçe mikrobiyal yükte azalma olduğu belirlenmiştir (Kou vd., 2013). Xiao vd. (2014a), daikon turp (*Raphanus sativus* var. *longipinnatus*) mikroyeşilliklerinin hasat sonrası en uygun depolama sıcaklığının 1 °C olduğunu, böylece raf ömrünün uzatılabileceğini bildirmiştir.

Mikroyeşilliklerin paketlenmesinde ambalaj materyali olarak genellikle polietilen (PE) veya polipropilen (PP) bazlı filmler kullanılmaktadır (Allende vd., 2004; Bergquist vd., 2006). Mikroyeşillik paketlerine süper atmosferik oksijen eklenmesinin, AMB popülasyonundaki artışı azalttığı bildirilmiştir (Allende vd., 2004). Karabuğday mikroyeşilliklerinin, oksijen iletim oranı (OTR) 16.6 pmol/(m².s.Pa) olan ambalaj filmleri ile paketlenmesi sayesinde 21 günlük depolama sonunda taze görünümünü hala muhafaza ettikleri gözlenmiştir (Kou vd., 2013).

Hasat öncesi uygulamalar mikroyeşilliklerin raf ömrünü ve kalitesini etkilemektedir (Kou vd., 2014). Dezenfektan madde uygulamalarının mikroyeşilliklerdeki toplam aerobik ve koliform bakteri popülasyonunda düşüş sağladığı belirlenmiştir (Chandra vd., 2012). Brokoli mikroyeşilliklerinde hasat öncesi 10 mM CaCl₂ uygulaması mikrobiyal gelişimi azaltmıştır (Kou vd., 2014). Turp mikroyeşilliklerinde hasat öncesi

klorlu suyun sprey uygulaması ile, mikroyeşillikteki *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonlarının azaltılabileceği ancak gıda güvenliği açısından tek başına yeterli olmadığı bildirilmiştir (Işık vd., 2022). Klorla yıkama işleminin daikon turplarındaki (100 mg/L) AMB ve toplam maya ve küf popülasyonlarında 0.5 log CFU/g düşüş sağladığı görülmüştür (Xiao vd. 2014a). Karabuğday mikroyeşilliklerinin klorla yıkanması sonrası 5 °C'de depolanan mikroyeşilliklerdeki mikrobiyal popülasyonun ilk 7 günde azaldığı tespit edilmiştir. 7. günden 21. güne kadar, özellikle suda yıkanmış mikroyeşilliklerdeki AMB popülasyonunda artış görülmüştür. Bu durumun, yıkama işlemi sonrası artan nemden kaynaklandığı düşünülmektedir (Kou vd., 2013). Çin lahanası (*Brassica campestris* var. *narinosa*) mikroyeşilliklerindeki mikrobiyal yükün klorla yıkama işlemi ile azaldığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada, sitrik asit ve etanolün birlikte uygulanması sonucunda toplam aerobik ve koliform bakteri popülasyonunda regülasyon sağlandığından, bu işlemin klora alternatif olarak düşünülebileceği bildirilmiştir (Chandra vd., 2012).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Mikroyeşillikler; fizyolojik yapıları, yüksek albenileri, besleyici özellikleri ve sağlık üzerindeki birçok olumlu etkisi sayesinde beslenmede önemli bir yere sahiptir. Dünya çapında üretim ve tüketimi artan mikroyeşilliklerin kaliteli ve güvenli şekilde üretilip tüketicilere sunulması önem taşımaktadır. Bu amaçla, yetiştirilen türlerin iyi tanımlanması; yetiştirme, hasat ve depolama koşullarının belirlenmesi, kaliteyi koruyarak raf ömrünün uzatılması, gıda güvenliği açısından değerlendirilmesi ve risklerinin ortaya konulması hem üretici hem de tüketiciler için önemlidir. Ancak, sınırlı da olsa yapılmış çalışmalar çoğunlukla mikroyeşilliklerin yetiştirilmesi ve besin değerinin belirlenmesi üzerinedir. Yapılan araştırmalar mikroyeşilliklerin tohum ve türüne göre yetiştirme ve depolama şartları ile gıda güvenliği risklerinin artabileceğini göstermektedir. Bu nedenle mikroyeşilliklerle ilgili daha spesifik çalışmalara ihtiyaç vardır. Özellikle filizlerle benzer yetiştirme şartlarına sahip olan ancak otoritelerce güvenli olarak değerlendirilen

mikroyeşilliklerin, bitki türü ve patojen cinsine göre risklerinin ortaya konulması gerekmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Makale yazarları, aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

YAZARLARIN KATKISI

Bu çalışma Sefa Işık ve Zeynal Topalcengiz tarafından tasarlanmış, kaynak taraması ile makalenin yazımı Sefa Işık, Hasan Işık ve Zeynep Aytemiş tarafından yapılmıştır. Eleştirel inceleme, yorum ve danışmanlık ise Senem Güner, Aziz Aksoy, Bülent Çetin ve Zeynal Topalcengiz tarafından gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

Abad, M., Noguera, P., Bures, S. (2001). National inventory of organic wastes for use as growing media for ornamental potted plant production: case study in Spain. *Bioresource Technology*, 77(2): 197-200, DOI: 10.1016/S0960-8524(00)00152-8.

Agarwal, A., Gupta, S.D. (2016). Impact of light-emitting diodes (LEDs) and their potential effects on plant growth and development in controlled-environment plant production systems. *Current Biotechnology*, 5, 28-43, DOI: 10.2174/2211550104666151006001126.

Alegbeleye, O., Singleton, I., Sant'Ana, A. (2018). Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: a review. *Food Microbiology*, 73: 177-208, DOI: 10.1016/j.fm.2018.01.003.

Allende, A., Luo, Y., McEvoy, J.L., Artés, F., Wang, C.Y. (2004). Microbial and quality changes in minimally processed baby spinach leaves stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 33(1): 51-59, DOI: 10.1016/S0925-5214(04)00071-7.

Anonim (2020). ReportLinker. Global Microgreens Market Analysis & Trends-Industry Forecast to 2028. https://www.reportlinker.com/p06127645/Global-Microgreens-Market-Analysis-Trends-Industry-Forecast-to.html?utm_source=GNW (Erişim tarihi: 18.03.2022).

- Artés, F., Gómez, P., Aguayo, E., Escalona, V., Artés-Hernández, F. (2009). Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. *Postharvest Biology and Technology*, 51(3): 287-296, DOI: 10.1016/j.postharvbio.2008.10.003.
- Baker, K.A., Beecher, L., Northcutt, J.K. (2019). Effect of irrigation water source and post-harvest washing treatment on the microflora of alfalfa and mung bean sprouts. *Food Control*, 100, 151–157, DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.01.015.
- Bergquist, S.A., Gertsson, U.E., Olsson, M.E. (2006). Influence of growth stage and postharvest storage on ascorbic acid and carotenoid content and visual quality of baby spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(3): 346-355, DOI: 10.1002/jsfa.2373.
- Bulgari, R., Baldi, A., Ferrante, A., Lenzi, A. (2017). Yield and quality of basil, Swiss chard, and rocket microgreens grown in a hydroponic system. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 45(2): 119–129, DOI: 10.1080/01140671.2016.1259642.
- Callejón, R.M., Rodríguez-Naranjo, M.I., Ubeda, C., Hornedo-Ortega, R., Garcia-Parrilla, M.C., Troncoso, A.M. (2015). Reported foodborne outbreaks due to fresh produce in the United States and European Union: trends and causes. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(1): 32–38, DOI: 10.1089/fpd.2014.1821.
- Carter, P., Gray, L.J., Troughton, J., Khunti, K., Davies, M.J. (2010). Fruit and vegetable intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *British Medical Journal*, 341, DOI: 10.1136/bmj.c4229.
- Carvalho, S.D., Folta, K.M. (2016). Green light control of anthocyanin production in microgreens. Proceedings of the VIII International Symposium on Light in Horticulture. 1134, 13–18, DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1134.2.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention) 2016. Foodborne outbreak online database (FOOD). <http://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/#/>. (Accessed 26.05.20).
- Cemeroğlu B. (2004). *Meyve ve sebze işleme teknolojisi*. 1. Cilt 2. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, Türkiye, 2, 55-60.
- Chandra, D., Kim, J.G., Kim, Y.P. (2012). Changes in microbial population and quality of microgreens treated with different sanitizers and packaging films. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 53(1): 32-40, DOI: 10.1007/s13580-012-0075-6.
- Chen, M., Rao, Y., Zheng, Y., Wei, S., Li, Y., Guo, T., Yin, P. (2014). Association between soy isoflavone intake and breast cancer risk for pre- and post-menopausal women: a meta-analysis of epidemiological studies. *PLoS One*, 9(2): 89288, DOI: 10.1371/journal.pone.0089288. eCollection 2014.
- Choe, U., Yu, L.L., Wang, T.T. (2018). The science behind microgreens as an exciting new food for the 21st century. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(44): 11519-11530, DOI: 10.1021/acs.jafc.8b03096.
- Christensen, K.Y., Naidu, A., Parent, M.É., Pintos, J., Abrahamowicz, M., Siemiatycki J., Koushik, A. (2012). The risk of lung cancer related to dietary intake of flavonoids. *Nutrition and Cancer*, 64(7): 964-74. DOI: 10.1080/01635581.2012.717677.
- Combs, G.F., McClung, J.P. (2017). Vitamin B12. *The Vitamins*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 431-452.
- Crowe, S.J., Mahon, B.E., Vieira, A.R., Gould, L.H. (2015). Vital signs: multistate foodborne outbreaks-United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2010-2014. 64(43): 1221-1225.
- de la Fuente, B., López-García, G., Mániz, V., Alegría, A., Barberá, R., Cilla, A. (2019). Evaluation of the bioaccessibility of antioxidant bioactive compounds and minerals of four genotypes of *Brassicaceae* microgreens. *Foods*, 8(7): 250, DOI: 10.3390/foods8070250.
- Dechet, A.M., Herman, K.M., Chen Parker, C., Taormina, P., Johanson, J., Tauxe, R.V., Mahon, B.E. 2014. Outbreaks caused by sprouts, United States, 1998–2010: Lessons learned and solutions

- needed. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(8): 635–644.
- Delian, E., Chira, A., Bădulescu, L., Chira, L. (2015). Insights into microgreens physiology. *Scientific Papers Series B. Horticulture*, 59: 447-454.
- Di Gioia, F., De Bellis, P., Mininni, C., Santamaria, P., Serio, F. (2017). Physicochemical, agronomical and microbiological evaluation of alternative growing media for the production of rapini (*Brassica rapa* L.) microgreens, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(4): 1212-1219, DOI: 10.1002/jsfa.7852.
- Di Gioia, F., Mininni, C., Santamaria, P. (2015). Come coltivare micro-ortaggi. In: Microgreens, F. Di Gioia, P. Santamaria (Eds.), *ECO-logica*, Bari, Italy, pp. 51-80
- Ebert, A.W. (2013). Sprouts, microgreens, and edible flowers: the potential for high value specialty produce in Asia. SEAVEG 2012: High Value Vegetables in Southeast Asia: Production, Supply and Demand, 24-26 January 2012, Chiang Mai, Thailand, pp. 216-227.
- Ebert, A.W., Wu, T.H., David, Yang R.Y. (2015). Amaranth sprouts and microgreens - a homestead vegetable production option to enhance food and nutrition security in the rural-urban continuum. Proceedings of the Regional Symposium on Sustaining SmallScale Vegetable Production and Marketing Systems for Food and Nutrition Security, AVRDC, 2015, Taiwan, pp. 233–244.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), (2011). Scientific opinion on the risk posed by shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and other pathogenic bacteria in seeds and sprouted seeds. *EFSA Journal*, 9(11): 2424, pp. 101.
- Ferrarini, L., Pellegrini, N., Mazzeo, T., Miglio, C., Galati, S., Milano F., Rossi, C., Buschini, A. (2011). Anti-proliferative activity and chemoprotective effects towards DNA oxidative damage of fresh and cooked *Brassicaceae*. *The British Journal of Nutrition*, 107(9): 1324–1332, DOI: 10.1017/S0007114511004272.
- Fidan, A.F., Dündar, Y. (2007). *Yucca schidigera* ve içerdiği saponinler ile fenolik bileşiklerinin, hipokolesterolemik ve antioksidan etkileri (Derleme). *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 47(2): 31-39.
- Flakelar, C.L., Prenzler, P.D., Luckett, D.J., Howitt, J.A., Doran, G. (2017). A rapid method for the simultaneous quantification of the major tocopherols, carotenoids, free and esterified sterols in canola (*Brassica napus*) oil using normal phase liquid chromatography. *Food Chemistry*, 214: 147-155. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.07.059.
- Frank, C., Faber, M.S., Askar, M., Bernard, H., Fruth, A., Gilsdorf, A., Höhle, M., Karch, H., Krause, G., Prager, R., Spode, A., Stark, K., Werber, D., HUS Investigation Team. (2011). Large and ongoing outbreak of haemolytic uraemic syndrome. *Eurosurveillance*, Germany, May 2011, 16(21):19878.
- Geybels, M.S., Verhage, B.A., Arts, I.C., Van Schooten, F.J., Goldbohm, R.A., Van den Brandt, P.A. (2013). Dietary flavonoid intake, black tea consumption, and risk of overall and advanced stage prostate cancer. *American Journal of Epidemiology*, 177(12):1388-98, DOI: 10.1093/aje/kws419.
- Ghoora, M.D., Babu, D.R., Srividya, N. (2020). Nutrient composition, oxalate content and nutritional ranking of ten culinary microgreens. *The Journal of Food Composition and Analysis*, 91: 103495, DOI: 10.1016/j.jfca.2020.103495.
- Goodburn, C., Wallace, C.A. (2013). The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: A review. *Food Control*, 32, 418–427.
- Halliwell B. 2007. Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health. *Cardiovascular Research*, 73, 341-347, DOI: 10.1016/j.cardiores.2006.10.004.
- Haytowitz, D.B., Peterson, J., Booth, S. (2002). Phylloquinone (Vitamin K) content of vegetables and vegetable products. In IFT Annual Meeting and Food Expo, 15-19 June, Anaheim, CA.
- Hodges, D.M., Toivonen, P.M. (2008). Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. *Postharvest Biology and Technology*, 48(2): 155-162, DOI: 10.1016/j.postharvbio.2007.10.016.

- Huang, H., Jiang, X., Xiao, Z., Yu, L., Pham, Q., Sun, J., Chen, P., Yokoyama, W., Yu, L.L., Luo, Y.S. (2016). Red cabbage microgreens lower circulating low-density lipoprotein (LDL), liver cholesterol, and inflammatory cytokines in mice fed a high-fat diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(48): 9161-9171, DOI: 10.1021/acs.jafc.6b03805.
- Hui, C., Qi, X., Qianyong, Z., Xiaoli, P., Jundong, Z., Mantian, M. (2013). Flavonoids, flavonoid subclasses and breast cancer risk: a meta-analysis of epidemiologic studies. *PLoS One*, 8(1): e54318, DOI: 10.1371/journal.pone.0054318.
- Iacumin, L., Comi, G. (2019). Microbial quality of raw and ready-to-eat mung bean sprouts produced in Italy. *Food Microbiology*, 82: 371–377, DOI: 10.1016/j.fm.2019.03.014.
- Ilakiya, T., Parameswari, E., Davamani, V., Prakash, V. (2020). Microgreens-combating malnutrition problem. *Research Today*. 2(5): 110-112.
- Işık, H., Topalcengiz, Z., Güner, S., Aksoy, A. (2020). Generic and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (O157: H7) contamination of lettuce and radish microgreens grown in peat moss and perlite. *Food Control*, 111: 107079, DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.107079.
- Işık, S., Aytemiş, Z., Çetin, B., Topalcengiz, Z. (2022). Possible explanation for limited reduction of pathogens on radish microgreens after spray application of chlorinated water during growth with disperse contamination spread of abiotic surrogate on leaves. *Journal of Food Safety*, e12984, DOI: 10.1111/jfs.12984.
- Jang, H.W., Moon, J.K., Shibamoto, T. (2015). Analysis and antioxidant activity of extracts from broccoli (*Brassica oleracea* L.) sprouts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(4): 1169–1174, DOI: 10.1021/jf504929m.
- Janovská, D., Stocková, L., Stehno, Z. (2010). Evaluation of buckwheat sprouts as microgreens. *Acta Agriculturae Slovenica*, 95(2): 157, DOI: 10.2478/v10014-010-0012-2.
- Jiang, X., Huang, H., Xiao, Z., Yu, L., Pham, Q., Yu, L.L., Luo, Y., Wang, T.T. (2016). Lipids and cholesterol-lowering activity of red cabbage microgreens. *The FASEB Journal*, 30(1): 431.8, DOI: 10.1096/fasebj.30.1_supplement.431.8.
- Jones-Baumgardt, C., Llewellyn, D., Ying, Q., Zheng, Y. (2019). Intensity of sole-source lightemitting diodes affects growth, yield, and quality of *Brassicaceae* microgreens. *HortScience*, 54: 1168–1174, DOI: 10.21273/HORTSCI13788-18.
- Klopsch, R., Baldermann, S., Voss, A., Rohn, S., Schreiner, M., Neugart, S. (2018). Bread enriched with legume microgreens and leaves—ontogenetic and baking-driven changes in the profile of secondary plant metabolites. *Frontiers in Chemistry*, 6, 322, DOI: 10.3389/fchem.2018.00322.
- Koley, T.K. (2016). Microgreens from vegetables: More nutrition for better health. *New Age Protect Cult*, 2(2): 25-27.
- Kopsell, D.A., Sams, C.E. (2013). Increases in shoot tissue pigments, glucosinolates, and mineral elements in sprouting broccoli after exposure to short-duration blue light from light emitting diodes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 138 (1): 31-37, DOI: 10.21273/JASHS.138.1.31.
- Kopsell, D.A., Sams, C.E., Barickman, T.C., Morrow, R.C. (2014). Sprouting broccoli accumulate higher concentrations of nutritionally important metabolites under narrow-band light-emitting diode lighting. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 139: 469–477, DOI: 10.21273/JASHS.139.4.469.
- Kou, L., Luo, Y., Yang, T., Xiao, Z., Turner, E.R., Lester, G.E., Wang, Q., Camp, M.J. (2013). Postharvest biology, quality and shelf life of buckwheat microgreens. *LWT- Food Science and Technology*, 51(1): 73-78, DOI: 10.1016/j.lwt.2012.11.017.
- Kou, L., Yang, T., Luo, Y., Liu, X., Huang, L., Codling, E. (2014). Pre-harvest calcium application increases biomass and delays senescence of broccoli microgreens. *Postharvest Biology and Technology*, 87, 70-78, DOI: 10.1016/j.postharvbio.2013.08.004.
- Kowitcharoen, L., Phornvillay, S., Lekham, P., Pongprasert, N., Srilaong, V. (2021). Bioactive

- composition and nutritional profile of microgreens cultivated in Thailand. *Applied Sciences*, 11, 7981, DOI: 10.3390/app11177981.
- Kumar, N., Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, 1–10. DOI: 10.1016/j.btre.2019.e00370.
- Kyriacou, M.C., El-Nakhel, C., Pannico, A., Graziani, G., Soteriou, G.A., Giordano, M., Palladino, M., Ritieni, A., De Pascale, S., Roupael, Y. (2020). Phenolic constitution, phytochemical and macronutrient content in three species of microgreens as modulated by natural fiber and synthetic substrates. *Antioxidants*, 9(3): 252, DOI: 10.3390/antiox9030252.
- Kyriacou, M.C., Roupael, Y., Di Gioia, F., Kyrtzis, A., Serio, F., Renna, M., De Pascale, S., Santamaria, P. (2016). Micro-scale vegetable production and the rise of microgreens. *Trends in Food Science and Technology*, 57, 103-115, DOI: 10.1016/j.tifs.2016.09.005.
- Le, T.N., Chiu, C.H., Hsieh, P.C. (2020). Bioactive compounds and bioactivities of *Brassica oleracea* L. var. *Italica* sprouts and microgreens: An updated overview from a nutraceutical perspective. *Plants*, 9, 946, DOI:10.3390/plants9080946.
- Ma, L., Lin, X.M. (2010). Effects of lutein and zeaxanthin on aspects of eye health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(1): 2-12, DOI: 10.1002/jsfa.3785.
- Machado-Moreira, B., Richards, K., Brennan, F., Abram, F., Burgess, C.M. (2019). Microbial contamination of fresh produce: What, Where, and How?. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(6): 1727-1750. DOI: 10.1111/1541-4337.12487.
- Malar, D.S., Devi, K.P. (2014). Dietary polyphenols for treatment of Alzheimer's disease-future research and development. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 15(4): 330-42, DOI: 10.2174/1389201015666140813122703.
- Marchioni, I., Martinelli, M., Ascrizzi, R., Gabbriellini, C., Flamini, G., Pistelli, L., Pistelli L. (2021). Small functional foods: comparative phytochemical and nutritional analyses of five microgreens of the *Brassicaceae* family. *Foods*, 10, 427, DOI: 10.3390/foods10020427.
- Martínez-Villaluenga, C., Frías, J., Gulewicz, P., Gulewicz, K., Vidal-Valverde, C. (2008). Food safety evaluation of broccoli and radish sprouts. *Food and Chemical Toxicology*, 46(5): 1635-1644, DOI: 10.1016/j.fct.2008.01.004.
- Mir, S.A., Shah, M.A., Mir, M.M. (2017). Microgreens: Production, shelf life, and bioactive components. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(12): 2730-2736, DOI: 10.1080/10408398.2016.1144557.
- Misra, G., Gibson, K.E. (2020). Survival of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Javiana and *Listeria monocytogenes* is dependent on type of soil-free microgreen cultivation matrix. *Journal of Applied Microbiology*, Advance online publication. DOI: 10.1111/jam.14696.
- Mittal, M., Siddiqui, M.R., Tran, K., Reddy, S.P., Malik, A.B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(7): 1126-116, DOI: 10.1089/ars.2012.5149.
- Murphy, C., Pill, W. (2010). Cultural practices to speed the growth of microgreen arugula (roquette; *Eruca vesicaria* subsp. *sativa*). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85(3): 171-176, DOI: 10.1080/14620316.2010.11512650.
- Murphy, C.J., Llorca, K.F., Pill, W.G. (2010). Factors affecting the growth of microgreen table beet. *International Journal of Vegetable Science*, 16(3): 253-266, DOI: 10.1080/19315261003648241.
- Nagar, V., Hajare, S. N., Saroj, S. D., Bandekar, J. R. (2012). Radiation processing of minimally processed sprouts (dew gram and chickpea): Effect on sensory, nutritional and microbiological quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 620–626, DOI: 10.1111/j.1365-2621.2011.02885.x.
- Namli, S., Samut, H., Soyer, Y. (2021). Microbial growth and attachment of *Salmonella* and enterohemorrhagic and enteroaggregative *Escherichia coli* strains on cress microgreens grown

- in peat soil system. *British Food Journal*, DOI: 10.1108/BFJ-03-2021-0269.
- National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF), (1999). Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. *International Journal of Food Microbiology*, 52, 123-53.
- Natvig, E.E., Ingham, S.C., Ingham, B.H., Cooperband, L.R., Roper, T.R. (2002). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Escherichia coli* contamination of root and leaf vegetables grown in soils with incorporated bovine manure. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6): 2737-2744, DOI: 10.1128/AEM.68.6.2737-2744.2002.
- Othman, A.J., Vodorezova, E.S., Mardini, M., Hanana, M.B. (2022). Dataset for the content of bioactive components and phytonutrients of (*Ocimum basilicum* and *Brassica rapa*) microgreens. *Data in Brief*, 40, 107737, DOI: 10.1016/j.dib.2021.107737.
- Ötles, S., Yeşim, A. (1997). Karotenoidlerin insan sağlığı açısından önemi. *Pamukkale Univ. Journal of Engineering Science*, 3(1): 249-254.
- Pinto, E., Almeida, A.A., Aguiar, A.A., Ferreira, I.M. (2015). Comparison between the mineral profile and nitrate content of microgreens and mature lettuces. *Journal of Food Composition and Analysis*, 37: 38-43, DOI:10.1016/J.JFCA.2014.06.018.
- Rajagopal, S., Gupta, A., Parveen, R., Shukla, N., Bhattacharya, S., Naravula, J., Suravajhala, P. (2021). Vitamin K in human health and metabolism: A nutri-genomics review. *Trends in Food Science and Technology*, 119: 412-147. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.12.012.
- Reed, E., Ferreira, C.M., Bell, R., Brown, E.W., Zheng, J. (2018). Plant-microbe and abiotic factors influencing *Salmonella* survival and growth on alfalfa sprouts and Swiss chard microgreens. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(9): e02814-17, DOI: 10.1128/AEM.02814-17.
- Renna, M., Di Gioia, F., Leoni, B., Mininni, C., Santamaria, P. (2017). Culinary assessment of self-produced microgreens as basic ingredients in sweet and savory dishes. *Journal of Culinary Science and Technology*, 15(2): 126-142, DOI: 10.1080/15428052.2016.1225534.
- Rigalli, J.P., Tocchetti, G.N., Arana, M.R., Villanueva, S.S., Catania, V.A., Theile, D., Ruiz, M.L., Weiss, J. (2016). The phytoestrogen genistein enhances multidrug resistance in breast cancer cell lines by translational regulation of ABC transporters. *Cancer Letters*, 376(1): 165-72, DOI: 10.1016/j.canlet.2016.03.040.
- Riggio, G.M., Wang, Q., Kniel, K.E., Gibson, K.E. (2019). Microgreens-A review of food safety considerations along the farm to fork continuum. *International Journal of Food Microbiology*, 290, 76-85, DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.027.
- Samuolienė, G., Brazaitytė, A., Viršilė, A., Jankauskienė, J., Sakalauskiene, S., Duchovskis, P. (2016). Red light-dose or wavelength-dependent photoresponse of antioxidants in herb microgreens. *PLoS One*, 11(9): e0163405, DOI: 10.1371/journal.pone.0163405.
- Samuolienė, G., Brazaitytė, A., Viršilė, A., Miliauskienė, J., Vaštakaitė-Kairienė, V., Duchovskis, P. (2019). Nutrient levels in *Brassicaceae* microgreens increase under tailored light-emitting diode spectra. *Frontiers of Plant Science*, 10, 1475, DOI: 10.3389/fpls.2019.01475.
- Samuolienė, G., Viršilė, A., Brazaitytė, A., Jankauskienė, J., Sakalauskiene, S., Vaštakaitė, V., Novičkovas, A., Viškelienė, A., Sasnauskas, A., Duchovskis, P. (2017). Blue light dosage affects carotenoids and tocopherols in microgreens. *Food Chemistry*, 228, 50-56, DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.01.144.
- Sangronis, E., Machado, C.J. (2007). Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 116-120, DOI: 10.1016/j.lwt.2005.08.003.
- Sevindik M. (2018). Pharmacological properties of Mentha Species. *Journal of Traditional Medicine & Clinical Naturopathy*, 7, 259-263, DOI: 10.4172/2573-4555.1000259.
- Singh, J., Upadhyay, A., Bahadur, A., Singh, B., Singh, K., Rai, M. (2006). Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var.

- capitata*). *Scientia Horticulturae*, 108(3): 233-237, DOI: 10.1016/j.scienta.2006.01.017.
- Singh, M., Choudhary, A., Kumar, A. (2021). Microgreens: A nutritional food. *Biotica Research Today*, 3(7): 612-613.
- Smirnoff, N., Wheeler, G.L. (2000). Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 19(4), 267-290. DOI: 10.1080/10409230008984166.
- Subedi, L., Cho, K., Park, Y.U., Choi, H.J., Kim, S.Y. (2019). Sulforaphane-enriched broccoli sprouts pretreated by pulsed electric fields reduces neuroinflammation and ameliorates scopolamine-induced amnesia in mouse brain through its antioxidant ability via Nrf2-HO-1 activation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, DOI: 10.1155/2019/3549274.
- Sun, J., Kou, L., Geng, P., Huang, H., Yang, T., Luo, Y., Chen, P. (2015). Metabolomic assessment reveals an elevated level of glucosinolate content in CaCl₂ treated broccoli microgreens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(6): 1863-1868, DOI: 10.1021/jf504710r.
- Sun, J., Xiao, Z., Lin, L.-z., Lester, G.E., Wang, Q., Harnly, J.M., Chen, P. (2013). Profiling polyphenols in five *Brassica* species microgreens by UHPLC-PDA-ESI/HRMSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46): 10960-10970, DOI: 10.1021/jf401802n.
- Tangney, C.C., Rasmussen, H.E. (2013). Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Reports*, 15(5): 324, DOI: 10.1007/s11883-013-0324-x
- Taormina, P.J., Beuchat, L.R., Slutsker, L. (1999). Infections associated with eating seed sprouts: an international concern. *Emerging Infectious Diseases*, 5, 626-634, DOI: 10.3201/eid0505.990503.
- Tęcza, P., Żylińska, L. (2016). Preventive effects of curcumin and resveratrol in Alzheimer's disease. *Przegląd Lekarski*, 73(5): 320-3.
- Thenmozhi, A.J., Manivasagam, T., Essa, M.M. (2016). Role of plant polyphenols in Alzheimer's disease. *Advances in Neurobiology*, 12, 153-71, DOI: 10.1007/978-3-319-28383-8.
- Topalcengiz, Z., Danyluk, M.D. (2019). Fate of generic and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in Central Florida surface waters and evaluation of EPA Worst Case water as standard medium. *International Food Research Journal*, 120, 322-329, DOI: 10.1016/j.foodres.2019.02.045.
- Topalcengiz, Z., McEgan, R. Danyluk, M.D. (2019). Fate of *Salmonella* in Central Florida surface waters and evaluation of EPA worst case water as a standard medium. *Journal of Food Protection*, 82(6): 916-925, DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-18-331.
- Treadwell, D.D., Hochmuth, R., Landrum, L., Laughlin, W. (2010). Microgreens: A new specialty crop. *University of Florida, IFAS Extension HS1164*, 3.
- Turner, E.R., Luo, Y., Buchanan, R.L. (2020). Microgreen nutrition, food safety, and shelf life: A review. *Journal of Food Science*, 85, 870-882, DOI: 10.1111/1750-3841.15049.
- Vaštakaitė, V., Viršilė, A., Brazaitytė, A., Samuolienė, G., Jankauskienė, J., Novičkovas, A., Duchovskis, P. (2017). Pulsed light-emitting diodes for a higher phytochemical level in microgreens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 6529-6534, DOI: 10.1021/acs.jafc.7b01214.
- Villaflores, O.B., Chen, Y.J., Chen, C.P., Yeh, J.M., Wu, T.Y. (2012). Curcuminoids and resveratrol as anti-Alzheimer agents. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 51(4): 515-25, DOI: 10.1016/j.tjog.2012.09.005.
- Visioli, F., Borsani, L. ve Gali, C. (2000). Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovascular Research*, 47, 149-425, DOI: 10.1016/S0008-6363(00)00053-5.
- Wadhawan, S., Tripathi, J., Gautam, S. (2017). In vitro regulation of enzymatic release of glucose and its uptake by fenugreek microgreen and mint leaf extract. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 320-326, DOI: 10.1111/ijfs.13588.
- Waje, C.K., Kwon, J.H. (2007). Improving the food safety of seed sprouts through irradiation

- treatment. *Food Science and Biotechnology*, 16, 171-176.
- Wang, Q., Kniel, K.E. (2016). Survival and transfer of murine norovirus within a hydroponic system during kale and mustard microgreen harvesting. *Applied and Environmental Microbiology*, 82: 705-713, DOI: 10.1128/AEM.02990-15.
- Weber, C.F. (2017). Broccoli microgreens: a mineral-rich crop that can diversify food systems. *Frontiers in Nutrition*, 4, 7, DOI: 10.3389/fnut.2017.00007.
- White, P.J., Broadley, M.R. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets-Iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist*, 182, 49-84. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2008.02738.x.
- Wojdylo, A., Nowicka, P., Tkacz, K., Turkiewicz, I.P. (2020). Sprouts vs. microgreens as novel functional foods: variation of nutritional and phytochemical profiles and their in vitro bioactive properties. *Molecules*, 25(20): 4648, DOI: 10.3390/molecules25204648.
- Woo, H.D., Lee, J., Choi, I.J., Kim, C.G., Lee, J.Y., Kwon, O., Kim, J. (2014). Dietary flavonoids and gastric cancer risk in a Korean population. *Nutrients*, 6(11): 4961-4973, DOI: 10.3390/nu6114961.
- Wright, K.M., Holden, N.J. (2018). Quantification and colonisation dynamics of *Escherichia coli* O157:H7 inoculation of microgreens species and plant growth substrates. *International Journal of Food Microbiology*, 273, 1-10, DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.025.
- Xiao, Z., Bauchan, G., Nichols-Russell, L., Luo, Y., Wang, Q., Nou, X. (2015). Proliferation of *Escherichia coli* O157: H7 in soil-substitute and hydroponic microgreen production systems. *Journal of Food Protection*, 78(10): 1785-1790, DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-15-063.
- Xiao, Z., Codling, E.E., Luo, Y., Nou, X., Lester, G.E., Wang, Q. (2016). Microgreens of *Brassicaceae*: Mineral composition and content of 30 varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 87-93, DOI: 10.1016/j.jfca.2016.04.006.
- Xiao, Z., Lester, G.E., Luo, Y., Wang, Q. (2012). Assessment of vitamin and carotenoid concentrations of emerging food products: edible microgreens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(31): 7644-7651, DOI: 10.1021/jf300459b.
- Xiao, Z., Luo, Y., Lester, G.E., Kou, L., Yang, T., Wang, Q. (2014a). Postharvest quality and shelf life of radish microgreens as impacted by storage temperature, packaging film, and chlorine wash treatment. *LWT-Food Science and Technology*, 55(2): 551-558, DOI: 10.1016/j.lwt.2013.09.009.
- Xiao, Z., Nou, X., Luo, Y., Wang, Q. (2014b). Comparison of the growth of *Escherichia coli* O157: H7 and O104: H4 during sprouting and microgreen production from contaminated radish seeds. *Food Microbiology*, 44, 60-63, DOI: 10.1016/j.fm.2014.05.015.
- Xiao, Z., Rauscha, S.R., Luo, Y., Sunc, J., Yud, L., Wang, Q., Chenc, P., Yud, L., Stommel, J.R. (2019). Microgreens of *Brassicaceae*: Genetic diversity of phytochemical concentrations and antioxidant capacity. *LWT-Food Science and Technology*, 101, 731-737. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.10.076.
- Xu, L., Nagata, N., Ota, T. (2018). Glucoraphanin: A broccoli sprout extract that ameliorates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Adipocyte*, 7, 218-225. DOI: 10.1080/21623945.2018.1474669.
- Yetim, H., Öztürk, İ., Törnük, F., Sağdıç, O., Hayta, M. (2010). Yenilebilir bitki ve tohum filizlerinin fonksiyonel özellikleri. *Gıda*, 35(3): 205-210.
- Yu, H., Neal, J.A., Sirsat, S.A. (2018). Consumers' food safety risk perceptions and willingness to pay for fresh-cut produce with lower risk of foodborne illness. *Food Control*, 86, 83-89. DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.11.014.
- Zhang, C., Lu, Z., Li, Y., Shang, Y., Zhang, G., Cao, W. (2011). Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* on mung bean seeds and sprouts by slightly acidic electrolyzed water. *Food Control*, 22, 792-796, DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.11.018.

Zhou, Y., Zheng, J., Li, Y., Xu, D.P., Li, S., Chen, Y.M., Li, H.B. (2016). Natural polyphenols for prevention and treatment of cancer. *Nutrients*, 8(8): 515, DOI: 10.3390/nu8080515.

Zou, L., Tan, W.K., Du, Y., Lee, H.W., Liang, X., Lei, J., ... and Ong, C.N. (2021). Nutritional metabolites in *Brassica rapa subsp. chinensis var.*

parachinensis (choy sum) at three different growth stages: Microgreen, seedling and adult plant. *Food Chemistry*, 357, 129535. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129535.



TAVUK STERNUMUNDAN ENZİMATİK HİDROLİZASYON İLE GLİKOZAMİNOGLİKAN (GAG) ÜRETİMİ VE İŞLEM PARAMETRELERİNİN OPTİMİZASYONU

ÇiŖe Karaman¹, Seher Kumcuoğlu^{2*}, Sibel Kaya Bayram³, Ŗebnem Tavman²

¹Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

³Abalođlu Lezita Gıda San. A.Ŗ. İzmir, Türkiye

GeliŖ / *Received*: 27.01.2022; Kabul / *Accepted*: 27.06.2022; Online baskı / *Published online*: 11.08.2022

Karaman, Ç., Kumcuoğlu, S., Kaya-Bayram, S., Tavman, Ŗ. (2022). Tavuk sternumundan enzimatik hidrolizasyon ile glikozaminoglikan (GAG) üretimi ve işlem parametrelerinin optimizasyonu. GIDA (2022) 47 (4) 650-662 doi: 10.15237/gida.GD22017

Karaman, Ç., Kumcuoğlu, S., Kaya-Bayram, S., Tavman, Ŗ. (2022). Production of glycosaminoglycan (GAG) from chicken sternum by enzymatic hydrolysis and optimization of process parameters. GIDA (2022) 47 (4) 650-662 doi: 10.15237/gida.GD22017

ÖZ

Bu çalışmada tavuk sternumundan enzimatik hidrolizasyon yöntemiyle sülfatlanmış glikozaminoglikan (GAG) ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve optimum enzimatik hidrolizasyon işlem koşulu belirlenmiştir. İşlem koşullarının optimizasyonu için Yanıt Yüzey Yöntemi kullanılmıştır. Enzim miktarı, pH değeri, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi olarak seçilen dört parametrenin GAG verimi üzerindeki etkilerini açıklamak için Merkezi Kompozit Tasarımıyla oluşturulan deneme deseni uygulanmıştır. En yüksek GAG verimine en kısa ekstraksiyon süresi ve en az enzim miktarı ile ulaşmak hedeflenmiştir. Ekstraksiyon işlemi için en uygun işlem koşulları %0.6 enzim miktarı, 6.99 pH değeri, 62.96°C ekstraksiyon sıcaklığı ve 10.79 saat ekstraksiyon süresi olarak bulunmuştur. Bu koşullarda, ekstraksiyon verim değerinin %26.07 olması öngörölmüş ve deneysel olarak da doğrulanması sağlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Tavuk sternumu, glikozaminoglikan, GAG, enzimatik ekstraksiyon, optimizasyon

PRODUCTION OF GLYCOSAMINOGLYCAN (GAG) FROM CHICKEN STERNUM BY ENZYMATIC HYDROLYSIS AND OPTIMIZATION OF PROCESS PARAMETERS

ABSTRACT

In this study, sulfated glycosaminoglycan (GAG) extraction was performed from chicken sternum by enzymatic hydrolysis method and optimum enzymatic hydrolysis process conditions were determined. Response Surface Method was used for the optimization of the process conditions. In order to determine the effects of the selected four parameters as enzyme amount, pH value, extraction temperature and time on GAG yield, a trial design created with Central Composite Design was applied. It is aimed to reach the highest GAG efficiency in the shortest time and by

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding Author*

✉: seher.kumcuoglu@ege.edu.tr

☎: (+90) 232 311 3023

☎: (+90) 232 311 4831

ÇiŖe Karaman; ORCID no: 0000-0002-6733-3796

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

Sibel Kaya Bayram; ORCID no: 0000-0001-9273-9854

Ŗebnem Tavman; ORCID I no D: 0000-0002-3069-1709

using the least amount of enzyme. The most suitable process conditions for the extraction process were found to be 0.6% enzyme amount, 6.99 pH value, 62.96°C extraction temperature and 10.79 hours extraction time. Under these conditions, the extraction yield value was predicted to be 26.07% and it was confirmed experimentally.

Keywords: Chicken sternum, glycosaminoglycan, GAG, enzymatic extraction, optimization

GİRİŞ

Ekstrasellüler matriks, hücreler arası boşlukları dolduran ve hücreleri birbirine bağlayan, çoğu protein, hormon, proteoglikan ve büyüme faktörlerini içeren kompleks ve dinamik bir yapıdan oluşmaktadır (Uslu ve Eltas, 2015). Çok hücreli hayvan dokularında hücre dışında bulunan ekstrasellüler matriks, hücreye oksijen ve besin difüzyonu sağlanmasında gözenekli bir yol sağlamaktadır. Hücre dışı matriks, fibröz proteinler ve heteropolisakkaritlerin bir arada bulunduğu ağ şeklinde bir jel yapıdan oluşmaktadır. Fibröz proteinler (kolajen, elastin, fibrinojen) kıkırdak, tendon, deri gibi bağ dokularının hücrelerarası boşluklarında glikozaminoglikanlardan oluşan jel yapısı içerisinde gömülü vaziyette bulunmaktadır (Ötleş vd., 2015). Glikozaminoglikan çözeltilerinin mukoz ve iplikli bir yapı özelliğine sahip olduğundan dolayı yüksek viskozite ve elastikiyete sahip olduğu bilinmektedir (Köksel, 2017).

Glikozaminoglikanlar genellikle dallanmamış bir heteropolisakkarit olarak bilinmektedir. Çekirdek proteinine kovalent olarak bağlanan heteropolisakkarit zincirlerinden doğal olarak oluşan bir makromoleküllerdir. Dallanmış makromolekülün tamamı proteoglikan olarak adlandırılmakta ve bu yapı tüp fırçası benzeri bir konfigürasyona sahiptir. Başka bir deyişle proteoglikanı oluşturan bu polisakkarit zincirlerine GAG'da denilmektedir. Bu yapının yaklaşık olarak molekül ağırlığı 10^3 kDa'dır (Alexander vd., 1996; Coulson vd., 2015). Doğrusal bir polisakkarit olan glikozaminoglikanlar disakkarit bileşimine ve sülfatlanma derecelerine göre adlandırılmaktadır (Scharnweber vd., 2015). Glikozaminoglikanlar sülfatlanmış ve sülfatlanmamış olarak iki temel sınıfa ayrılmaktadır. Kondroitin sülfat, dermatan sülfat, keratan sülfat, heparin ve heparan sülfat sülfatlanmış glikozaminoglikanlar hyalüronik asit ise sülfatlanmamış glikozaminoglikan olarak

bilinmektedir. Kondroitin sülfat kıkırdak, tendon ve aort damarı duvarında; dermatan sülfat kalp kapakçıklarında ve kan damarlarında; keratan sülfat kornea, kıkırdak, kemik, saç, tırnakta bulunmaktadır (Ötleş vd., 2015). Çekirdek proteinine bağlı olarak bulunan kondroitin sülfat, eklem kıkırdağındaki proteoglikanlarda bulunmaktadır (Garnjanagoonchorn vd., 2007). Kondroitin sülfat, art arda gelen N-asetil-D-galaktozamin ve D-glukuronik asit birimlerin oluşmaktadır. Sülfatlanma konumuna bağlı olarak kondroitin-4-sülfat ve kondroitin-6-sülfat olarak ikiye ayrılmaktadır. Kondroitin-4-sülfat yapısında 4 nolu karbon atomu sülfat grubu taşırken, kondroitin-6-sülfat yapısında ise 6 nolu karbon atomu sülfat grubu taşımaktadır (Lohmander vd., 1980). Kondroitin sülfat; kollajen fibril bütünlüğü, hücre içi sinyal iletimi, hücre tanıma, akson oluşumu sırasında hücre yönlendirme, ekstrasellüler matriks bileşeninin glikoprotein yüzeyine bağlanması gibi birçok biyolojik fonksiyona sahiptir (Gilbert vd., 2004). Kondroitin sülfat, tek başına, glikozamin veya diğer bileşenler ile kombinasyon halinde, Avrupa ve ABD'de bir nutrasötik olarak kullanılmaktadır (Volpi, 2009). Glukozamin, eklemlerde oluşan hasarın etkisini azaltan bir amino monosakkarit olarak bilinirken; kondroitin sülfat artrit, arteriyoskleroz (damar sertleşmesi) ve kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Kozakçıoğlu, 2009; Theocharis vd., 2006). Ayrıca glikozaminoglikanların antikoagülan, lipolipidemik, antitümör, antiviral gibi vücudun bağışıklığını destekleyici birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Cui vd., 2012).

Köpek balığı, sığır eti, karides ve domuz daha önceden glikozaminoglikan eldesi için potansiyel bir hammadde kaynağı olarak kullanılmaktayken sonrasında bu kaynakların pahalı olması, alerjik reaksiyonlara sebep olması ve tüketiminin yaygın olarak tercih edilmemesi gibi bazı sorunlar ortaya çıkmıştır. Ticari olarak GAG ekstraksiyonunda

kullanılan yüksek hammadde maliyetinden dolayı farklı GAG kaynaklarına ihtiyacın arttığı görülmektedir. Bu sebeple yapılan çalışmalar sonucunda tavuk ayağı kıkırdığı potansiyel bir GAG kaynağı olarak belirlenmiştir (Widyaningsih vd., 2017).

Gıda endüstrisinde et sektöründe kesim sonrası ortaya çıkan atıklar, çevresel kirliliğe sebep olmakta ve oluşan bu atıkların değerli ürünlere dönüştürülmesi için yeni yöntemler geliştirilmesi gerekmektedir (Martone vd., 2005). Mezbaha ve kümes hayvancılığı kesiminden kaynaklanan atıklar, kıkırdak kaynakları olarak değerlendirilebilmektedir. Kıkırdak, ise temel olarak glikozaminoglikanlar ve kollajenlerden oluşmaktadır (Garnjanagoonchorn vd., 2007; Vázquez vd., 2013). Tavuk kesimhaneye atıklarından biri göğüs kafesi kemiği (sternum), ekstrasellüler matris bileşenlerince zengin olan bir atık olarak bilinmektedir.

Kondroitin sülfat genel olarak alkali yöntem ile, enzimatik yöntem ile ve ultrasonik yöntem ile üç farklı şekilde ekstrakte edilmektedir (He vd., 2014). Alkali ortamda enzimatik hidroliz, kıkırdakta ve bağ dokuda yaygın olarak kondroitin sülfat eldesi için en yaygın yöntem olarak kabul edilmektedir. Alkaliler, kondroitin sülfat ile çekirdek proteini arasındaki kovalent bağları parçalayabilmektedir. Papain, alkalaz, tripsin ve pepsin gibi enzimler ise genellikle kıkırdaktan kondroitin sülfat salınımında proteini hidrolize etmek için seçilmektedir (Wang vd., 2019). Endüstriyel uygulamalarda sığır ve domuz soluk borusu, köpekbalığı yüzgeci gibi hammaddelerden kondroitin sülfat izolasyonu için gerçekleştirilen dört temel işlem basamağı mevcuttur. Hammaddenin kimyasal maddeler ile hidrolizi, proteoglikan çekirdeğinin parçalanması, proteinlerin seçici olarak ortadan kaldırılması, kondroitin sülfat izolasyonu ve saflaştırılması bilinen temel işlem basamaklarıdır (Shi vd., 2014; Vázquez vd., 2013).

Bu çalışmada tavuk sternumundan enzimatik hidrolizasyon yöntemi ile glikozaminoglikan ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Yanıt Yüzey Yöntemi ile enzimatik ekstraksiyon

parametrelerinin GAG verimi üzerine olan etkisinin belirlenmesi ve ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada, GAG üretiminde materyal olarak Abalıoğlu Lezita Gıda Sanayi A.Ş., İzmir' den temin edilen tavuk sternumu kullanılmıştır. Tavuk sternumu kuterde (K+G Wetter, Almanya) 750 rpm başlangıç dönüş hızından 4400 rpm bitiş dönüş hızına kademeli olarak artacak şekilde beşinci devirde boyutu 1 cm x 1 cm x 0.5 cm olacak şekilde parçalanmıştır. Ardından boyutları küçültülen tavuk sternumu porsiyonlara ayrılmış ve ekstraksiyon uygulamasına kadar -18°C sıcaklıktaki soğuk depoda polietilen poşet içerisinde vakumlanarak muhafaza edilmiştir. Her üretim periyodunda aynı partiden hammadde kullanımı gerçekleştirilmiştir. GAG ekstraksiyonunda kullanılan papain (EC 3.4.22.2; 30000 units/mg) enzimi ve gerekli kimyasal maddeler Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

YÖNTEM

Hammadde Bileşim Analizi

Çalışma kapsamında hammadde olarak kullanılan tavuk sternumunun kimyasal kompozisyonunu belirlemek amacıyla nem (AOAC 950.468), kül (AOAC 920.153), yağ (AOAC 960.39) ve protein (AOAC 983.19) analizleri gerçekleştirilmiştir. Toplam karbonhidrat içeriği, toplam ağırlıktan (100g) protein, yağ ve kül miktarı ile nem içeriği arasındaki farkın hesaplanmasıyla tespit edilmiştir (Vázquez vd., 2016).

Enzimatik Hidrolizasyon

Enzimatik hidrolizasyon çalışmasında Le Vien vd. (2017) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilerek glikozaminoglikan ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. GAG ekstraksiyonu için kullanılan tavuk sternumu temizlemek amacıyla su ile yıkanmış ve ardından boyut küçültmesi amacıyla parçalanmıştır. Ön işlemler sonrasında tavuk sternumuna 1:10 (w/v) katı çözügen oranına göre fosfat tamponu eklenmiştir. Gerçekleştirilen ön denemeler sonucunda

belirlenen ekstraksiyon işlem parametreleri göz önünde bulundurularak çözeltiye papain enzimi eklenmiş ve karışım çalkalamalı su banyosu (WSB-30, Dahian, Kore) içerisinde deneme planında yer alan koşullarda ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon işleminin sonunda papain enziminin inaktivasyonu için örnek 100°C'deki kaynayan suda 10 dakika bekletilerek ısı işlem uygulanması sağlanmıştır. Enzim inaktivasyonunun ardından örnek karışımı soğutulmuş ve proteinlerin çöktürülmesi amacıyla, 4°C'de bir gece boyunca 1:10 katı çözgen oranında hazırlanan %10'luk TCA (v/v) çözeltisi ile karıştırılarak bekletilmiştir. İşlem sonunda santrifüj işlemiyle (9000 rpm, 4°C, 30 dakika) (Universal 320R Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Almanya) çöktürülen alt faz uzaklaştırılmış, üst faz ise 1:2 (v/v) oranında eklenen %95'lik (v/v) etanol ile 1 gece boyunca karıştırılarak çöktürülmüştür. Elde edilen çökelti 9000 rpm'de 4°C'de 30 dakika santrifüj edilerek toplanmıştır. Santrifüj sonrasında toplanan alt fazlar saf suda 1:20 (w/v) oranda çözdürülerek 48 saat boyunca saf suya karşı 3.5 kDa'luk diyaliz membran (Thermo Fisher SnakeSkin™, 3.5 K MWCO, 16 mm) içerisinde diyaliz edilmiştir. Diyaliz işlemi sonunda örnekler liyofilizatör (Martin Christ Alpha 1-2 LD plus, Osterode am Harz, Almanya) kullanılarak -56°C'de 48 saat liyofilize edilmiştir. Liyofilize GAG örnekleri analiz edilinceye kadar -18°C'de saklanmıştır.

Sülfatlı Glikozaminoglikan Analizi ile GAG Veriminin Belirlenmesi

Ekstraksiyonu gerçekleştirilen GAG örneklerinin kondroitin sülfat içeriği dimetilmetilen mavisi (DMMB) yöntemi ile kondroitin-4-sülfat standardı kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile belirlenmiştir. İlk olarak, Whattman® 3MM filtre kâğıdı kullanarak DMMB reaktifi hazırlanmıştır (pH=3.0). Boya çözeltisi 1 litre su içinde 3.04 g glisin, 1.6 g NaCl ve 95 ml 0.1M asetik asit içerecek şekilde hazırlanmış bunun içinde 16 mg DMMB boya kullanılmıştır. Standart çözelti (kondroitin-4-sülfat) (500 µg/ml su) olacak şekilde hazırlanmıştır, daha sonra su ile 20 µl'ye tamamlanmıştır. 96 kuyulu mikropilaya içine her numunedan pipet ile 20 µl çekilmiştir. Ardından 200 µl DMMB eklenerek 5 saniye çalkalanmıştır.

Daha sonra 525 nm dalga boyunda plaka okuyucu (UV/VIS Multi well Spektrofotometre/Thermo Scientific Multiskan GO) kullanarak absorpsiyon değeri ölçülmüştür (Farndale vd., 1986).

Standart eğrinin çizilmesi için 1 mg kondroitin sülfat standardı (Sigma C9819) 5 mL saf suda çözdürülmüştür. Hazırlanan bu stok çözeltiden 0-70 ppm konsantrasyon aralığında kondroitin sülfat çözeltileri hazırlanmıştır. Örneklerin analizinde ise; liyofilize GAG örnekleri saf suda 5mg/50mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Analiz için 20 µL örnek alınarak 200 µl DMMB boyası ilave edilmiştir. Oluşan rengin absorpsiyon değeri 525 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Tavuk sternumundan elde edilen glikozaminoglikana ait verim Eşitlik (1) kullanılarak elde edilmiştir.

$$GAG \text{ verimi } (\%) = \frac{\text{Liyofilize ürünün } g \text{ GAG içeriği}}{\text{Hammaddenin kuru temelde } g \text{ ağırlığı}} \times 100 \quad (1)$$

Deneyel Tasarım ve Yanıt Yüzey Yöntemi ile Enzimatik Hidrolizasyon Koşullarının Optimizasyonu

İşlem koşullarının optimizasyonu dört faktörlü Merkezi Tümeleşik Tasarım yöntemi kullanılarak Design Expert v.7 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) programı aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Bu beş düzey; +1 ve -1 ile ifade edilen faktöriyel noktalar, +α ve -α ile ifade edilen eksenel noktalar, 0 olarak ifade edilen merkez noktalarından oluşmaktadır.

Optimizasyon çalışmasında bağımsız işlem değişkenleri olarak enzim miktarı (%0.6-%1.2 aralığı), fosfat tamponu pH değeri (6.5-7.5 aralığı), ekstraksiyon sıcaklığı (60°C-70°C) ve süresi (10-20 saat aralığı); yanıt olarak GAG verimi seçilmiştir. Bağımsız işlem değişkenleri ve yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel modeller çoklu lineer regresyon analizi gerçekleştirilerek oluşturulmuş ve yanıt için uygun model belirlenmiştir. İşlem değişkenlerinin her bir yanıt üzerindeki etkisi ve optimizasyon için seçilecek en uygun model varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir. Ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen yanıtların

regresyon analizi için Eşitlik (2)'de verilen model kullanılmıştır.

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

Belirtilen matematiksel modelde Y yanıt değişkenini, β_0 ve β_i sırasıyla sabit ve lineer

katsayıyı temsil etmektedir. β_{ij} değişkenler arasındaki katsayıyı, k faktör sayısını ve e rastgele hatayı temsil etmektedir (Leong vd., 2013).

Çizelge 1'de tavuk sternumdan GAG eldesi için belirlenen bağımsız değişkenler ve kodlanmış seviyeleri gösterilmiştir.

Çizelge 1. GAG ekstraksiyonu için bağımsız değişkenlerin deneysel aralığı ve kodlanmış seviyeleri
Table 1. The experimental range and coded levels of the independent variables for GAG extraction

Bağımsız Değişkenler <i>Independent Variables</i>	Kodlanmış Sembol <i>Coded Symbol</i>	Kodlanmış Seviyeler <i>Coded Levels</i>				
		-2	-1	0	1	2
Enzim Miktarı (%ow/w _{protein}) <i>Enzyme Amount (%ow/w_{protein})</i>	X ₁	0.3	0.6	0.9	1.2	1.5
pH	X ₂	6.0	6.50	7.0	7.5 0	8.0
Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C) <i>Extraction Temperature (°C)</i>	X ₃	55	60	65	70	75
Ekstraksiyon Süresi (saat) <i>Extraction Time (hour)</i>	X ₄	5	10	15	20	25

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 22.0 ve Design Expert 7.0 paket programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tahminlenen değerler ile deneysel veriler arasında fark olup olmadığını tek örnek t-testi kullanılarak, uygulanan regresyon analizi, istatistiksel analizler, izohips grafikleri, yanıt yüzey grafikleri ve optimizasyon işlemleri

Design Expert 7.0 (Stat-Ease Inc., ABD) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Hammadde Bileşim Analizi

Tavuk sternumunun kimyasal bileşimi Çizelge 2'de belirtilmiştir.

Çizelge 2. Hammaddeye ait kimyasal bileşim analiz sonuçları
Table 2. Chemical composition analysis results of raw material

Kimyasal Bileşim* <i>Chemical Composition</i>	Tavuk Sternumu (%) <i>Chicken Sternum (%)</i>
Nem (<i>Moisture</i>)	81.01±0.43
Protein (<i>Protein</i>)	12.64±0.36
Yağ (<i>Fat</i>)	0.42±0.05
Karbonhidrat (<i>Carbohydrate</i>)	4.18±0.52
Kül (<i>Ash</i>)	1.75±0.01

*Yaş temel **Wet basis*

Yapılan bir çalışmada kıkırdak matriksinin genel olarak %10-25 kolajen, %5-15 proteoglikan %70-80 sudan oluştuğu belirtilmiştir (Horkay, 2012). Akram ve Zhang (2020) tarafından tavuk sternal kıkırdagından kolajen ekstraksiyonu üzerine gerçekleştirilen çalışmada kıkırdak

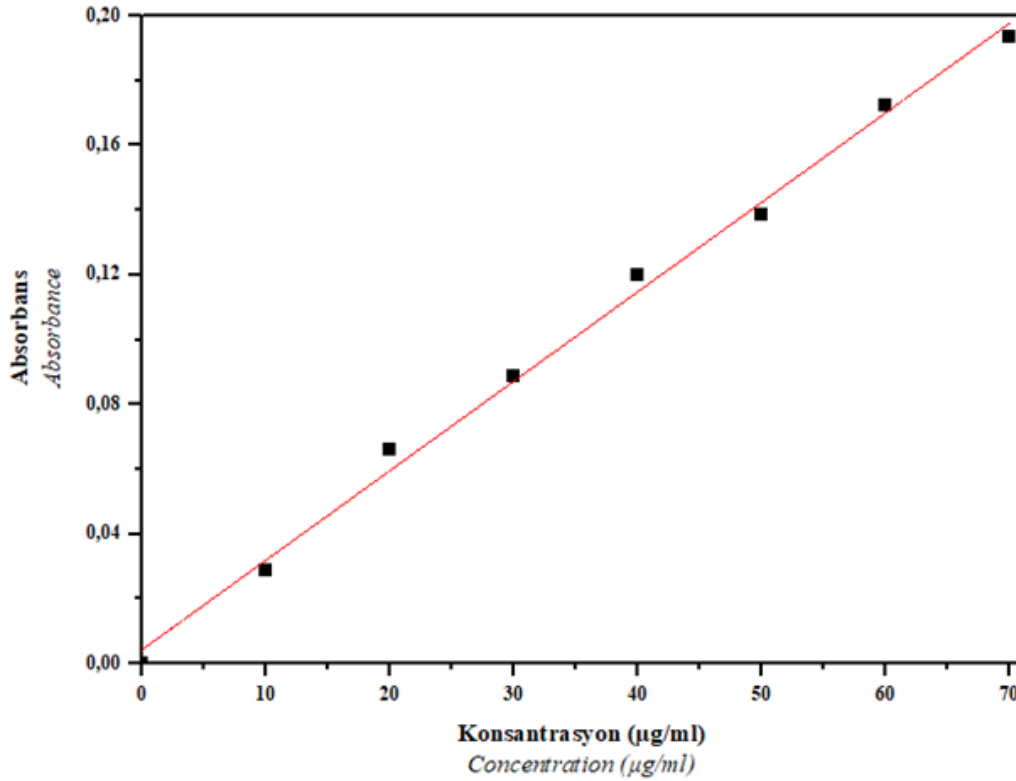
dokusunun bileşiminin %74.32 nem, %0.17 yağ, %2.30 kül, %12.7 protein ve %10.51 karbonhidrat içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Tavuk sternumunun kimyasal bileşimi literatürde yapılan çalışmalar ile kıyaslandığında sonuçların benzer olduğu tespit edilmiştir.

Sülfatlı Glikozaminoglikan Analizi ile GAG İçeriğinin Belirlenmesi

Şekil 1'de kondroitin-4-sülfat standardına ait standart eğri verilmiştir. Örneklerin içerdiği kondroitin-4-sülfat konsantrasyonu miktarı

Eşitlik (3) ($R^2=0.9957$) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$y = 0.0028x + 0.004 \quad (3)$$



Şekil 1. Kondroitin-4-sülfat standart eğrisi
Figure 1. Chondroitin-4-sulfate standard curve

Örneklerin içerdiği glikozaminoglikan konsantrasyonu belirlendikten sonra Eşitlik 1 kullanılarak ekstraksiyon verim değerleri hesaplanmıştır.

Deneyel Tasarım ve Yanıt Yüzey Yöntemi ile Enzimatik Hidrolizasyon Koşullarının Optimizasyonu

Ekstraksiyon işlem koşullarının belirlenmesi için Merkezi Tümlleşik Tasarım kullanılmıştır. Optimizasyon çalışmasında işlem değişkenleri olarak enzim miktarı (%0.6 - %1.2 aralığı), fosfat tamponu pH değeri (6.5 - 7.5 aralığı) ekstraksiyon sıcaklığı (60°C - 70°C aralığı) ve süresi (10 - 20 saat aralığı) belirlenmiştir. Yanıt

olarak ise GAG verimi seçilmiştir. İşlem değişkenlerinin her bir yanıt üzerindeki etkisi ve optimizasyon için seçilecek en uygun model, varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir.

Tavuk sternumundan glikozaminoglikan ekstraksiyonuna ait olan deneme planı ve bu plana göre gerçekleştirilen denemelere ait deneysel sonuçlar Çizelge 3'de belirtilmiştir. Belirtilen deneme planında sırasıyla X₁: enzim miktarı (%w/w_{protein}), X₂: pH, X₃: ekstraksiyon sıcaklığı (°C), X₄: ekstraksiyon süresi değişkenler olarak; GAG verimi yanıt olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 3. Kodlanmış değerlerde CCRD planı ve gözlemlenen yanıt
Table 3. CCRD plan in coded value and observed response

Deney No <i>Trial No</i>	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	GAG verimi (%) <i>GAG yield (%)</i>
1	1	1	1	1	15.86
2	0	0	0	0	26.59
3	0	0	0	0	28.50
4	1	-1	-1	1	12.18
5	1	1	1	-1	20.05
6	1	1	-1	1	14.55
7	-1	-1	-1	-1	22.19
8	1	-1	1	-1	11.00
9	0	2	0	0	16.63
10	-1	1	1	1	13.38
11	-1	1	-1	-1	20.72
12	-1	-1	1	-1	12.82
13	0	0	0	-2	12.39
14	0	0	-2	0	17.93
15	-1	1	1	-1	17.01
16	-1	1	-1	1	13.66
17	0	0	0	0	28.15
18	1	1	-1	-1	11.05
19	-1	-1	1	1	11.55
20	0	0	0	0	28.66
21	1	-1	-1	-1	10.42
22	0	0	0	0	27.83
23	0	-2	0	0	11.76
24	1	-1	1	1	10.77
25	-1	-1	-1	1	18.03
26	0	0	0	2	11.00
27	2	0	0	0	13.54
28	0	0	2	0	13.20
29	-2	0	0	0	21.62
30	0	0	0	0	27.26

X₁: Enzim Miktarı (%ow/w_{protein}), X₂: pH, X₃: Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C), X₄: Ekstraksiyon Süresi (saat)
X₁: Enzyme Amount (%ow/w_{protein}), X₂: pH, X₃: Extraction Temperature (°C), X₄: Extraction Time (hour)

Her bir faktörün yanıt üzerindeki lineer, interaksiyon ve kuadratik etkilerinin istatistiksel olarak önemliliği F ve P-değerleri değerlendirilerek belirlenmiştir. GAG verimi tahminlenmesi için model uyumluluğu aşağıda belirtildiği gibi ikinci dereceden polinomiyal denklem Eşitlik (4) ile açıklanmıştır.

$$GAG \text{ verimi } (\%) = +27.83 - 1.65X_1 + 1.13X_2 - 0.83X_3 - 0.75X_4 + 1.06X_1X_2 + 1.83X_1X_3 + 1.06X_1X_4 + 1.44X_2X_3 - 0.47X_2X_4 - 0.21X_3X_4 - 2.57X_1^2 - 3.42X_2^2 - 3.08X_3^2 - 4.04X_4^2 \quad (4)$$

Elde edilen kuadratik modelin deneysel verilerle istatistiksel uyumunu incelendiğinde modelin varyasyonun büyük bir kısmını açıkladığı görülmektedir (R²> 0.97). Aynı zamanda R² ile Düzeltilmiş-R² değeri arasındaki farkın %2'nin altında olması (birbirlerine yakın olması) modelin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Bir regresyon modelinin daha sonra yapılacak gözlemler için bir tahminleme modeli olarak kullanılabilmesi için ise yeterli tahminleme ve PRESS istatistiği değerleri önem taşımaktadır. Yeterli tahminleme değerinin 4'den

büyük olması gerekmektedir (Myers ve Montgomery, 1995). Varyasyon katsayısı (C.V. %) deneysel verilerdeki kalıntı varyasyonun ortalamaya bağlı bir ölçüsüdür. Büyük varyasyon katsayısı değerleri, verilerin ortalamadan çok fazla saptıklarını, küçük varyasyon katsayısı değerleri ise verilerin hemen hemen ortalamaya aynı değere sahip olduğunu göstermektedir (Lazic, 2004). Varyasyon katsayısı, CV= %8.02, gerçekleştirilecek deneylerin tahmin

edilebilirliğinin ve güvenilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir. İkinci dereceden regresyon modelinin ANOVA analiz sonuçları incelendiğinde (Çizelge 4) modele ait Fisher F testi düşük istatistik değerine sahip [$(P_{\text{model}} > F) = 0.0001$] olduğundan kuadratik model uyum eksikliği göstermemiş ve regresyon %95 güven aralığında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4. Kuadratik model için belirlenen varyans analiz tablosu (ANOVA)

Table 4. Analysis of variance table for quadratic model (ANOVA)

Kaynak <i>Source</i>	Kareler Toplamı <i>Sum of Squares</i>	SD <i>DF</i>	Karelerin ortalaması <i>Mean Square</i>	F Değeri <i>F Value</i>	P-Değeri <i>P-Value</i>
Model <i>Model</i>	1114.55	14	79.61	41.11	< 0.0001
Kalıntı <i>Residual</i>	29.05	15	1.94		
Uyum Eksikliği <i>Lack of Fit</i>	25.93	10	2.59	4.16	0.0647
Saf Hata <i>Pure Error</i>	3.12	5	0.62		
Toplam <i>Total</i>	1143.60	29			

$R^2 = 0.9746$, Düzeltilmiş $R^2 = 0.9509$, Varyasyon Katsayısı (%) = 8.02, SD: Serbestlik Derecesi $R^2 = 0.9746$, *Adjusted R^2 = 0.9509*, *Coefficient of Variation (%) = 8.02*, *DF: Degrees of Freedom*

Her bir faktörün yanıt üzerindeki lineer, interaksiyon ve kuadratik etkilerinin istatistiksel olarak önemliliği Çizelge 5'de listelenen T ve P-değerleri göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir. En küçük kareler uyumu ve parametre tahminleri incelendiğinde Çizelge 5'te yer alan X_2X_4 ve X_3X_4 interaksiyon etki değerleri haricinde, diğer lineer, kuadratik ve interaksiyon etki değerleri anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

Şekil 2'de GAG verimini tahmin etmede kullanılan yanıt yüzey grafiklerini görülmektedir.

Tavuk sternumundan farklı hidrolizasyon koşullarında elde edilen glikozaminoglikan ekstraktının verim değerlerinin sonuçları Çizelge 3'te belirtilmiştir. Ekstraksiyon verim değerleri %10.42 ile %28.66 arasında değişmektedir. Ekstraksiyon verimi değerlerine ait regresyon katsayıları ve parametre tahminleri çizelgesi (Çizelge 5) incelendiğinde, enzim miktarı, pH, sıcaklık ve süre değişkenlerinin yanıt üzerine etkisi anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

3 boyutlu yanıt yüzey izohips eğrileri incelendiğinde artan pH değerinde enzim miktarının %0.8 seviyesine kadar artırılması GAG verim değerini optimum noktaya ulaştırırken enzim miktarında artışın devam etmesi ile verim değerinde azalma gözlemlenmiştir. Enzim miktarı ve pH değeri sabit tutulup ekstraksiyon sıcaklık değeri artırıldığında ise GAG veriminin azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum enzimin çalıştığı optimum sıcaklık koşulunun 65°C civarında olduğu ile ilişkilendirilmektedir Enzim miktarı ve sıcaklık değerinin yüksek seviyelere artırılmasının GAG verimi üzerinde negatif bir etkide bulunduğu görülmektedir. GAG ekstraksiyonunda optimum pH değerinin 7 civarında olduğu artan pH değerinin verimi azalttığı izohips eğrilerinden anlaşılmaktadır. Garnjanagoonchorn vd. (2007) timsah, köpekbalığı, vatoz ve tavuk omurgası kullanarak enzimatik yöntem ile kondroitin sülfat ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir. 100 g kurutulmuş örnekte kondroitin-4 sülfat

miktarının 11.55 ile 14.84 g aralığında değiştiğini belirlemişlerdir. Luo vd. (2002) tavuk omurga kıkırdığı kullanarak yaptığı çalışmada yaklaşık olarak %30.8 verim ile kondroitin sülfat eldesi gerçekleştirmiştir. Srichamroen vd. (2013) hammadde olarak etlik piliç kıkırdığı kullanarak doku otolizi ile kondroitin sülfat-peptit eldesi gerçekleştirmiştir. Çalışma sonucunda 100 g kuru

kıkırdak dokudan 20 g'dan fazla kondroitin sülfat-peptit elde edilmiştir ve izole edilen kondroitin sülfat-peptit bileşiminin %82.5'ini kondroitin-4-sülfatın oluşturduğu tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında tavuk sternumundan elde edilen glikozaminoglikan verimi literatürde belirtilen verim değerlerine benzerlik göstermektedir.

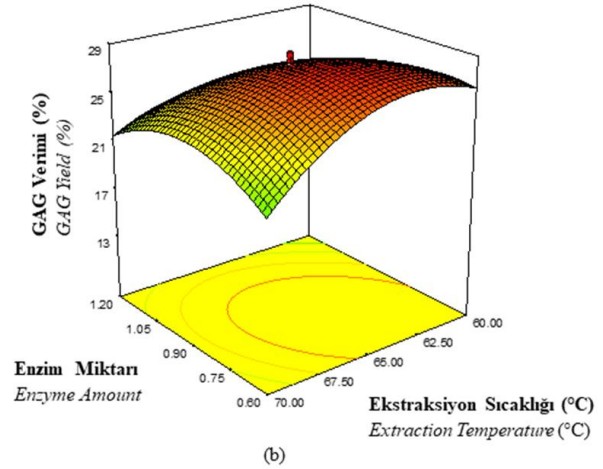
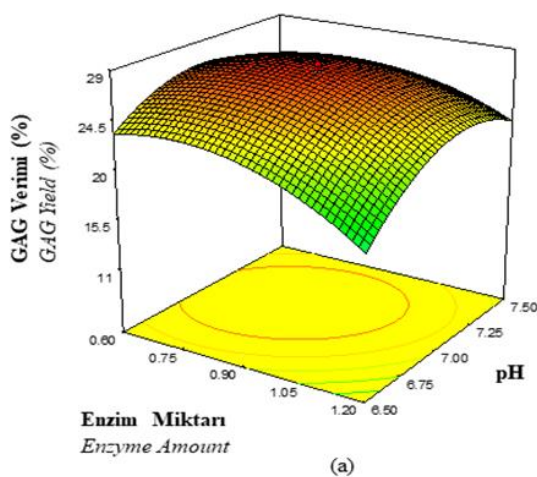
Çizelge 5. En küçük kareler uyumu ve parametre tahminleri (regresyon katsayılarının önemi)

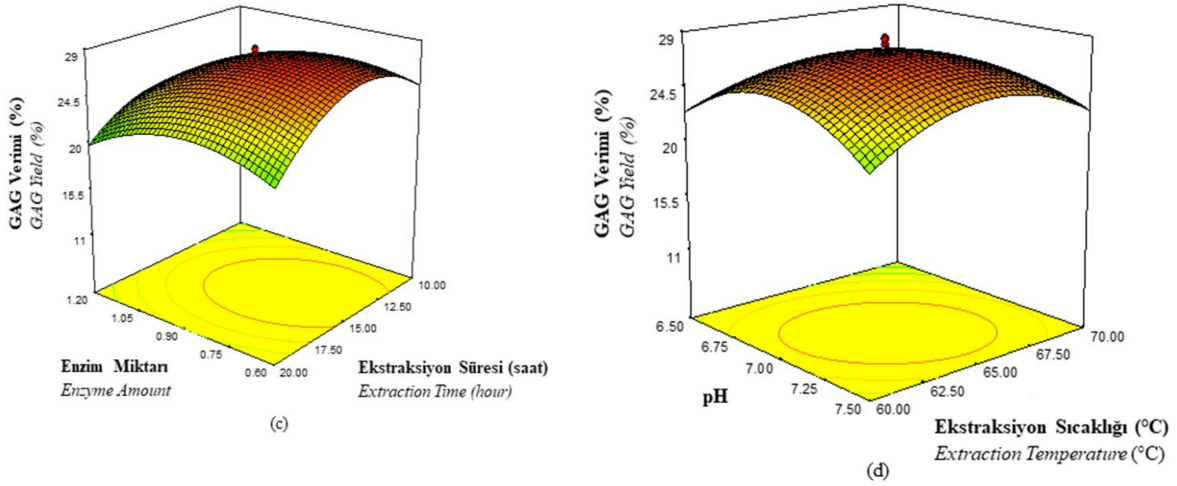
Table 5. The least-squares fit and parameter estimates (significance of regression coefficients)

Model Terimi <i>Model Term</i>	Tahminlenen Değer <i>Parameter Estimate</i>	Hesaplanmış T-değeri <i>Computed T-Value</i>	P-değeri <i>P-Value</i>
Kesim Noktası	27.83	48.82	-
X ₁	-1.65	-5.89	< 0.0001
X ₂	1.13	4.03	0.0012
X ₃	-0.83	-2.96	0.0109
X ₄	-0.75	-2.68	0.0183
X ₁ X ₂	1.06	3.03	0.0082
X ₁ X ₃	1.83	5.23	< 0.0001
X ₁ X ₄	1.06	3.03	0.0082
X ₂ X ₃	1.44	4.11	0.0009
X ₂ X ₄	-0.47	-1.34	0.2000
X ₃ X ₄	-0.21	-0.60	0.5535
X ₁ ²	-2.57	-9.52	< 0.0001
X ₂ ²	-3.42	-12.67	< 0.0001
X ₃ ²	-3.08	-11.41	< 0.0001
X ₄ ²	-4.04	-14.96	< 0.0001

X₁: Enzim Miktarı (%ow/w_{protein}), X₂: pH, X₃: Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C), X₄: Ekstraksiyon Süresi (saat)

X₁: Enzyme Amount (%ow/w_{protein}), X₂: pH, X₃: Extraction Temperature (°C), X₄: Extraction Time (hour)





Şekil 2. GAG ekstraksiyonunda kullanılan bağımsız değişken etkileşimlerinin GAG verimi (%) üzerindeki etkisini gösteren 3 boyutlu yanıt yüzey izohips eğrileri. (a) enzim miktarı ve pH, (b) enzim miktarı ve ekstraksiyon sıcaklığı, (c) enzim miktarı ve ekstraksiyon süresi, (d) pH ve ekstraksiyon sıcaklığı

Figure 2. 3D response surface isobands curves showing the effect of independent variable interactions used in GAG extraction on GAG yield (%). (a) enzyme amount and pH, (b) enzyme amount and extraction temperature, (c) enzyme amount and extraction time, (d) pH and extraction temperature

Optimum İşlem Koşulunun Belirlenmesi

Gerçekleştirilen istatistiksel testler sonucunda yanıt için belirlenen model “istenilirlik fonksiyonu” yöntemiyle belirlenmiştir. Çalışılan deneysel bölge içerisinde enzim miktarı (%0.6- %1.2 aralığında) ve ekstraksiyon süresinin (10-20 saat aralığı) minimize edilmesi, pH (6.5-7.5) ile ekstraksiyon sıcaklığı (60°C-70°C) değerlerinin kodlanmış seviyeler aralığında bırakılması, GAG verimi değerinin ise maksimize edilmesi kriteri seçilerek optimum işlem koşulları bulunmuştur. Optimizasyon çalışması sonucunda optimum işlem parametreleri; %0.6 enzim miktarı, 6.99 fosfat tamponu pH değeri, 62.96°C ekstraksiyon sıcaklığı ve 10.79 saat ekstraksiyon süresi olarak tespit edilmiştir. Yanıt olarak öngörülen GAG

verim değeri 0.912 istenilebilirlik düzeyinde %26.07 olarak öngörülmüştür.

Doğrulama Analizleri

Modelden tahminlenen optimum işlem parametrelerinin deneysel olarak doğrulaması gerçekleştirilmiştir. Modele göre belirlenmiş optimum işlem koşullarında beş deneme gerçekleştirilmiştir. Doğrulama denemeleri ile modelden tahminlenen yanıt arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı tek örnek t-testi ile belirlenmiştir. Sonuçlar, deneysel GAG veriminin minimum %95 güven aralığı (%23.69) ile maksimum %95 güven aralığı (%26.64) sınırları dahilinde olduğunu göstermiştir (Çizelge 6).

Çizelge 6. Optimizasyon sonuçlarının deneysel olarak doğrulanması için belirlenen istatistiksel analiz sonuçları

Table 6. Statistical analysis results determined for experimental verification of the optimization results

Yanıt Response	Tahminlenen Değer Estimated Parameter	Deneysel Değer Experimental Value	OSH MSE	% Hata* % Error*
GAG verim (%) GAG yield (%)	26.07	25.58±0.46	0.207	1.92

OSH: Ortalama Standart Hata, *% Hata= (|Deneysel Değer-Tahminlenen Değer|/Deneysel Değer) x 100
MSE: Mean Standard Error, *% Error= (|Experimental Value-Parameter Estimate|/Experimental Value) x 100

Doğrulama denemeleri sonucunda sternumdan elde edilen GAG verimi modelden tahminlenen değere oldukça yakın olmakla beraber, istatistiksel olarak da aralarındaki fark önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$). Rani vd. (2017), 0.1 M sodyum asetat tamponu içerisinde papain enzimi kullanarak 65 °C'de, 24 saat ekstraksiyon süresiyle tavuk omurga kırıkdağından kondroitin sülfat ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir. Yapılan bu çalışmada kondroitin sülfat ekstraksiyon verimi %15 olarak tespit edilmiştir. Le Vien vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada ise tavuk omurga kırıkdağından papain enzimi kullanılarak GAG ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve ekstraksiyon verimi %25.7 olarak belirlenmiştir. Gerçekleştirilen çalışmaya ait optimum işlem koşulları; %0.85 enzim miktarı, 5.81 fosfat tamponu pH değeri, 53.34°C ekstraksiyon sıcaklığı ve 204 dakika ekstraksiyon süresi olarak tespit edilmiştir. Tavuk sternumundan GAG ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği bu çalışmada ise ekstraksiyon verimi %26.07 olarak bulunmuştur. Elde edilen verim değerinin ve optimum hidrolizasyon parametrelerinin literatürde verilen değerlerle kıyaslanabilir nitelikte olduğu görülmektedir.

SONUÇ

Tavuk kesimi sonrasında pek çok farklı atık ortaya çıkmaktadır ve oluşan bu atıkların değerlendirilmesi gerekmektedir. Gıda sektöründe oluşan bu atıklardan katma değeri yüksek bileşenlerin elde edilmesine yönelik araştırmalar son yıllarda giderek artmaktadır. Günümüzde kondroitin sülfat yaygın olarak artrit tedavisinde kullanılmaktadır. Sağlık üzerinde sergilediği pozitif etkilerinin yanı sıra kozmetik ve eczacılık sektöründe, biyo ve nanoteknolojik süreçlerdeki uygulamalarında kondroitin sülfata olan ilginin giderek arttığı bilinmektedir. Bu çalışmada tavuk kesimi sonrasında ortaya çıkan tavuk sternumundan enzimatik hidrolizasyon yöntemi ile papain enzimi kullanılarak glikozaminoglikan ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Optimum ekstraksiyon işlem parametreleri yanıt yüzey yöntemine göre belirlenmiştir. Ekstraksiyon işlem parametrelerinin GAG verimi üzerine etkisi ikinci dereceden polinomial model ile

açıklanmıştır. Belirlenen kriterlere göre optimum işlem koşuluna %0.6 enzim miktarında, 6.99 pH değerinde, 10.79 saat işlem süresinde ve 62.96°C sıcaklıkta, %26.07 verim ile ulaşılabilmektedir. Elde edilen optimum işlem parametrelerinin altında ya da üzerinde gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi çalışmalarının ekonomik olmayacağı ve zaman kaybına yol açabileceği düşünülmektedir. Gerçekleştirilen ekstraksiyon çalışmasında tavuk sternumunun potansiyel bir glikozaminoglikan kaynağı olacağı belirlenmiştir. Gelecek yıllarda GAG üzerinde daha spesifik çalışmaların yapılacağı ve çalışma sonucunda elde edilen verilerin yeni çalışmalara imkan sağlayabileceği düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

Seher KUMCUOĞLU ve Şebnem TAVMAN çalışma konusu belirleme, yöntem, makalenin yazımı ve danışmanlık kısımlarında katkı sağlamışlardır. Çiçe KARAMAN analizlerin gerçekleştirilmesi, sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi, yorumlanması ve makalenin yazım aşamalarında görev almıştır. Sibel Kaya BAYRAM hammadde temininde ve bileşim analizlerinin gerçekleştirilmesi sırasında katkı sağlamıştır. Tüm yazarlar tarafından makalenin son hali okunmuş ve onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü [Proje No: FYL-2020-22497 ve FBG-2020-21468] tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Akram, A.N., Zhang, C. (2020). Extraction of collagen-II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64(2020): 105053, doi: 10.1016/j.ultsonch. 2020.105053.

Alexander, H., Brunski, J.B., Cooper, S.L., Hench, L.L., Hergenrother, R.W., Hoffman, A.S., Yannas, I.V. (1996). Classes of materials

- used in medicine. In: Biomaterials Science, Ratner, B.D. (ed.), Hoffman, A.S., Schoen, F.J., Lemons, J.E, Academic Press, the UK, pp. 37-130.
- Coulson-Thomas, Y.M., Coulson-Thomas, V.J., Norton, A.L., Gesteira, T.F., Cavalheiro, R.P., Meneghetti, M.C.Z., Nader, H.B. (2015). The identification of proteoglycans and glycosaminoglycans in archaeological human bones and teeth. *PLoS ONE*, 10(6): e0131105, doi: 10.1371/journal.pone.0131105.
- Cui, Q., Li, G., Yuan, C. (2012). Optimization of glycosaminoglycan extraction on *Patinopecten yessoensis* waste. *Procedia Environmental Sciences*, 16 (2012): 131-137, doi: 10.1016/j.proenv.2012.10.018.
- Farndale, R.W., Buttle, D.J., Barrett, A.J. (1986). Improved quantitation and discrimination of sulphated glycosaminoglycans by use of dimethylmethylene blue. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 883(2): 173-177.
- Garnjanagoonchorn, W., Wongekalak, L., Engkagul, A. (2007). Determination of chondroitin sulfate from different sources of cartilage. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(5):465-471, doi: 10.1016/j.ccep.2006.05.019.
- Gilbert, M.E., Kirker, K.R., Gray, S.D., Ward, P.D., Szakacs, J.G., Prestwich, G.D., Orlandi, R.R. (2004). Chondroitin sulfate hydrogel and wound healing in rabbit maxillary sinus mucosa. *The Laryngoscope*, 114(8): 1406-1409, doi: 10.1097/00005537-200408000-00017.
- He, G., Yin, Y., Yan, X., Yu, Q. (2014). Optimisation extraction of chondroitin sulfate from fish bone by high intensity pulsed electric fields. *Food Chemistry*, 164 (2014): 205-210, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.032.
- Horkay, F. (2012). Interactions of cartilage extracellular matrix macromolecules. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 50(24): 1699-1705, doi: 10.1002/polb.23191.
- Kozakçioğlu, M. (2009). Osteoartrit ve Glukozamin/Osteoarthritis and Glucosamine. *Turkish Journal of Rheumatology*, 24(2):94.
- Köksel, H. (2017). Karbonhidratlar. *Gıda Kimyası*, Saldamlı, İ. (baş ed.), Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye, s. 124-127.
- Lazic, Z. R. (2004). *Design of Experiment in Chemical Engineering*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 1-152p. ISBN: 978-3-527-31142-2.
- Le Vien, N.T., Nguyen, P.B., Cuong, L.D., An, T.T.T., Dao, D.T.A., (2017). Optimization of papain hydrolysis conditions for release of glycosaminoglycans from the chicken keel cartilage. *AIP Conference Proceedings 1878(1)*, September 2017, doi: 10.1063/1.5000177.
- Leong, W.C., Abdullah, M.Z., Khor, C.Y., (2013). Optimization of flexible printed circuit board electronics in the flow environment using response surface methodology. *Microelectronics Reliability*, 53(2013): 1996-2004, doi: 10.1016/j.microrel.2013.06.008.
- Lohmander, L.S., De Luca, S., Nilsson, B., Hascall, V.C., Caputo, C.B., Kimura, J.H., Heinegard, D. (1980). Oligosaccharides on proteoglycans from the swarm rat chondrosarcoma. *Journal of Biological Chemistry*, 255(13): 6084-6091, doi: 10.1016/S0021-9258(18)43704-0.
- Luo, X.M., Fosmire, G.J., Leach Jr, R.M. (2002). Chicken keel cartilage as a source of chondroitin sulfate. *Poultry Science*, 81(7): 1086-1089, doi: 10.1093/ps/81.7.1086.
- Martone, C.B., Borla, O.P., Sánchez, J.J. (2005). Fishery by-product as a nutrient source for bacteria and archaea growth media. *Bioresource Technology*, 96(3): 383-387, doi: 10.1016/j.biortech.2004.04.008.
- Myers, R.H., Montgomery, D.C. (1995). *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*, John Wiley & Sons, New York, USA, 156-179p. ISBN:978-1-118-91601-8.
- Ötleş, S., Özdeştan Ocak, Ö., Nakilcioğlu Taş, E., Kartal, C., Özyurt, H. (2015). *Gıda Kimyası*. Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir, Türkiye, 115-116s.
- Rani, A., Baruah, R., Goyal, A. (2017). Physicochemical, antioxidant and biocompatible

- properties of chondroitin sulphate isolated from chicken keel bone for potential biomedical applications. *Carbohydrate Polymers* 159: 11- 19, doi: 10.1016/j.carbpol.2016.12.015.
- Scharnweber, D., Hübner, L., Rother, S., Hempel, U., Anderegg, U., Samsonov, S.A., Pisabarro, M.T., Hofbauer, L., Schnabelrauch, M., Franz, S., Simon J., Hintze, V. (2015). Glycosaminoglycan derivatives: promising candidates for the design of functional biomaterials. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26(9):1-10, doi: 10.1007/s10856-015-5563-7.
- Shi, Y.G., Meng, Y.C., Li, J.R., Chen, J., Liu, Y.H., Bai, X. (2014). Chondroitin sulfate: Extraction, purification, microbial and chemical synthesis. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 89(10): 1445-1465, doi: 10.1002/jctb.4454.
- Srichamroen, A., Nakano, T., Pietrasik, Z., Ozimek, L., Betti, M. (2013). Chondroitin sulfate extraction from broiler chicken cartilage by tissue autolysis. *LWT-Food Science and Technology*, 50(2): 607-612, doi: 10.1016/j.lwt.2012.07.039.
- Theocharis, A.D., Tsolakis, I., Tzanakakis, G.N., Karamanos, N.K. (2006). Chondroitin sulfate as a key molecule in the development of atherosclerosis and cancer progression. *Advances in Pharmacology*, 53: 281-295, doi: 10.1016/S1054-3589(05)53013-8.
- Uslu, M.Ö., Eltas, Ş.D. (2015). Peridontal hastalıklarda MMP-8'in rolü. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 25: 80-85, doi:10.17567/dfd.75960.
- Vázquez, J.A., Blanco, M., Fraguas, J., Pastrana, L., Pérez-Martín, R. (2016). Optimisation of the extraction and purification of chondroitin sulphate from head by-products of Prionace glauca by environmental friendly processes. *Food Chemistry*, 198(2016): 28-35, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.087.
- Vázquez, J.A., Rodríguez-Amado, I., Montemayor, M.I., Fraguas, J., González, M.D.P., Murado, M.A. (2013). Chondroitin sulfate, hyaluronic acid and chitin/chitosan production using marine waste sources: Characteristics, applications and eco-friendly processes: A review. *Marine Drugs*, 11(3), 747-774, doi: 10.3390/md11030747.
- Volpi, N. (2009). Quality of different chondroitin sulfate preparations in relation to their therapeutic activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61(10): 1271-1280, doi: 10.1211/jpp.61.10.0002.
- Wang, X., Shen, Q., Zhang, C., Jia, W., Han, L., Yu, Q. (2019). Chicken leg bone as a source of chondroitin sulfate. *Carbohydrate Polymers*, 207:191-199, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.11.086.
- Widyaningsih, T.D., Rukmi, W.D., Sofia, E., Wijayanti, S.D., Wijayanti, N., Ersalia, R., Nangin, D. (2017). Extraction of glycosaminoglycans containing glucosamine and chondroitin sulfate from chicken claw cartilage. *Research Journal of Life Science*, 3(3): 181-189, doi: 10.21776/ub.rjls.2016.003.03.7.



VURGULU IŞIK İLE İŞLENEN MEYVE VE SEBZE SULARININ KALİTESİ

Pınar Ankaralığıl^{1,2}, Bengi Hakgüder Taze^{1*}

¹Uşak Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Uşak, Türkiye

²Uşak İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Gıda ve Yem Şubesi, Uşak, Türkiye

Geliş / Received: 23.02.2022; Kabul / Accepted: 27.05.2022; Online baskı / Published online: 11.08.2022

Ankaralığıl, P., Hakgüder-Taze, B. (2022). Vurgulu ışık ile işlenen meyve ve sebze sularının kalitesi. *GIDA* (2022) 47 (4) 663-678 doi: 10.15237/gida.GD22029

Ankaralığıl, P., Hakgüder-Taze, B. (2022). *Quality of fruit and vegetable juices treated by pulsed light*. *GIDA* (2022) 47 (4) 663-678 doi: 10.15237/gida.GD22029

ÖZ

Günümüzde tazeye en yakın, az işlem görmüş, daha sağlıklı ürün tüketme eğilimi artarak devam etmektedir. Geçmişten günümüze gıda muhafazasında uygulanmakta olan pastörizasyon ve sterilizasyon gibi termal işlemler sağladıkları yararın yanında gıda bileşiminde birtakım kayıplara neden olabildiğinden, araştırmacılar geleneksel termal işlemlere alternatif olarak ısıl olmayan işleme teknolojilerine yoğunlaşmıştır. Son yıllarda vurgulu ışık, UV-C ışınlama, vurgulu elektrik alan, ultrases, yüksek basınç, ohmik ısıtma ve benzeri uygulamaların gıda kalitesi üzerine etkileri geniş çapta araştırılmaktadır. Özellikle meyve ve sebze sularının işlenmesinde termal olmayan teknolojilerden vurgulu ışığın kalitenin korunması üzerine avantajları olduğu yapılan birçok çalışmada tespit edilmiştir. Ayrıca, prosesin, ürünün fizikokimyasal ve duyu özelliklerinden ödün vermeden gıdanın mikrobiyal kalitesini koruduğu gösterilmiştir. Bundan dolayı, vurgulu ışık uygulamasının ısıl olmayan bir gıda muhafaza yöntemi olarak meyve ve sebze sularında kullanılma potansiyeli vardır.

Anahtar kelimeler: Vurgulu ışık, meyve suyu, sebze suyu, mikrobiyal inaktivasyon, kalite parametreleri

QUALITY OF FRUIT AND VEGETABLE JUICES TREATED BY PULSED LIGHT

ABSTRACT

Nowadays, consumers' tendency has been increased toward fresh-like minimally processed, and healthier products. Since thermal processes which have been applied in food preservation from the past to the present, like pasteurization and sterilization, can cause food quality losses, researchers have focused on non-thermal processing technologies as an alternative to traditional thermal treatments. Recently, the effects of pulsed light, UV-C irradiation, pulsed electric field, ultrasound, high pressure, ohmic heating, and similar applications on food quality have been widely investigated. It was reported that pulsed light treatment among non-thermal processing technologies had many advantages over other treatments, especially in terms of preserving the quality of fruit and vegetable juices. Moreover, it was signified that the process could preserve food microbial quality without compromising the physicochemical and sensory attributes of the product. Therefore, pulsed light treatment has the potential to be used as a non-thermal food preservation technique in fruit and vegetable juices.

Keywords: Pulsed light, fruit juice, vegetable juice, microbial inactivation, quality parameters

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: bengi.taze@usak.edu.tr

☎: (+90) 276 221 2121-2614

Pınar Ankaralığıl; ORCID no: 0000-0002-1560-6975

Bengi Hakgüder Taze; ORCID no: 0000-0001-6377-5303

GİRİŞ

Gıda güvenliği; toplu gıda üretimi, tüketimi ve dağıtımı için kritik bir basamağı oluşturmaktadır. Gıda güvenliğinin sağlanması ve gıdaların muhafaza edilmesi için çeşitli teknolojiler geliştirilmiştir. Isıl işlem, gıda güvenliğinin sağlanmasındaki aşamalardan biri olan mikrobiyal inaktivasyon için yaygın olarak kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Bunun yanında, ışınlama (ultraviyole, vurgulu ışık), vurgulu elektrik alan, manyetik alan, yüksek hidrostatik basınç ve ohmik ısıtma gibi alternatif işleme yöntemleri de geliştirilmiştir. Bu muhafaza yöntemleri arasında, gıda güvenliğini sağlarken kalite kaybına neden olmayan, verimliliği yüksek, su tasarrufu sağlayan ve maliyeti en düşük olan teknolojiler daha fazla tercih edilmeye başlanmıştır (Zhang vd., 2011; Rao, 2018).

Meyve ve sebze suları geleneksel olarak ısı ile işleme korunmaktadır (Bevilacqua vd., 2017). Ancak işlem sırasında üründe mikrobiyal yük azalırken aynı zamanda renk, doku, aroma ve besin kayıpları yaşanması kaçınılmazdır (Manso vd, 2001; Blasco vd., 2004). Yapılan çalışmalarla ısı olmayan işlemlerin gıda kalitesinde olumlu etkilerinin olduğu ve böylece termal yöntemlerle işleme tekniklerine alternatif olabileceği görülmektedir (Rodríguez vd., 2017; Alves Filho vd., 2018; Paixão vd., 2019; de Castro vd., 2020; Linhares vd., 2020; Porto vd., 2020). Linhares vd. (2020), açai suyunda ısı (HTST ve UHT) ve ısı olmayan (yüksek güçlü ultrases, vurgulu ışık teknolojisi ve düşük basınçlı plazma) yöntemlerin meyve suyu özellikleri ve bileşenlerine etkisini incelemişlerdir. Isıl olmayan tüm yöntemlerin meyve suyunda şeker ve aminoasit içeriğini artırdığı görülmüştür. Camu-camu suyunda soğuk plazma uyarma frekansının etkisinin gözlemlendiği bir çalışmada ise artan frekans uygulaması ile birlikte antosiyanin konsantrasyonun ve biyoyararlanımın artışa geçtiği raporlanmıştır (de Castro vd., 2020). Paixão vd. (2019), siriguela (mor mombin) suyunda soğuk plazmanın etkilerini incelediklerinde, işlem görmemiş ürünle kıyasladıklarında C vitamininde kayda değer bir değişiklik olmadığını, pigmentlerin, fenolik

bileşenlerin, antioksidan aktivite ve B vitamini değerlerinin arttığını saptamışlardır.

Termal olmayan yöntemler arasında yer alan, ultraviyole (UV) ışıkla işleme, gıda işleme sırasında özellikle patojen mikroorganizmaların inaktivasyonu için giderek daha fazla tercih edilmektedir (Zhang vd., 2011). UV ışığın mikroorganizma öldürücü etkisi, ışığın genetik materyal tarafından soğurulması sonucu timin dimerleri oluşturarak DNA'ya yapısal hasar vermesinden ve mikroorganizmaların çoğalmasını engellemesinden kaynaklanır (Hakguder-Taze ve Unluturk, 2018; Pierscianowski vd., 2021). UV ışıkla mikroorganizma inaktivasyonunda en efektif dozun 254 nm olduğu bilgisi literatürde yer almakla birlikte belirli mikroorganizma sayısının azaltılmasında gerekli dozun UV ışığına maruz kalma süresi ile UV ışık yoğunluğunun çarpımına bağlı olduğu belirtilmektedir (Sharrer vd., 2005). Ultraviyole ışığa alternatif olarak yoğunluğu UV ışığın yoğunluğunun yaklaşık 20000 katı olan ve daha derine nüfuz edebilen vurgulu ışık, hızlı işlemin gerekli olduğu alanlarda sürekli UV ışık kaynaklarına göre bazı pratik avantajlar sağladığından dolayı tercih edilmektedir. UV ışığın penetrasyon gücü düşük olduğu için etkinliği nispeten sınırlıdır. Vurgulu ışık sistemlerinde ise mikrobiyal inaktivasyon daha güçlüdür ve daha fazla sanitasyon sağlanmasında etkilidir. Ayrıca, xenon lambalar cıva içermediklerinden, UV lambalara kıyasla daha çevre dostu olan ticari vurgulu ışık kaynaklarıdır (Elmnasser vd., 2007; Marriott vd., 2018; Koutchma, 2019; Izmirlioglu, 2020). Ancak, yine de ışınlama işlemi sırasında lambaların ısınması veya ışınların gıda tarafından absorbe edilmesi sonucu sıcaklık artışı meydana gelebilir. Ayrıca, mikroorganizmaların üst üste bulunduğu durumlarda, üst tarafta bulunanların ışınları kolayca absorbe etmesi ve daha alt katmanlarda bulunanları gölgelemesi ihtimali nedeniyle inaktivasyonlarının zor olması da göz ardı edilmemelidir (Koutchma, 2018). Sınırlı nüfuz edebilme yeteneğinden ötürü opak ve bulanık olan gıdalar, homojen olmayan yapılar ve bunlara ek olarak, uygulama esnasında duyu kaliteyi olumsuz etkileyecek nitelikte sıcaklık artışı

yaşanması vurgulu ışık uygulamasının gıda endüstrisinde kullanımını sınırlamaktadır (Mandal vd., 2020). Bunun yanında, lamba ömrünün kısa olması ve endüstriyel boyutta vurgulu ışık sistemleri için yüksek yatırım maliyetinin bulunması, bu teknolojiyi özellikle katma değeri yüksek ürünler için çekici kılmaktadır (Heinrich vd., 2016). Endüstriyel uygulamalara uygun ölçekte bir ekipman için yatırım maliyetinin €300 bin ila €800 bin arasında olduğu belirtilmiştir (Güven ve Yıldız, 2016). Bunlara ek olarak, bugüne kadar vurgulu ışık teknolojisi kullanılarak yapılan çalışmalar arasında bir uyumun bulunmayışı, işletim koşullarındaki değişkenlikler de vurgulu ışık uygulamasının ticari olarak gelişimini sınırlandırmaktadır (Rowan, 2019). Vurgulu ışık teknolojisinin en başarılı ticari uygulamalarından biri gıda ambalajlama materyallerinin sterilizasyonu ve gıda işletmelerinde ekipman ve hava sterilizasyonu amacıyla kullanılmasıdır (Güven ve Yıldız, 2016; Ren vd., 2021). İşletme maliyetinin €0.02/ m² uygulama alanı olduğu tahmin edilmektedir. Örneğin 10000 adet bardağın sterilizasyonunun işletim maliyeti €42 olarak öngörülmüştür. Bu değer de, sterilizasyon amacıyla geleneksel olarak kullanılan perasetik asit maliyetinin ¼'üne karşılık geldiği belirtilmiştir (Ren vd., 2021).

Yakın geçmişte kırmızı pul biber (Lee vd., 2018), fıstık (Abuagela vd., 2019), ambalajlanmış et ürünleri (Kramer vd., 2019), ıspanak (Mukhopadhyay vd., 2019), yeni kesilmiş marul (Tao vd., 2019), pastırma (Aksu vd., 2020), yağsız süt tozu ve buğday unu (Chen vd., 2020), hurma (Denoya vd., 2020), sirke (Huang vd., 2020), ceviz (Izmirlıoğlu vd., 2020), beyaz peynir (Keklik vd., 2020) gibi farklı ürün gruplarında vurgulu ışık uygulaması üzerine araştırmalar yapılmıştır. Literatürde, vurgulu ışık teknolojisi ile çeşitli meyve ve sebze sularının işlenmesi üzerine yapılan bazı araştırmalar mevcuttur (Ferrario ve Guerrero, 2016; Karaoglan vd., 2017; Preetha vd., 2017; Ferrario ve Guerrero, 2018; Kaya, 2018; Xu vd., 2019; Zhu vd., 2019; Kaya vd., 2020; Rodríguez-Bencomo vd., 2020; Vollmer vd., 2020; Preetha vd., 2021).

Bu çalışmanın amacı ise, literatürde yer alan çalışmalar ışığında vurgulu ışık uygulamasının farklı meyve ve sebze sularının mikrobiyal kalitesi, enzim aktiviteleri, fizikokimyasal özellikleri, besin değeri ve duyu kalitesi üzerine etkilerinin derlenmesidir.

VURGULU IŞIK TEKNOLOJİSİ

Vurgulu ışık teknolojisi 1930'larda keşfedilmiştir. Teknolojinin kullanımına yönelik ilk patent ise 1980'lerde alınmıştır (Vargas-Ramella vd., 2021). İlk olarak 1996 yılında FDA (U.S. Food and Drug Administration – Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından gıda proseslerinde kullanılması kabul edilmiştir (Anonymous, 1996; Bhavya ve Hebbar, 2017). Vurgulu ışık uygulaması ile gıdalarda organoleptik özelliklerin ve kalitenin geliştirilmesinden, teknolojinin mikrobiyal inaktivasyon amacıyla kullanılması endüstriyel anlamda daha çok ilgi odağı olmuştur. Vurgulu ışık, gıda muhafazası için termal olmayan bir yöntemdir. Yiyecekler ve ambalaj malzemelerinde mikrobiyal dekontaminasyon için geniş spektrumda (100-1100 nm), yoğun (0.01–50 J/cm²) ve kısa süreli atımlar (1 µs–0.1 s) gerçekleştirilerek kullanılmaktadır. FDA tarafından insan tüketimine sunulacak gıdaların üretim, işleme ve taşınması sırasında ışınlanmasına onay verilmiş olup; vurgulu ışığın güvenle kullanılabileceği koşullar aşağıdaki gibi bildirilmiştir (Anonymous, 1996):

- Radyasyon kaynakları, 100 ile 1100 nm aralığını kapsayan dalga boylarından oluşan geniş bant radyasyon yaymak üzere tasarlanmış ve darbe süresi 2 milisaniyeden (msn) daha uzun olmayacak şekilde çalıştırılan xenon flaş lambalarından oluşur.
- İşlem, gıda ve gıda ile temas eden ambalaj materyallerinin yüzey dekontaminasyonu amacıyla kullanılır.
- Vurgulu ışıkla işlem gören gıdalar, amaçlanan teknik etkiyi gerçekleştirmek üzere makul olarak gereken minimum muameleyi almalıdır.
- Toplam kümülatif uygulama 12.0 J/cm²'yi aşmamalıdır.

Tekniğe ait araştırmalar 1970'li yıllarda başlasa da güvenilir ve uygun fiyatlı endüstriyel

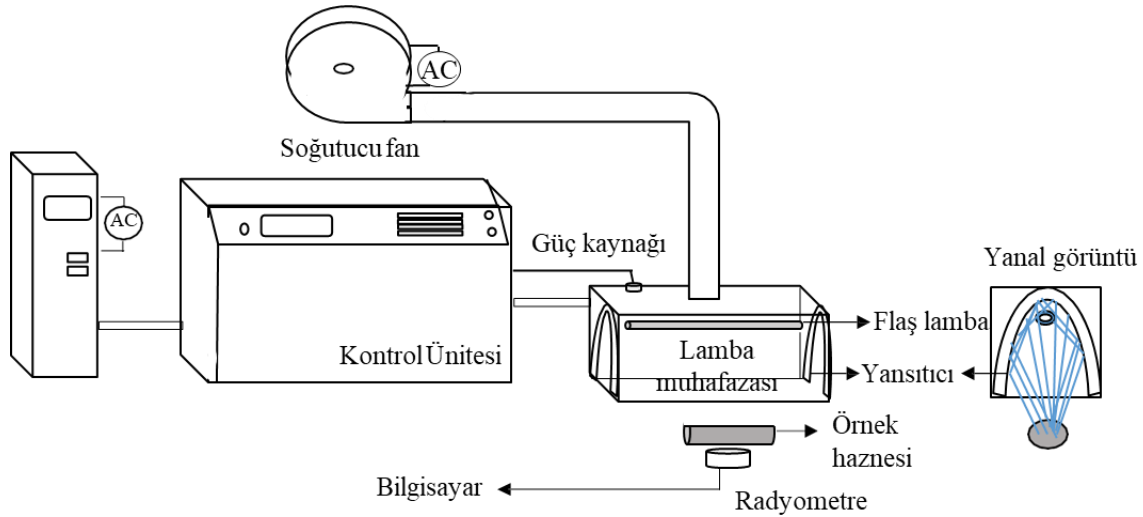
büyükteki ekipmanın eksikliği ve gıda özellikleri açısından ekipman optimizasyonunun gerekliliği nedeniyle endüstriyel kullanım sınırlı kalmıştır. Özellikle baharat, bulundurmış olduğu mikrobiyal yük ve mikotoksin içeriği nedeniyle iç piyasada ve ihracat esnasında yasal sınırlamalardan dolayı ülkeler tarafından kabul edilmemektedir. Baharatlara uygulanan farklı dozlarda vurgulu ışık uygulamalarında mikrobiyal inaktivasyon sağlanmakla birlikte, kalite özelliklerinde bozulma tespit edilmiştir. Tüm bunlar sebebiyle ekonomik ve organoleptik özelliklerde minimum kayıpla sonuçlanacak çalışmalara ağırlık verilmesi gerekmektedir (Ergin ve Zorba, 2015). Farklı meyve ve sebzelerde mikrobiyal yükün azaltılmasında kullanılacak olan vurgulu ışık uygulamasının geleneksel yöntemlere alternatif olabilmesi adına çalışmalara ağırlık verilmektedir (Özturan ve Erkan, 2012).

Kullanılan geniş ışık spektrumundan dolayı bu tekniği tanımlamak için bilimsel literatürde çeşitli

kısaltmalar kullanılmaktadır: vurgulu UV ışık (PUV), yüksek yoğunluklu geniş spektrumlu vurgulu ışık (BSPL), vurgulu beyaz ışık (PWL), yoğun ışık vurgusu (ILP) ve yüksek yoğunluklu vurgulu UV ışık (HIPL) (Vargas-Ramella vd., 2021).

Vurgulu Işık Sistemi

Mühendislik teknolojileri kullanılarak geliştirilen bir vurgulu ışık sistemi temel olarak 3 ana kısımdan oluşur; yüksek voltajlı bir güç kaynağı, enerji depolayan bir kapasitör ile spektrum ve vurgu şeklini belirleyen dönüştürücüyü içeren bir kontrol ünitesi ve flaş lamba (Elmnasser vd., 2007; Vollmer vd., 2020; Vargas-Ramella vd., 2021). Sistem genel hatlarıyla Şekil 1’de görüldüğü gibidir (Vollmer vd., 2020; Vargas-Ramella vd., 2021). Sistemde aşırı ısınmanın önüne geçmek üzere bir soğutucu fan da dâhil edilmiştir. Öte yandan, işlem gören örnek üzerine düşen ışık şiddetini belirlemek üzere bir radyometre kullanılabilir.



Şekil 1. Vurgulu ışık sistemi (Vollmer vd., 2020; Vargas-Ramella vd., 2021’den uyarlanmıştır)

Bu sistemde enerji, bir saniyeden daha kısa bir süre boyunca yüksek güçlü kapasitörde depolanır ve buradan çok daha kısa sürede (nanosaniye – milisaniye) özel olarak tasarlanmış flaş lambaya salınır. Tipik bir vurgulu ışık lambası 100-1100 nm dalga boyu aralığında polikromatik radyasyon üretir. Ancak, dalga boyu aralığı ışık kaynağına göre değişebilir. Işık kaynağı olarak xenon veya

LED lambaların kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Lambaya iletilen yüksek enerji sayesinde ışınlanma yüzeyine yoğun bir ışık atımı gerçekleştirilir. Atım sayısı, 50 J/cm²’ye kadar enerji yoğunluğu ile saniyede 1 ila 20 vurgu olabilir (Bhagat vd., 2022). Vurgulu ışık sistemlerinde uygulanan spektrumlar, ultraviyole (UV): 200-400 nm, görülebilir ışık: 400-700 nm

ve kızılötesi ışık (IR): 700-1100 nm bölgelerini kapsamaktadır. İşlem sırasında sistem tarafından güneş ışığından 20000 kat daha yoğun bir spektrum sağlanır (Dunn vd., 1995; Elmnasser vd., 2007).

Etki Mekanizması

Vurgulu ışığın inaktivasyon etkinliği, ışık şiddetine (J/cm^2) ve gönderilen atım sayısına bağlı olarak farklılık gösterir (Vičić vd., 2003; Elmnasser vd., 2007; Marriot vd., 2018). Gerek opak gerekse şeffaf olan gıda yüzeyine vurgulu ışık uygulandığında, ürünün yapısı ve bileşimine bağlı olarak gelen ışınların bir kısmı yüzeyden yansır, bir kısmı nüfuz ettiği materyal katmanları tarafından soğurulur ve bir kısmı da kırılarak iç katmanlara ulaşır (dos Santos Aguilar, 2019). İşlem sonrası meydana gelen mikrobiyal inaktivasyonun sebebinin, soğurulan ışınların DNA üzerinde timin dimeri oluşturması (fotokimyasal), mikroorganizma hücrelerinin yerel olarak aşırı ısınması (fototerml) ve vurgu etkisinden kaynaklı (fotofiziksel) hasara yol açması gibi farklı mekanizmalar olduğu düşünülmektedir (Pataro vd., 2011; Dhar vd., 2021; Preetha vd., 2021). Vurgulu ışık teknolojisi her ne kadar ısl olmayan bir işleme yöntemi olarak kabul edilse de vurgulu ışığın kapsadığı UV ışığın bir kısmı ile IR spektrumunun bir kısmını içeren dalga boylarından kaynaklı olarak fototerml etki ortaya çıkmaktadır (Vargas-Ramella vd., 2021). Buna ek olarak, vurgulu ışığın bir diğer özelliği de fotosensitizasyon (ışığa duyarlılaşma) etkisidir. Bu etkinin ortaya çıkması için “fotosensitizer” denilen belirli başlı bazı fotoaktif bileşenlerin hedef mikroorganizma hücrelerinde birikmiş olması gerekmektedir. Fazlaca oksijen varlığında bu bileşenlerin ışıkla interaksyonu sonucu hücreler tahrip olmaktadır (Vargas-Ramella vd., 2021). Bu teknik sayesinde gıda kaynaklı patojen riski azaltılarak gıda güvenliği korunmakta ve gıdaların raf ömrü uzamaktadır (Bhavya ve Hebbar, 2017).

Meyve ve sebze sularına uygulanan vurgulu ışık uygulamasında etkili faktörler; uygulanacak doz, atım sayısı, yayılan ışık spektrumunun kompozisyonu, örneklerin ışık kaynağından uzaklığı, derinliği, rengi, opaklığı, viskozitesi,

ürünün akış koşulları, partikül bulunuşu, inoküle edilen mikroorganizma miktarı, işlem hücresinin geometrisi ve lamba sayısıdır (Pataro vd., 2011).

VURGULU IŞIĞIN MEYVE VE SEBZE SUYU UYGULAMALARI

Çeşitli meyve ve sebze sularına vurgulu ışık uygulamasında farklı parametrelerin ele alındığı çalışmalar ve uygulanan işlemlerin mikrobiyal inaktivasyon, enzim inaktivasyonu, duyu kalite, besleyici değer ve fizikokimyasal özellikler üzerine etkileri bu bölümde ele alınmıştır.

Mikrobiyal İnaktivasyon

Mikroorganizma inaktivasyonu için geliştirilecek olan vurgulu ışık uygulama sisteminde mikroorganizma türü göz önünde bulundurulmalıdır (Palgan vd., 2011; Jiménez-Sánchez vd., 2017). İçeceklerdeki mikroorganizma sporlarında 6 log'dan fazla azalma sağlama potansiyeline sahip vurgulu ışık uygulaması ile ilgili literatürde mikrobiyal inaktivasyonun (bakteri, küf, maya ve virus) sağlanabildiği pek çok çalışma mevcuttur (Elmnasser vd., 2007; Marriot vd., 2018).

Preetha vd. (2021) Hindistan cevizi, portakal ve 1 mm derinliğe sahip ananas sularında farklı farklı sürelerde (0 ve 15 sn) ve dozlarda (0.18, 2 ve 5.6 W/cm^2) uygulanan vurgulu ışığın (100-1100 nm) *Escherichia coli* inaktivasyonu üzerine etkisini incelemişlerdir. Meyve suyu çeşidine göre en yüksek inaktivasyonun 5.6 W/cm^2 işlem dozunda gerçekleştiğini ve *E. coli* yükünde 4-log ile 5.33-log arasında azalma olduğunu raporlamışlardır. Ayrıca, vurgulu ışık işleminin bulanık meyve sularına göre Hindistan cevizi suyu gibi şeffaf sıvılarda daha yüksek verimliliğe sahip olduğu görülmüştür. Bu çalışmayla vurgulu ışık uygulamasının sıvı gıdalarda termal pastörizasyonun ikamesi olarak kullanılabilceği kanıtlanmıştır. Preetha vd. (2017) Hindistan cevizi suyunda geçmişte başka bir çalışma daha yapmıştır. Bu çalışmada ise, Hindistan cevizi suyu *E. coli*'yi etkisiz hale getirmek için meyve suyu tabakası derinliği (5, 10, 15 ve 20 mm), raf yüksekliği (5, 10 ve 15 cm), atım sayısı (60, 120, 180 ve 240 atım; atım aralığı: 40 μs) gibi farklı işlem parametreleri kullanılarak 4.8, 9.6, 14.4 ve

19.2 J/cm² enerjiye karşılık gelen dozlarda vurgulu ışığa (180-1100 nm) maruz bırakılmıştır. Sterilize edilen örnekler 10⁶ KOB/ml düzeyinde *E. coli* aşılmıştır. 5 mm meyve suyu derinliğine sahip tabakaya 5 cm mesafeden 19.2 J/cm² ışık şiddetinde, 40 µs atım aralığında 240 flaş uygulanan örneklerde mikroorganizma sayısında 5.2 log seviyesine varan azalma görülmüştür. Çalışma sonunda minimum derinlik (2 mm), daha yakın mesafe (5 cm) ve daha yüksek darbe sayısı (240 flaş) ile daha fazla inaktivasyon sağlanabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, mikroorganizma inaktivasyonunun vurgulu ışığa maruz kalan ürünün protein içeriğine bağlı olduğu ifade edilmiştir (Preetha vd., 2017).

Vollmer vd. (2020) vurgulu ışık (240-1100 nm) uygulamasının ananas suyunda doğal mikroflora, enzimatik aktivite ve fitokimyasal özellikler üzerine etkisini incelemişlerdir. Farklı voltajlarda (1.8, 2.1 ve 2.4 kV) ve farklı darbe sayılarında (360 µs atım aralığında, sırasıyla 30, 60 ve 120 s boyunca uygulanan 47, 94 ve 187 atım) vurgulu ışık örnekler üzerine uygulanmış olup, analiz sonuçları işlem görmemiş ve termal pastörize edilen örneklerden oluşan iki farklı grupta karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, 757 J/cm²den yüksek dozdaki (2.4 kV voltaj; darbe sayısı 94 veya 187) uygulamaların mikrobiyal inaktivasyonda oldukça başarılı olduğu, 1479 J/cm² değerleri ile aerobik mezofillerde, maya ve küf sayılarında en fazla 5 log azalma tespit edildiği raporlanmıştır. FDA'ya göre pastörizasyon ile gıda güvenliği sağlanması için en dirençli patojen sayısının 5 log azalmış olması gerekmektedir. Bu sebeple meyve suları ayrıca termal pastörizasyona tabi tutulmuştur. Bu iki yöntem sonuçları karşılaştırıldığında bromelain enzimi, C vitamini ve rengin korunması açısından vurgulu ışık uygulamasının pastörizasyona oranla daha üstün olduğu görülmüştür. Geleneksel termal muhafaza yöntemlerine göre vurgulu ışık teknolojisinin alternatif olabileceği ve uzun ömürlü pastörize içecekler yerine taze benzeri soğuk meyve sularının raf ömrünü uzatmak için kullanılabilmesi raporlanmıştır. Laboratuvar uygulamalarının endüstriyel seviyeye çıkarılabilmesi için ölçek büyütme çalışmalarının yapılması, bu çalışmalarda işlem uygulanmış

gıdaların depolama stabilitesine, raf ömrünün uzatılmasına ve gıda güvenliğinin garanti altına alınmasına odaklanması gerektiği önerilmiştir.

Elma suyunda yapılan bir çalışmada; vurgulu ışık (200-1100 nm) (0.73 J/cm² ışık şiddeti, 155 ml/dakika akış hızı, 360 µs atım aralığında ve 3 darbe/s yoğunluğunda vurgulu ışık) ile ultrases kombine işleminin meyve suyunda mikrobiyal inaktivasyon, renk ve raf ömrü üzerindeki etkisi incelenmiştir. Gerek tek başına vurgulu ışık gerekse ultrases ile kombine edilmiş işlem, taze sıkılmış meyve suyuna aşılınmış *E. coli* ATCC 35218, *Salmonella* Enteritidis MA44 ve *Saccharomyces cerevisiae* KE 162 kültürleri ile doğal florada azalmaya yol açmıştır. İnoküle edilen mikroorganizma sayısında tek başına vurgulu ışık uygulandığında 1.8 - 4.2-log arasında azalma sağlanırken, kombine sistemde 3.7-6.3 log arasında azalma rapor edilmiştir (Ferrario ve Guerrero, 2016). Oluşturulan kombine işleme yöntemiyle, işlenmiş ürünlerin depolanması sırasında maya ve küf gelişiminin geciktirildiği ve gıda güvenliğinin sağlandığı saptanmıştır (Ferrario ve Guerrero, 2016). Elma ürünleriyle ilişkilendirilen patulin mikotoksininin elma sularında detoksifikasyonu için gerçekleştirilen bir çalışmada ise meyve suyu içerisine glutatyon (GSH) ve demir (Fe⁺²) iyonları eklenmiştir. İyonların katalizör olarak yer aldığı bu kimyasal reaksiyonda patulin ve glutatyon arasında patulin-glutatyon konjugatları oluşturularak demir iyonları ile patulinin yıkımı hızlandırılmış ve vurgulu ışıkla (180-1100 nm, 0.4 J/cm² akış ve 8-64 J/cm² darbe sayısı) patulin indükte edilmiştir (Rodríguez-Bencomo vd., 2020). Ayrıca, literatürde vurgulu ışık uygulaması ile elma suyunda yapılan diğer çalışmalarda *Listeria monocytogenes* sayısında 6.69-log azalma (100-1100 nm, atım aralığı: 100-7000 µs; voltaj: 1000-3000 V; frekans: 0.1-20 Hz; enerji: 9 J/cm²/optik enerji darbesine veya 2433 J/elektrik enerji darbesine kadar; enerji yüzdesi: %0-100) (Malik, 2018) ve *Alicyclobacillus acidoterrestis* ATCC 49025 sporlarında 3-3.5 log KOB/ml'ye varan düzeyde inaktivasyon (200-1100 nm, 3 atım/s ve 0-71.6 J/cm²) sağlanabildiği tespit edilmiştir (Ferrario ve Guerrero, 2018). Genel olarak, frekansın, giriş voltajının, darbe süresinin ve enerji yüzdesinin

arttırılmasının test edilen koşullarda daha fazla mikrobiyal azalmaya yol açtığı saptanmıştır (Malik, 2018).

Kırmızı üzüm suyunda *E. coli* inaktivasyonu için vurgulu ışık (200-1100 nm) ile yapılan bir çalışmada üzüm suları sabit atım frekansı (0.5 Hz; atım sayısı/s) ve farklı değerlerde atım sayısı (10, 20, 40, 60, 80 ve 100), atım yoğunluğu (0.13, 0.40 ve 0.66 J/cm²/atım) ve sıvı akış hızlarına (0, 30 ve 60 ml/dk) maruz bırakılmıştır. *E. coli* sayısındaki azalma en çok 4.8-log KOB/ml olup bu azalmayı sağlayan optimum değerlerin 80 atım, 0.66 J/cm²/atım yoğunluğu ve 40 ml/dk akış olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmada artan yoğunluk ve atım sayıları ile inaktivasyonda artış olduğu ve ayrıca orta seviyedeki akış hızı ile en yüksek inaktivasyonun sağlandığı raporlanmıştır (Xu vd., 2019). Başka bir çalışmada ise 37 °C'de inkübe edilen havuç sularına 0, 1, 2, 4 ve 8 saatlik aralıklarla uygulanan vurgulu ışıkla (100-1100 nm) *E. coli* O157:H7 kontrolü sağlanmak istenmiştir. Havuç suyu hazırlanıp otoklav ile sterilize edildikten sonra havuç suyuna 5-6 log KOB/ml *E. coli* O157:H7 inoküle edilerek örnekler 37 °C'de inkübe edilmiştir. Bu örnekler 0.5 Hz (Hertz) frekans ve 500 J enerji düzeyinde farklı atım sayıları (a: 20, b: 25, c: 30) kullanılarak farklı zaman aralıklarıyla vurgulu ışık uygulanmıştır. İşlenerek 4 °C'de muhafaza edilen sebze sularında 4 gün boyunca mikroorganizma sayımı yapılmıştır. Denemeler sonucunda c grubunda 4 saatlik inkübasyon sonunda *E. coli* O157:57'nin sayısının 5.56 log KOB/ml'den 1.02'ye düştüğü belirlenmiştir. 8 saatten sonra ise *E. coli* mikrobiyal yükünün sayılamayacak kadar az olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, a grubunun inaktivasyon için yeterli olması sebebiyle bu grupla çalışmaya devam etmişlerdir. Çalışma sonunda *E. coli* O157:57'nin morfolojisinin ve hücre bütünlüğünün ciddi hasar gördüğü; içeriğindeki protein, ATP ve DNA'nın sırasıyla % 32.49, % 59.47 ve % 56 oranında azaldığı, bu tekniğin *E. coli* O157:57'nin bazı önemli enzimlerini ve metabolizmasını engellediği, vurgulu ışığın *E. coli* O157:57 sterilizasyonunda etkili bir yöntem olabileceği ortaya konmuştur (Zhu vd., 2019).

Ülkemizce tüketilen şalgam suyunda da yapılan bir çalışma mevcuttur. *Candida inconspicua* geleneksel üretilen şalgam suyunda bozulmaya sebep olan mayadır. Buna istinaden şalgam sularına yine bu ürünlerden izole edilen *Candida inconspicua* aşılansmıştır. Farklı mesafe (5, 8 ve 13 cm) ve farklı süre (5, 15, 30, 45 ve 60 sn) kombinasyonunda vurgulu ışık (200-1000 nm) uygulaması yapılmıştır. 60 sn boyunca 5 cm mesafeden vurgulu ışıkla işlem gören örneklerde maya sayısında 2.8-log düzeyine varan azalma sağlanmıştır. Fermente edilmiş içeceklerde maya inaktivasyonunda vurgulu ışığın kullanılabilceği anlaşılmıştır (Karaoğlan vd., 2017).

FDA'nın yayınlamış olduğu yönetmeliklere göre HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points; Tehlike Analizleri ve Kritik Kontrol Noktaları) programı dahilinde meyve suyu pastörizasyonunda hedef mikroorganizma sayısında 5 log azalma sağlanması gerekmektedir. Ancak, vurgulu ışık uygulamasının patojen inaktivasyonunda bu etkiyi gerçekleştirilebilmesi için tek başına yetersiz olabileceği, ısı işlemlerle desteklendiği takdirde hedef mikroorganizmada 5 log azalmanın sağlandığı çalışmalar da mevcuttur (Anonymous, 2001; Kaya, 2018; Kaya vd., 2020). Kaya vd. (2020) ılımlı ısı işlemle desteklenmiş vurgulu ışığın (180-1100 nm) koruk suyunda bozulmanın ana kaynağı olan mayalardan *Saccharomyces cerevisiae* inaktivasyonu ve depolama sırasında kalite özellikleri üzerine etkisini incelemek için yaptıkları çalışmada koruk suyunu başlangıç mikroorganizma yükü 10⁶ KOB/ml olana kadar *S. cerevisiae* ile aşılanslardır. 5 log azalmayı sağlayacak en iyi prosese karar verilmesi için aşılansmış koruk suyunu ayrı ayrı vurgulu ışık (tabaka derinliği: 1, 3, 5 mm, lambadan uzaklık: 5, 10 cm ve atım sayısı: 0-50 atım), ılımlı ısı işlem ve vurgulu ışık-ılımlı ısı işlem kombinasyonuna tabi tutmuşlardır. Vurgulu ışık ile 34 J/cm²lik bir doz (1 mm katman derinliği, 5 cm mesafe, 50 darbe) uygulanarak 0.96±0.27-log CFU/mL düzeyinde bir azalma elde edilmiştir. Bu çalışmada, vurgulu ışığın tek başına *S. cerevisiae* inaktivasyonunda az etki gösterdiği, doz arttıkça inaktivasyonun artabileceği, mayanın tek başına uygulanan vurgulu ışığa karşı dirençli olduğu görülmüştür.

Ancak, vurgulu ışık-ılımlı ısı işlem kombinasyonu oluşturulduğunda FDA pastörizasyon gerekliliklerinde belirtilen miktarda inaktivasyon sağlanmıştır. Çeşitli denemeler sonucunda meyve suyu renginde minimum değişim oluşturan en iyi pastörizasyon koşulları 6.12 J/cm^2 , $47 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 8.5 dk olarak tespit edilmiştir. Bu koşullarla çalışıldığı takdirde hedef mikroorganizma sayısında 5 log KOB/ml azalma sağlandığı görülmüştür. Vurgulu ışığın ılımlı ısı işlemle birlikte kullanımına yönelik uygun bir ekipmanla kombine edilmesi ile asidik berrak meyve sularında pastörizasyon işlemine alternatif olarak etkili olabileceği bildirilmiştir (Anonymous, 2001).

Enzim İnaktivasyonu

Meyve ve sebze sularında görülen mikrobiyal bozulmanın yanı sıra, enzimatik bozulmalar da kalitede önemli kusurlara yol açmaktadır. Kaliteyi olumsuz etkileyen enzimlerden polifenoloksidaz (PPO), peroksidaz (POD), lipoksigenaz (LOX) ve pektinmetilesteraz (PME) enzimleri, bu ürünlerin duyu ve fiziksel özelliklerini önemli oranda değiştirmektedir. PPO enzimi, meyve ve sebze ürünlerinde bulunan fenolik maddeleri okside ederek rengin esmerleşmesine yol açmaktadır. Enzim etkisiyle monofenoller sırasıyla önce *o*-difenollere ve reaksiyon ilerledikçe *o*-kinonlara okside olurlar. Oluşan *o*-kinonlar ise kendiliğinden meydana gelen reaksiyonlar sonucu rengin esmerleşmesinden sorumlu olan melaninlerin teşkil etmesine neden olmaktadır (Dhar vd., 2021). POD enzimi de PPO gibi oksidoredüktazlar sınıfına dahil bir enzim olmakla birlikte, meyve ve sebze sularında enzimatik esmerleşmeye, organoleptik ve besinsel niteliklerde azalmaya yol açmaktadır (Wang vd., 2022). LOX, serbest yağ asitleri varlığında meydana gelen karotenoidlerin oksidasyonu açısından önemi olan bir enzimdir (Silva vd., 2020). PME ise, pektinin yapısındaki metanol ve galakturonik asit arasında bulunan ester bağlarını koparma yoluyla pektinin esterleşme derecesini düşürerek ve bununla birlikte, meyve ve sebze sularında var olan kalsiyum iyonlarıyla beraber pektin çökmesini hızlandırarak etki göstermektedir (Illera vd., 2018; Pellicer vd., 2020). Böylece, bulanık meyve

sularında satın almayı olumsuz etkileyecek şekilde berraklaşmaya ve konsantre meyve sularında jelleşmeye neden olmaktadır (Illera vd., 2018). Dolayısıyla, bu enzimlerin inaktivasyonu ürün kalitesi açısından önem arz etmektedir.

Enzimler temel olarak protein yapısındadır. Bundan ötürü, enzim inaktivasyonu mekanizması her enzime spesifik olmakla beraber, enzimlerin yapılarında bulunan aminoasit kompozisyonuna ve proteinlerin üç boyutlu yapılarına bağlıdır (Illera vd., 2018). Vurgulu ışık teknolojisinde enzim inaktivasyonu proteinlerin yapısında meydana gelen değişikliklerden kaynaklanır (Kwaw vd., 2018). Proteinler, 280 nm dalga boyundaki ışınları güçlü bir şekilde absorbe ederler (Vargas-Ramella vd., 2021). Bunun sonucunda, proteinlerin dördüncül, üçüncül ve ikincil yapılarında fotokimyasal ve fototermal yolla bir açılma, ayrışma ve fonksiyonel gruplarda yığın oluşumu, protein oksidasyonu, prostetik grupların ayrılması ve α -heliks içeriğinin kaybı gibi farklı olguların kombine bir etkisi olarak enzim inaktivasyonu ortaya çıkar (Dhar vd., 2021; Bhagat vd., 2022; Chakraborty vd., 2022).

Bhagat vd. (2022) yaptıkları çalışmada nar suyunda vurgulu ışık (100-1100 nm) uygulaması (2.7 kV, 90 s; toplam doz 761.4 J/cm^2) sonucunda PPO ve POD enzim aktivitelerinde sırasıyla %40.8 ve %37 oranında azalma sağlamışlardır. Uygulanan işlem dozu arttıkça enzim inaktivasyonunun da arttığı görülmüştür. En şiddetli işlem koşullarında (2.9 kV, 5 dakika; toplam doz 2988 J/cm^2) her iki enzimin de tamamen inaktive olduğu tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada ise, Hint hünnapı, karambola meyvesi ve sofralık siyah üzüm sularından hazırlanan bir meyve suyu karışımına 600 ila 5000 J/cm^2 arasında uygulanan farklı vurgulu ışık işlem dozları (100-1100 nm, 3 Hz darbe frekansı, akış hızı: 18, 24 ve 30 W/cm^2 , atım aralığı: 144, 188 ve $236 \mu\text{s}$) ve termal işlem koşullarında ($90 \text{ }^\circ\text{C}$, 1-5 dk) PPO ve POD enzim aktivitelerindeki değişim takip edilmiştir (Chakraborty vd., 2022). Bu koşullarda, uygulanan vurgulu işlem dozuna göre enzim inaktivasyon düzeyleri PPO ve POD için sırasıyla % 56 - %100 ve %67 - %100 arasında değişiklik

göstermiştir. Bununla birlikte, 90 °C' de 5 dakika süren ısı işlem ardından herhangi bir PPO ve POD aktivitesinin tespit edilmediği rapor edilmiştir. Buna göre, her iki enzimin de termal işleme kıyasla vurgulu ışık işlemine karşı belli oranda direnç sergilediği sonucuna varılmıştır (Chakraborty vd., 2022). Vollmer vd. (2020) tarafından yürütülen bir çalışmada ise, ananas suyunda PPO ve POD enzim aktivitelerinin yanı sıra, sağlığı geliştirici etkiye sahip ve bazı proteolitik enzimlerin bir karışımı olan bromelain enzimi aktivitesinin vurgulu ışık uygulaması ve termal işlemden nasıl etkilendiği incelenmiştir. Bromelain aktivitesinin vurgulu ışık uygulamasından etkilenmediği saptanırken, PPO ve PDO aktivitelerinde en şiddetli işlem koşullarında (2.4 kV, 187 vurgu, toplam 1479 J/cm² işlem dozu) sırasıyla %50 ve %42 düzeylerinde azalma sağlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar da oksidoredüktazların vurgulu ışık uygulamasına karşı dirençli enzimler olduğunu ortaya koymaktadır. Bunun nedeninin de termal işlem ve vurgulu ışık uygulamalarının enzim inaktivasyon mekanizmalarındaki farklılık olduğu öne sürülmektedir (Vollmer vd., 2020). Pellicer vd. (2020) yayınladıkları raporlarında PME enziminin, PPO ve POD enzimine göre geleneksel ve yeni geliştirilen gıda işleme yöntemlerine karşı daha dirençli bir enzim olduğunu bildirmiştir. Bunu destekler nitelikte, Caminiti vd. (2012) tarafından sunulan rapora göre uygulanan yüksek yoğunluklu vurgulu ışık işleminin (toplam doz 3.3 J/cm²) portakal-havuç suyu karışımında bulunan PME aktivitesinde önemsiz düzeyde bir azalma sağladığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, başka bir çalışmada herhangi bir katı parçacık içermeyen ve düşük absorbans değerine sahip model süspansiyonlara uygulanan 2.5 kV, 60 vurgu ve toplam 128 J/cm² işlem dozunda PME enzim aktivitesinde %90 azalma bulunmuştur (Pellicer vd., 2020). Bu düzeyde bir azalma bazı meyve suları için kabul edilebilir olsa da gerçekte meyve sularının daha bulanık oluşu ve parçacık içeriği işlem etkinliğini olumsuz şekilde etkileyecektir. Bu sebeple, gerçek meyve suyu numunelerinde istenen azalmayı elde etmek için daha yüksek işlem dozunun uygulanması gerekeceği yapılan çalışmada ortaya konulmuştur (Pellicer vd.,

2020). Aynı araştırmacılar aynı koşullardaki benzer bir çalışmayı, meyve ve sebzelerde pektinin parçalanmasından sorumlu olan poligalakturonaz (PG) enzimi üzerinde gerçekleştirmiştir (Pellicer vd., 2019). Bu durumda da 128 J/cm² işlem dozunda (dakikada 1 darbe olmak üzere toplam 60 darbe) PG aktivitesinde %90 üzerinde azalma elde edilmiştir. Aynı koşulların PPO ve POD enzimlerine de uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, PG enziminin bu üç enzim içerisinde vurgulu ışık işlemine karşı en dirençli enzim olduğu belirtilmiştir (Pellicer vd., 2019). Sonuç olarak, literatürde vurgulu ışık tekniğinin meyve ve sebze sularında çeşitli enzimlerin inaktivasyonu üzerine etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalar az sayıdadır. Var olan farklı çalışmalara bakılarak, tek başına vurgulu ışık tekniği ile enzim aktivitelerinde dikkate değer bir azalma sağlanabildiği görülmektedir. Ancak, meyve ve sebze suyu kalitesi açısından sorun yaratan enzimlerin ürün kalite güvencesi açısından yeterli düzeyde inaktive edilebilmesi için tek bir işleme yönteminin yoğun koşullarda kullanılması yerine, vurgulu ışık ile farklı teknolojilerin kombine halde uygulanmasının daha yararlı olacağı sonucuna varılmaktadır.

Fizikokimyasal Özelliklere Etkisi

Meyve ve sebze sularının mikrobiyal stabilitesi ve daha uzun süreyle tüketilmeye uygun nitelikte kalabilmesi endüstriyel içecek üretimi açısından çok önemli kalite parametreleridir (Pohl vd., 2022). Bunu temin edecek yenilikçi işleme tekniklerinin geliştirilmesinde, uygulanacak işlemin ürünün tekstürü, tadı, aroması ve görsel kalitesi üzerine olumsuz etkilerinin olmamasına dikkat edilir. Bu amaçla genellikle, uygulanan işlemin meyve ve sebze sularının pH değeri, titre edilebilir asitliği, toplam suda çözünür kuru maddesi, rengi, türbiditesi ve elektriksel iletkenliği gibi farklı fizikokimyasal özellikleri üzerinde yarattığı değişimler takip edilmektedir (Pohl vd., 2022).

Elma sularında gerçekleştirilen uygulamalarda vurgulu ışığın bu ürün grubunda fiziksel ve kimyasal olumsuzluğa sebebiyet vermediği raporlanmıştır (Taştan, 2019). Benzer şekilde,

Kaya vd. (2020)'nin ılımlı ısı ileme ile desteklenmiş vurgulu ışık koruk suyunda etkilerini incelediği çalışmada termal pastörize ürünle kıyaslandığında yapılan bu işlemin fizikokimyasal özelliklerde (pH, °Briks, titrasyon asitliği) önemli bir değişiklik oluşturmadığı tespit edilmiştir. Preetha vd. (2017) de Hindistan cevizi suyunda yaptıkları çalışmada farklı değerlerde denedikleri vurgulu ışık uygulaması sonucunda ürünün pH değeri, °Briks ve renk parametrelerinde işlem görmemiş ürüne kıyasla herhangi bir fark bulunmamıştır. Ürün özelliklerinden ödün verilmeden bu yöntemin güvenle kullanılabilmesi ifade edilmiştir. Bununla beraber, Karaoglan vd. (2019) yaptıkları bir çalışmada vurgulu ışık uygulamasının fermente edilen şalgam suyunun antosiyanin degradasyonu kinetiği ve ürünün fizikokimyasal özelliklerinin bozulma kinetiği üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yöntem farklı mesafe (5, 8, 13 cm) ve süreler (5, 15, 30, 45, 60 sn) kullanılarak uygulanmıştır. Her farklı uygulamada ürünün pH değerinin, toplam asitliğinin (% laktik asit), parlaklık, renk tonu ve yoğunluğu ile renk bileşenleri dağılımının değiştiği görülmüştür. Uzun uygulama süresi ve kısa mesafe işlemlerde parlaklık, sarı ve mavi renk artış gösterirken, kırmızı renkte azalma gözlenmiştir. Uygulama zamanına bağlı olarak pH değerinin düştüğü ve artan mesafe ile birlikte toplam asitlik içeriğinin de artışa geçtiği görülmüştür. Vollmer vd. (2020) ise vurgulu ışık uygulamasının ananas suyunda meydana getirdiği fizikokimyasal değişiklikleri incelemişlerdir. Üründe renk kapasite kaybının minimum düzeyde kaldığı ve ananas furanonlarında azalma olduğu görülmüştür.

Besin Bileşenleri Üzerine Etkisi

Tüketicilerin tazeye en yakın nitelikte, yüksek kalitede, güvenli ve fonksiyonel meyve ve sebze sulama artan talebi, araştırmacıları ürünün fizikokimyasal özelliklerine ek olarak, antioksidan kapasite, C vitamini içeriği ve toplam fenolik madde miktarı gibi besinsel açıdan değerli biyoaktif bileşenlerini de değiştirmeyecek ılımlı işleme yöntemleri geliştirmeye itmiştir (Pohl vd., 2022). Son yıllarda vurgulu ışık uygulaması, meyve sularının mikrobiyal güvenliğini sağlamada ve besin maddelerini daha iyi muhafaza etmede

iyi sonuçlar veren bir ısı olmayan işleme tekniği olarak karşımıza çıkmaktadır (Bhagat vd., 2022). Literatürde vurgulu ışık uygulamasının yaban turpu (Wang vd., 2017), süt (Orcajo vd., 2019) ve taze ricotta peyniri (Ricciardi vd., 2020) ürünlerinde mevcut proteinler üzerine doğrudan veya dolaylı etkileri araştırılmış olmasına rağmen, meyve ve sebze sularında besin içeriğinde meydana getirdiği değişiklik ile ilgili araştırma neredeyse yok denecek kadar azdır. Bununla birlikte, yapılan literatür incelemesinde vurgulu ışık uygulamasının meyve ve sebze içeren fermente dut suyu, şalgam suyu, ananas suyu ve acai suyu gibi bazı içeceklerde biyoaktif bileşenler üzerine etkisinin incelendiği birkaç araştırmaya rastlanmıştır (Kwaw vd., 2018; Karaoglan vd., 2019; Vollmer vd., 2020; Linhares vd., 2020). Örneğin, laktik asitle fermente edilmiş dut suyunda ultrasonikasyon ve vurgulu ışık işleminin antioksidan aktiviteleri ve fenolik bileşen konsantrasyonu üzerindeki etkisini tespit etmek için yapılan çalışmada iki sistem kombin uygulandığında toplam fenolik, flavonoid, antosiyanin konsantrasyonlarının önemli bir ölçüde geliştiği görülmüştür. Ultrasonikasyon işlemine kıyasla vurgulu ışık tek başına uygulandığında fenolik ve antioksidan özelliklerde daha az artış olduğu, en yüksek performans ise önce vurgulu ışık uygulandığı kombine sistemde olduğu görülmüştür (Kwaw vd., 2018). Karaoglan vd. (2019) ise vurgulu ışık uygulamasının fermente edilen şalgam suyunda antosiyanin içeriğini ve fizikokimyasal özelliklerdeki değişimlerin bozulma kinetiğini araştırdığı çalışma sonucunda antosiyaninlerde en fazla %63 azalma tespit etmiştir. Her farklı uygulamada ürünün monomerik antosiyanin içerik dağılımının değiştiği görülmüştür. Uzun uygulama süresi ve kısa mesafe işlemlerde antosiyanin yıkımı artış göstermiştir. Buna karşın, toplam fenolik içeriği değişmemiştir. Bu çalışmayla vurgulu ışık uygulamasının yüksek antosiyanin içeriğine sahip ve renk açısından zengin içeceklerde fizikokimyasal özellikleri olumsuz yönde etkileyebileceği görülmekle beraber, lamba mesafesi, işlem süresi ve absorblanan enerji miktarı dikkate alındığı takdirde yöntemin şalgam suyunda hala bir alternatif olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir.

Vollmer vd. (2020) vurgulu ışık uygulaması ile ananas suyunda yaptıkları çalışma sonucunda antioksidan kapasite minimum düzeyde etkilenirken, fenolik bileşiklerde azalma olduğunu raporlamışlardır. Kontrol örneği olarak incelenen termal yolla pastörize edilen üründe şaşırtıcı bir şekilde fenolik bileşiklerin korunduğu tespit edilmiştir. Termal pastörizasyon işlemi ve vurgulu ışık uygulaması kıyaslandığında ışınlama işleminin ananas suyunda daha fazla C vitamini kaybına sebep olduğu görülmüştür.

Açai suyunda yapılan bir araştırmada Linhares vd. (2020) termal ve termal olmayan işlemlerin üründeki bileşim, stabilite ve biyoaktif bileşikler üzerine etkisini incelemişlerdir. Termal olmayan işlemlerden vurgulu ışık uygulamasının üründe aminoasit, betain ve şeker içeriğini (glukoz ve fruktoz) artırdığı görülmüştür.

Duyusal Kaliteye Etkisi

Ürünlerin tüketiciler tarafından kabul edilmesi duysal özellikler bakımından beğenilip beğenilmemesine bağlıdır ve duysal özellikler koku, doku ve lezzet özelliklerinden oluşur (Jaworska vd., 2005). Vurgulu ışık uygulamasının, ürünlerin duysal kalitesinde meydana getirdiği değişikliklerin incelendiği birçok çalışma literatürde yerini almıştır (Tomasevic ve Rajkovic, 2015). Ferrario ve Guerrero (2016) elma suyunda gerçekleştirilen vurgulu ışık-ultrases kombine işleminin depolama sırasında ürünlerde rengin kahverengileşmesini engellediği, gerçekleştirilen duysal testlerde ürünün taze sıkılmış meyve suyu olarak algılandığı, raf ömrünün 6 gün olarak belirlendiği görülmüştür. Kaya vd. (2020) yaptıkları çalışmada hafif ısı ile desteklenmiş vurgulu ışığın koruk suyu renginde minimum renk değişimi oluşturan ve kalite özelliklerini koruyan pastörizasyon koşullarını (6.12 J/cm², 8.5 dk, 47 °C) belirlemiştir. Ayrıca ürünün optik özellikleri raf ömrü boyunca çok az değişime uğramıştır. Termal pastörize edilmiş örneklerin raf ömrü 2 hafta ile sınırlı iken kombine işlem görmüş örneklerde raf ömrünün oda sıcaklığında bile 6 haftaya kadar sürdüğü gözlenmiştir. Vurgulu ışık işleminin raf ömrünü artırdığı görülmüştür. Bir başka çalışmada ise frekans ve enerji değerleri

aynı olmak üzere (0.5 Hz ve 500 J) farklı atım sayıları (a: 20, b: 25 ve c: 30) ile vurgulu ışık uygulaması yapılan havuç suyunda renk, lezzet, tat ve genel kabul edilebilirlik gibi duysal özelliklerin her 3 grupta da (a, b ve c) önemli bir değişikliğe uğramadığı görülmüştür (Zhu vd., 2019).

SONUÇ

Yapılan literatür taraması sonucu vurgulu ışık uygulamasının meyve ve sebze suları proseslerinde mikrobiyal inaktivasyon sağladığı, ürünlerin fizikokimyasal ve duysal kalitesinde fazla değişiklik meydana getirmediği, ürünlerin raf ömürlerini artırdığı, hızlı bir yöntem olduğu, su tasarrufu sağladığı, geleneksel termal yöntemlere kıyasla avantajlı olduğu görülmüştür. Ancak, bu yöntemin içeceklerin besin kalitesi üzerine etkilerinin detaylı bir şekilde incelenip raporlanmadığı dikkat çekmiştir. Vurgulu ışık uygulamasının olumlu etkilerinden dolayı daha çok içecek sektöründe ve özellikle berrak olan meyve ve sebze sularında termal yöntemlere alternatif bir potansiyele sahip olduğu ve hatta başka muhafaza yöntemleri ile kombine edilip verimliliğinin artabileceği görülmüştür. Endüstriyel uygulamalarda vurgulu ışık ile ürün kalitesinden ziyade mikrobiyal dekontaminasyon üzerinde durulduğu ve daha çok meyve suyu gibi şeffaf ve berrak sıvılarda çalışıldığı görülmüştür. Yapılan çalışmalarda, endüstriyel uygulamaların henüz çok yaygın olmadığı, artırılması için daha büyük çapta çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle, vurgulu ışık uygulamasının endüstriyel alanda kullanılabilmesi için en uygun işlem koşullarının hesaplanması ve besinlerde meydana gelebilecek değişikliklerin incelenmesine yönelik daha fazla çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abuagela, M.O, Iqdam, B.M., Mostafa, H., Marshall, S.M., Yagiz, Y., Marshall, M.R., Gu, L., Sarnoski, P. (2019). Combined effects of citric acid and pulsed light treatments to degrade B-aflatoxins in peanuts. *Food and Bioproducts Processing* 117: 396-403, doi: 10.1016/j.fbp.2019.08.011.

- Aksu, M.İ., Erdemir, E., Turan, E., Sat, İ.G. (2020). Effects of red beet extracts on protein and lipid oxidation, colour, microbial, sensory properties and storage stability of Turkish pastırma. *Journal of Stored Products Research* 89: 101721, doi: 10.1016/j.jspr.2020.101721.
- Alves Filho, E.G., Silva L.M.A., de Brito, E.S., Wurlitzer, N.J., Fernandes, F.A.N., Rabelo, M.C., Fonteles, T.V, Rodrigues, S. (2018). Evaluation of thermal and non-thermal processing effect on non-prebiotic and prebiotic acerola juices using ¹H ^qNMR and GC-MS coupled to chemometrics. *Food Chemistry* 265: 23-31, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.05.038.
- Anonymous (1996). Subpart B: Radiation and radiation Sources: Pulsed light for the treatment of food. Food and Drug Administration (FDA) Regulations 21 CFR Part 179 of 15 August 1996.
- Anonymous (2001). Hazard analysis and critical control point (HACCP); Procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice. Food and Drug Administration (FDA). Washington DC: Federal Register. 6137-6202 p of 19 January 2001.
- Bhagat, B., Chakraborty, S. (2022). Potential of pulsed light treatment to pasteurize pomegranate juice: Microbial safety, enzyme inactivation, and phytochemical retention. *LWT - Food Science and Technology* 159: 113215, doi: 10.1016/j.lwt.2022.113215.
- Bhavya, M.L., Hebbar, H.U. (2017). Pulsed light processing of foods for microbial safety. *Food Quality and Safety* 1(3): 187-201, doi: 10.1093/fqsafe/fyx017.
- Blasco, R., Esteve, M.J., Frigola, A., Rodrigo, M. (2004). Ascorbic acid degradation kinetics in mushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer. *LWT - Food Science and Technology* 37(2): 171-175, doi: 10.1016/j.lwt.2003.08.003.
- Bevilacqua, A., Petrucci, L., Perricone, M., Speranza, B., Campaniello, D., Sinigaglia, M., Corbo, M.R. (2017). Nonthermal Technologies for fruit and vegetable juices and beverages: Overview and advances. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17(1): 2-62, doi: 10.1111/1541-4337.12299.
- Caminiti, I.M., Noci, F., Morgan, D.J., Cronin D.A., Lyng, J.G. (2012). The effect of pulsed electric fields, ultraviolet light, or high intensity light pulses in combination with manothermosonication on selected physico-chemical and sensory attributes of an orange and carrot juice blend. *Food and Bioprocess Technology* 90(3): 442-448, doi: 10.1016/j.fbp.2011.11.006.
- de Castro, D.R.G., Mar, J.M., da Silva, L.S., da Silva, K.A., Sanches, E.A., de Araújo Bezerra, J., Rodrigues, S., Fernandes, F.A.N., Campelo, P.H. (2020). Dielectric barrier atmospheric cold plasma applied on camu-camu juice processing: Effect of the excitation frequency. *Food Research International* 131: 109044, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109044.
- Chakraborty, S., Mahale, S., Dhar, R., Basak, S. (2022). Development of a mixed fruit beverage and pulsed light treatment thereof to obtain a microbially safe and enzymatically stable product. *Food Bioscience* 45: 101508, doi: 10.1016/j.fbio.2021.101508.
- Chen, D., Wiertzema, J.R., Peng, P., Cheng, Y., Wang, Y., Liu, J., Ma, Y., Mosher, W., Kang, M., Min, M., Chen, P., Baumler, D.J., Chen, C., Lee, L., Vickers, Z., Feirtag, J., Ruan, R. (2020). Catalytic intense pulse light inactivation of *Cronobacter sakazakii* and other pathogens in non-fat dry milk and wheat flour. *Food Chemistry* 33: 127420, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127420.
- Denoya, G.I, Pataro, G., Ferrari, G. (2020). Effects of postharvest pulsed light treatments on the quality and antioxidant properties of persimmons during storage. *Postharvest Biology and Technology* 160(14): 111055, doi: 10.1016/j.postharvbio.2019.111055.
- Dhar, R., Basak, S., Chakraborty, S. (2022). Pasteurization of fruit juices by pulsed light treatment: A review on the microbial safety, enzymatic stability, and kinetic approach to process design. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 21(1): 499-540, doi: 10.1111/1541-4337.12864.

- Dunn, J., Ott, T., Clark, W. (1995). Pulsed-light treatment of food and packaging. *Food Technology* 49(9): 95-98.
- Elmnasser, N., Guillou, S., Leroi, F., Orange, N., Bakhrouf, A., Federighi, M. (2007). Pulsed-light system as a novel food decontamination technology: A review. *Canadian Journal of Microbiology* 53(7): 813–821, doi: 10.1139/w07-042.
- Ergin, E.A., Zorba, N.N.D. (2015). Baharatın mikrobiyel yükünü azaltmada kullanılan yeni yöntemler. *Gıda* 40(4): 241-248, doi: 10.15237/gida.GD14070.
- Ferrario, M., Guerrero, S. (2016). Effect of a continuous flow-through pulsed light system combined with ultrasound on microbial survivability, color and sensory shelf life of apple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 34: 214-224, doi: 10.1016/j.ifset.2016.02.002.
- Ferrario, M.I., Guerrero, S.N. (2018). Inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestis* ATCC 49025 spores in apple juice by pulsed light. Influence of initial contamination and required reduction levels. *Revista Argentina de Microbiología* 50(1): 3-11, doi: 10.1016/j.ram.2017.04.002.
- Güven, E., Yıldız, H. (2016). Isıl olmayan yeni gıda muhafaza tekniklerinin sanayi uygulamaları-1. *Gıda* 41(4): 235-242.
- Hakguder-Taze, B., Unluturk, S. (2018). Effect of postharvest UV-C treatment on the microbial quality of 'Şalak' apricot. *Scientia Horticulturae* 233: 370-377, doi: 10.1016/j.scienta.2018.02.012.
- Heinrich, V., Zunabovic, M., Varzakas, T., Bergmair, J., Kneifel, W. (2016). Pulsed light treatment of different food types with a special focus on meat: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56(4):591-613.
- Huang, G., Sun, W., Dai, C., Sun, L., Tang, Y., He, R., Ma, H. (2020). Sterilization of *Bacillus tequilensis* isolated from aerogenic vinegar by intense pulsed light. *LWT – Food Science and Technology* 118: 108811, doi: 10.1016/j.lwt.2019.108811.
- Illera, A.E., Sans, M.T., Benito-Román, O., Varona, S., Beltrán, S., Melgosa, R., Solaesa, A.G. (2018). Effect of thermosonication batch treatment on enzyme inactivation kinetics and other quality parameters of cloudy apple juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 47: 71-80, doi: 10.1016/j.ifset.2018.02.001.
- Izmirlioglu, G., Ouyang, B., Demirci, A. (2020). Utilization of pulsed UV light for inactivation of *Salmonella* Enteritidis on shelled walnuts. *LWT – Food Science and Technology* 134(10): 110023, doi: 10.1016/j.lwt.2020.110023.
- Jaworska, D., Waszkiewicz-Robak, B., Kolanowski, W., Swiderski, F. (2005). Relative importance of texture properties in the sensory quality and acceptance of natural yoghurts. *International Journal of Dairy Technology* 58(1): 39-46, doi: 10.1111/j.1471-0307.2005.00178.x.
- Jiménez-Sánchez, C., Lozano-Sánchez, J., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2017). Alternatives to conventional thermal treatments in fruit-juice processing. Part 2: Effect on composition, phytochemical content, and physicochemical, rheological, and organoleptic properties of fruit juices. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57(3): 637-652, doi: 10.1080/10408398.2014.914019.
- Karaoglan, H.A., Keklik, N.M., Develi Işıklı, N. (2017). Modeling inactivation of *Candida inconspicua* isolated from turnip juice using pulsed UV light. *Journal of Food Process Engineering* 40(2): e12418, doi: 10.1111/jfpe.12418.
- Karaoglan, H.A., Keklik, N.M., Develi Işıklı, N. (2019). Degradation kinetics of anthocyanin and physicochemical changes in fermented turnip juice exposed to pulsed UV light. *Journal of Food Science and Technology* 56(1): 30-39, doi: 10.1007/s13197-018-3434-1.
- Kaya, Z. (2018). Development of different koruk (unripe grape) products by using several processing techniques. Doctoral Thesis, İzmir Institute of Technology, İzmir, Türkiye, 290 p.
- Kaya, Z., Unluturk, S., Martin-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R. (2020). Effectiveness of pulsed light treatments assisted by mild heat on *Saccharomyces cerevisiae* inactivation in verjuice and evaluation of its quality during storage. *Innovative*

- Food Science and Emerging Technologies* 66: 102517, doi: 10.1016/j.ifset.2020.102517.
- Keklik, N.M, Elik, A., Salgin, U., Demirci, A., Koçer, G. (2020). Surface decontamination of white cheese by pulsed UV light treatment. *Journal of Food Safety and Food Quality* 71(4): 86-92, doi: 10.2376/0003-925x-71-86.
- Kramer, B., Wunderlich, J., Muranyi, P. (2019). Inactivation of *Listeria innocua* on packaged meat products by pulsed light. *Food Packaging and Shelf Life* 21: 100353, doi: 10.1016/j.fpsl.2019.100353.
- Koutchma, T. (2018). Pulsed light for food and beverages preservation, quality and functionality. In: *Reference Module in Food Science*, Knoerzer, K. (chief ed.), Elsevier, Canada, pp. 1-8, doi: 10.1016/B978-0-08-100596-5.22454-2.
- Koutchma, T. (2019). *Ultraviolet light in food technology: principles and applications*. CRC Press, New York, the U.S., 278 p. ISBN: 978-1-138-08142-0.
- Kwaw, E., Ma, Y., Tchabo, W., Apaliya, M.T., Sackey, A.S., Wu, M., Xiao, L. (2018). Impact of ultrasonication and pulsed light treatments on phenolics concentration and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. *LWT – Food Science and Technology* 92: 61-66, doi: 10.1016/j.lwt.2018.02.016.
- Lee, S.H., Park, H.H., Min, S.C. (2020). Pulsed light plasma treatment for the inactivation of *Aspergillus flavus* spores, *Bacillus pumilus* spores, and *Escherichia coli* O157:H7 in red pepper flakes. *Food Control* 118: 107401, doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107401.
- Linhares, M.F.D., Alves Filho, E.G., Silva, L.M.A., Fonteles, T.V., Wurlitzer, N.J, Brito, E.S., Fernandes, F.A.N., Rodrigues, S. (2020). Thermal and non-thermal processing effect on açai juice composition. *Food Research International* 136: 109506, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109506.
- Malik, S. (2018). Characterization of novel pulsed UV-light systems for inactivation of *Listeria monocytogenes* in apple juice and on apple surface. Master Thesis, Illinois Institute of Technology, Chicago, Illinois, 50 p.
- Mandal, R., Mohammadi, X., Wiktor, A., Singh, A., Singh, A.P. (2020). Applications of pulsed light decontamination technology in food processing: An overview. *Applied Sciences* 10(10): 3606, doi: 10.3390/app10103606.
- Manso, M.C., Oliveira, F.A.R, Oliveira, J.C., Frías, J.M. (2001). Modelling ascorbic acid thermal degradation and browning in orange juice under aerobic conditions. *International Journal of Food Science Technology* 36(3): 303-312, doi: 10.1046/j.1365-2621.2001.t01-1-00460.x.
- Marriott, N.G, Schilling, M.W, Gravani, R.B. (2018). *Principles of food sanitation*. Sixth Edition, Springer International Publishing AG, Cham, Switzerland, 436 p. ISBN: 978-3-319-67164-2.
- Mukhopadhyay, S., Sokorai, K., Ukuku, D.O., Fan, X., Olanya, M., Juneja. V. (2019). Effects of pulsed light and sanitizer wash combination on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, microbial loads and apparent quality of spinach leaves. *Food Microbiology* 82: 127-134, doi: 10.1016/j.fm.2019.01.022.
- Orcajo, J., Lavilla, M., Martínez-de-Marañón, I. (2019). Effect of Pulsed Light treatment on β -lactoglobulin immunoreactivity. *LWT - Food Science and Technology* 112: 108231, doi: 10.1016/j.lwt.2019.05.129.
- Özturan, S., Erkan, S. (2012). Gıdalarda ve su ürünlerinde atımlı ışık ve elektrolize okside su uygulamaları. <https://www.gidateknolojisi.com.tr/haber/2012/10/gidalarda-ve-su-urunlerinde-atimli-iskik-ve-elektrolize-okside-su-uygulamalari> (Erişim tarihi: 27.04.2022).
- Paixão, L.M.N., Fonteles, T.V., Oliveira, V.S., Fernandes, F.A.N., Rodrigues, S. (2019). Cold plasma effects on functional compounds of siriguela juice. *Food and Bioprocess Technology* 12(2): 110–121, doi: 10.1007/s11947-018-2197-z.
- Palgan, I, Caminiti, I.M., Muñoz, A., Noci F., Whyte, P., Morgan, D.J., Cronin, D.A., Lyng, J.G. (2011). Effectiveness of high intensity light pulses (hilp) treatments for the control of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice, orange juice and milk. *Food Microbiology* 28(1): 14-20, doi: 10.1016/j.fm.2010.07.023.

- Pataro, G., Muñoz, A., Palgan, I., Noci, F., Ferrari, G., Lyng, J.G. (2011). Bacterial inactivation in fruit juices using a continuous flow Pulsed Light (PL) system. *Food Research International* 44(6): 1642-1648, doi: 10.1016/j.foodres.2011.04.048.
- Pellicer, J.A., Navarro, P., Gómez-López, V.M. (2019). Pulsed light inactivation of polygalacturonase. *Food Chemistry* 271: 109-113, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.07.194.
- Pellicer, J.A., Navarro, P., Gómez-López, V.M. (2020). Pectin methylesterase inactivation by pulsed light. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 62: 102366, doi: 10.1016/j.ifset.2020.102366.
- Pierscianowski, J., Popović, V., Biancanello, M., Bissonnette, S., Zhu, Y., Koutchma, T. (2021). Continuous-flow UV-C processing of kale juice for the inactivation of *E. coli* and assessment of quality parameters. *Food Research International* 140: 110085, doi: 10.1016/j.foodres.2020.110085.
- Pohl, P., Dzimitrowicz, A., Cyganowski, P., Jamroz, P. (2022). Do we need cold plasma treated fruit and vegetable juices? A case study of positive and negative changes occurred in these daily beverages. *Food Chemistry* 375: 131831, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131831.
- Porto, E., Alves Filho, E.G., Silva, L.M.A., Fonteles, T.V., do Nascimento, R.B.R., Fernandes, F.A.N., de Brito, E.S., Rodrigues, S. (2020). Ozone and plasma processing effect on green coconut water. *Food Research International* 131: 109000, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109000.
- Preetha, P., Venugobal, A.P., Varadharaju, N., Kennedy, Z.J. (2017). Inactivation of *Escherichia coli* in tender coconut (*Cocos Nucifera* L.) water by pulsed light treatment. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(7): 1453-1461, doi: 10.20546/ijemas.2017.607.174.
- Preetha, P., Pandiselvam, R., Varadharaju, N., Kennedy, Z.J., Balakrishnan, M., Kothakota, A. (2021). Effect of pulsed light treatment on inactivation kinetics of *Escherichia coli* (MTCC 433) in fruit juices. *Food Control* 121: 107547, doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107547.
- Rao, N. (2018). Study of the demand supply gap in the production of agricultural products and agro processing industry and foresee the emerging technology from investment point of view. *International Journal of Research and Analytical Reviews* 5(3): 1475-1484.
- Ren, M., Yu, X., Mujumdar, A.S., Yagoub, A.E.-G.A., Chen, L. (2021). Visualizing the knowledge domain of pulsed light technology in the food field: A scientometrics review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 74: 102823.
- Ricciardi, F.E., Plazzotta, S., Conte, A., Manzocco, L. (2021). Effect of pulsed light on microbial inactivation, sensory properties and protein structure of fresh ricotta cheese. *LWT - Food Science and Technology* 139: 110556, doi: 10.1016/j.lwt.2020.110556.
- Rodríguez-Bencomo, J.J., Sanchis, V., Viñas, I., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R. (2020). Formation of patulin-glutathione conjugates induced by pulsed light: A tentative strategy for patulin degradation in apple juices. *Food Chemistry* 315: 126283, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126283.
- Rodríguez, Ó., Gomes, W.F., Rodrigues, S., Fernandes, F.A.N. (2017). Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). *LWT - Food Science and Technology* 84: 457-463, doi: 10.1016/j.lwt.2017.06.010.
- Rowan, N.J. (2019). Pulsed light as an emerging technology to cause disruption for food and adjacent industries – Quo vadis? *Trends in Food Science and Emerging Technologies* 88: 316-332.
- dos Santos Aguilar, J.G. (2019). Pulsed light treatment in food. *Chemical Reports* 1(2): 108-111, doi: 10.25082/CR.2019.02.007.
- Sharrer, M.J., Summerfelt, S.T., Bullock, G.L., Gleason, L.E., Taeuber, J. (2005). Inactivation of bacteria using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system. *Aquacultural Engineering* 33(2): 135-149, doi: 10.1016/j.aquaeng.2004.12.001.
- Silva, E.K., Meireles, M.A.A., Saldaña, M.D.A. (2020). Supercritical carbon dioxide technology:

- A promising technique for the nonthermal processing of freshly fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science and Technology* 97: 381-390, doi: 10.1016/j.tifs.2020.01.025.
- Tao, T., Ding, C., Han, N., Cui, Y., Liu, X., Zhang, C. (2019). Evaluation of pulsed light for inactivation of foodborne pathogens on fresh-cut lettuce: Effects on quality attributes during storage. *Food Packaging and Shelf Life* 21: 100358, doi: 10.1016/j.fpsl.2019.100358.
- Taştan, Ö. (2019). Berrak elma suyunun ısı olmayan pastörizasyonuna yönelik yüksek yoğunluklu vurgulu ışık, düşük voltajlı elektriksel işlem ve doğal antimikrobiyal maddelerin kombine kullanımının incelenmesi. Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, Türkiye, 182 s.
- Tomasevic, I., Rajkovic, A. (2005). The sensory quality of meat, game, poultry, seafood and meat products as affected by intense light pulses: A systematic review. *Procedia Food Science* 5: 285-288, doi: 10.1016/j.profoo.2015.09.081.
- Vargas-Ramella, M., Pateiro, M., Gavahian, M., Franco, D., Zhang, W., Khaneghah, A.M., Guerrero- Sánchez, Y., Lorenzo, J.M. (2021). Impact of pulsed light processing technology on phenolic compounds of fruits and vegetables. *Trends in Food Science and Technology* 115: 1-11, doi: 10.1016/j.tifs.2021.06.037.
- Vičić, M., Sobotka, L.G., Williamson, J.F., Charity, R.J., Elson, J.M. (2003). Fast pulsed UV light source and calibration of non-linear photomultiplier response. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* 507(3): 636-642, doi: 10.1016/S0168-9002(03)01376-7.
- Vollmer, K., Chakraborty, S., Bhalerao, P.P., Carle, R., Frank, J., Steingass, C.B. (2020). Effect of pulsed light treatment on natural microbiota, enzyme activity, and phytochemical composition of pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) juice. *Food and Bioprocess Technology* 13: 1095-1109, doi: 10.1007/s11947-020-02460-7.
- Wang, Y., Li, L., Wang, B., Xu, J. (2022). Selective enzyme inactivation in a simulated system and in cabbage juice using electrospray technology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 75: 102875, doi: 10.1016/j.ifset.2021.102875.
- Wang, B., Zhang, Y., Venkitesamy, C., Wu, B., Zhongli, P., Ma, H. (2017). Effect of pulsed light on activity and structural changes of horseradish peroxidase. *Food Chemistry* 234: 20-25, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.149.
- Xu, F., Wang, B., Hong, C., Telebielaigen, S., Nsor-Atindana, J., Duan, Y., Zhong, F. (2019). Optimization of spiral continuous flow-through pulse light sterilization for *Escherichia coli* in red grape juice by response surface methodology. *Food Control* 105: 8-12, doi: 10.1016/j.foodcont.2019.04.023.
- Zhang, H.Q., Barbosa-Cánovas, G.V., Balasubramaniam, V.M, Dunne, C.P., Farkas, D. F., Yuan, J.T.C. (eds.) (2011). *Nonthermal Processing Technologies for Food*. Blackwell Publishing Ltd. and Institute of Food Technologists, the U.S., 596 p. ISBN: 978-0-8138-1668-5.
- Zhu, Y., Li, C., Cui, H., Lin, L. (2019). Antimicrobial mechanism of pulsed light for the control of *E. coli* O157:57 and its application in carrot juice. *Food Control* 106(33): 106751, doi: 10.1016/j.foodcont.106751.



VANİLİN VE NİSİNİN *LISTERIA MONOCYTOGENES* ÜZERİNE İNHİBİSYON ETKİSİNİN YANIT YÜZEY YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

Gökçe Polat Yemiş*

Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sakarya, Türkiye

Geliş / Received: 10.05.2022; Kabul / Accepted: 01.08.2022; Online baskı / Published online: 12.08.2022

Polat Yemiş, G. (2022). Vanilin ve nisin *Listeria monocytogenes* üzerine inhibisyon etkisinin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi. *GIDA* (2022) 47 (4) 679-689 doi: 10.15237/gida.GD22048

Polat Yemiş, G. (2022). Determination of inhibitory effect of vanillin and nisin on *Listeria monocytogenes* by response surface methodology. *GIDA* (2022) 47 (4) 679-689 doi: 10.15237/gida.GD22048

ÖZ

Bu çalışmada, vanilin ve nisin ılımlı sıcaklık koşullarında *Listeria monocytogenes* inaktivasyonu üzerine etkisi yanıt yüzey yöntemi ile incelenmiştir. *L. monocytogenes* inhibisyonunda vanilin konsantrasyonu (0.5–1.5 mg/mL), nisin konsantrasyonu (5–10 IU/mL), sıcaklık (45–55°C) ve süre (2–6 dak.) bağımsız değişkenlerinin etkisini belirlemek için merkezi kompozit tasarımı kullanılmıştır. Elde edilen ikinci dereceden model ile, vanilin konsantrasyonu, nisin konsantrasyonu ve sıcaklığın inhibisyon üzerine önemli bir etkiye sahip olduğu buna karşın sürenin ise önemsiz olduğu saptanmıştır. Bu çalışma, 1.5 mg/mL vanilin, 10 IU/mL nisin, 55°C sıcaklık ve 5.77 dakikalık uygulamanın *L. monocytogenes* inaktivasyonu için optimum koşullar olduğu ve bu koşullar ile 7.16 logaritmik azalmanın sağlanabileceğini ortaya koymuştur. İlimli sıcaklık koşullarında nisin ve vanilin birlikte kullanımı gıdalarda *L. monocytogenes* kontrolü açısından gelecek vaat etmektedir.

Anahtar kelimeler: *Listeria monocytogenes*, vanilin, nisin, antibakteriyel aktivite, yanıt yüzey yöntemi

DETERMINATION OF INHIBITORY EFFECT OF VANILLIN AND NISIN ON *LISTERIA MONOCYTOGENES* BY RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

ABSTRACT

In this study, the effects of vanillin and nisin on the inactivation of *Listeria monocytogenes* under mild temperature conditions were investigated using the response surface methodology (RSM). A central composite design (CCD) was used to determine the effects of independent variables, including vanillin concentration (0.5–1.5 mg/mL), nisin concentration (5–10 IU/mL), temperature (45–55°C), and time (2–6 min.) on inhibition of *L. monocytogenes*. The proposed quadratic model revealed that vanillin concentration, nisin concentration and temperature had a significant effect on inhibition, whereas time was insignificant. The optimum conditions for the combined treatment for microbial reduction (7.16 log) were determined which were 1.5 mg/mL vanillin, 10 IU/mL nisin at 55°C for 5.77 min. The combined use of nisin and vanillin in foods under mild temperature conditions is promising for controlling *L. monocytogenes* in foods.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, nisin, vanillin, antimicrobial activity, response surface methodology

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding Author

✉: gokceyemis@sakarya.edu.tr.

☎: (+90) 264 295 7038,

☎: (+90) 264 295 5601

Gökçe Polat Yemiş; ORCID no: 0000-0002-1367-0535

GİRİŞ

Listeria monocytogenes, insanlarda ve hayvanlarda hastalığa neden olan en önemli gıda kaynaklı patojenlerden biridir. *L. monocytogenes* ile kontamine olmuş gıdalardan kaynaklanan listeriozis vakalarına oldukça sık rastlanmaktadır. Listeriozis, sıklıkla kontamine süt, yumuşak ve yarı yumuşak peynir, iyi pişmemiş et ve iyi yıkanmamış çiğ sebzelerin tüketimine bağlı olarak ortaya çıkan bir hastalıktır. Hamile kadınlar, yeni doğanlar, yaşlılar ve bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler risk grubunda yer almaktadır. Gıdalardaki yüksek *L. monocytogenes* varlığı ve ölüm oranının hayli yüksek olması, etkenin halk sağlığı açısından ne denli büyük bir risk olduğunu ortaya koymaktadır. *L. monocytogenes*'in düşük sıcaklıklarda üreyebilme yeteneği, soğutma, dondurma, ısıtma ve kurutma işlemleri gibi olumsuz koşullar altında bile canlılığını koruyabilmesi nedeniyle gıda kaynaklı hastalıklarda önemli rol oynamaktadır (Bucur vd., 2018; Disson vd., 2021).

Son yıllarda, tüketicilerin sentetik katkı maddeleri ile ilgili önyargıları ve katkı maddesi içermeyen ürünlere yönelik artan tüketici talepleri nedeniyle gıda muhafaza yöntemlerinde yeni teknikler ve özellikle doğal antimikrobiyel bileşiklere olan ilgiyi artırmıştır. Gıdaların mikrobiyolojik güvenliğini sağlamak ve yüksek ısı işlem sonucu ortaya çıkabilecek kalite kayıplarını önlemek amacıyla doğal antimikrobiyel bileşiklerin gıda muhafazasında ısı işlem ile birlikte kullanımı engeller teknolojisi kapsamında alternatif bir yöntem olarak oldukça önem kazanmıştır. Nisin, laktik asit bakterilerinden *Lactococcus lactis* tarafından üretilen bir bakteriyosindir ve gıda sistemlerinde kullanılan GRAS (Generally Recognized As Safe) statüsündeki önemli doğal koruyuculardan birisidir. *Listeria* türleri başta olmak üzere özellikle Gram pozitif bakteriler ile *Clostridium* ve *Bacillus* türlerinin sporlarına karşı geniş spektrumda antimikrobiyel etkiye sahiptir (Abdollahzadeh vd. 2014; Moshtaghi vd., 2018). Vanilin (4-hidroksi-3-metoksibenzenaldehyd), vanilya bitkisinin çekirdek ve kabuğunun ana bileşeni olan düşük molekül ağırlıklı bir fenolik bileşiktir ve pastacılık ürünleri, dondurma, alkolsüz içecekler ve unlu mamuller gibi geniş bir

ürün yelpazesinde aroma verici olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra vanilinin antimikrobiyel ve antioksidan özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir (Fitzgerald vd., 2004, Olatunde vd., 2022). Antimikrobiyel bileşiklerin tek başlarına kullanılması durumunda bakteriler üzerinde letal etkiye ulaşabilmesi için yüksek miktarda kullanımının gerekliliği, yüksek konsantrasyonlarda kullanılması durumunda ise gıdanın organoleptik özelliklerinde değişimlere yol açması nedeniyle, gıda patojenlerinin inaktivasyonunda antimikrobiyel bileşiklerin kombine kullanımları ile fiziksel uygulamaların (ısı işlem, ultrases, yüksek hidrostatik basınç vb.) antimikrobiyel bileşiklerle oluşturduğu sinerjistik etkili uygulamalar üzerine araştırmalar dikkat çekmektedir (Gurtler vd., 2019; Arioli vd., 2019; Takundwa 2021). İlımlı ısı işlem ve antimikrobiyel bileşiklerin birlikte kullanımı ile hedeflenen letal etki düzeyi artırılmakta, bunun yanı sıra maliyet, besin ve kalite kayıpları da önlenmektedir.

Bu araştırmada, GRAS statüsünde yer vanilin ve nisin, ılımlı sıcaklık koşullarında *L. monocytogenes* inaktivasyonu üzerine etkisi yanıt yüzey yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Araştırma kapsamında kullanılan nisin ve vanilin Sigma-Aldrich (St. Louis. MO) firmasından temin edilmiştir. Vanilin stok çözeltisi %0.5 oranında yeast ekstrakt içeren Tryptic Soy Broth (TSBYE) içerisinde hazırlanmıştır. Nisin stok çözeltisi ise 25 mL nisin eluent çözeltisi (0.5 mL 1M HCl ve 24.5 mL saf su) içinde süspansiyon edilmiştir. Elde edilen stok çözeltilerin asitliği pH 5.0, 6.0, ve 7.0'ye ayarlanmış ve 0.45 µm por çaplı steril membran filtreden (Sartorius, Germany) geçirilerek sterilize edilmiştir. Stok çözeltiler 4°C'de muhafaza edilmiştir.

Bakteri kültürü

Araştırmada. *L. monocytogenes* ATCC 19111 (Microbiologics) bakteri kültürü kullanılmıştır. %15 gliserol içeren Tryptic Soy Broth (TSB, Merck) besiyerinde -20 °C'da dondurularak muhafaza edilen bakteri kültürü, TSBYE

besiyerinde 37 °C'da 24 saat inkübe edilerek aktive edilmiştir.

Minimum inhibisyon konsantrasyonu

Vanilin ve nisinin *L. monocytogenes* üzerine antibakteriyel aktivitelerinin farklı pH değerlerinde (pH 5.0, pH 6.0, ve pH 7.0) kantitatif olarak ölçümü için mikro tüp dilüsyon yöntemi ile 96 kuyucuklu plaklar kullanılarak minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) belirlenmiştir (Polat Yemiş vd., 2011). Bu amaçla 0.5–10 mg/mL konsantrasyonlarda vanilin ve 5–200 IU/mL konsantrasyonlarda nisin içeren pH'sı 5.0, 6.0 ve 7.0'a ayarlı steril TSBYE besiyeri kuyucuklara aktarılmıştır. Daha sonra 96 kuyucuklu mikropak içindeki her bir kuyucuğa daha önce hazırlanan bakteri kültüründen son konsantrasyon ~5 log kob/mL olacak şekilde eklenmiştir. Plaklar 37°C'da 24 saat inkübasyona tabi tutulmuş ve inkübasyon sonunda bakteri gelişiminin baskılandığı dozlar minimum inhibisyon konsantrasyonu olarak

değerlendirilmiştir. Denemeler iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Farklı sıcaklık koşullarında vanilin ve nisinin *L. monocytogenes* inaktivasyonu üzerine etkisinin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi

L. monocytogenes inhibisyonunda etkili faktörler ve bu faktörlerin yer aldığı optimum koşullar yanıt yüzey yöntemi (RSM) ile belirlenmiştir. Bu amaçla Design Expert 7.00 (Stat-Ease, Inc., MN) istatistik paket programı kullanılmıştır. Vanilin konsantrasyonu (X_1), nisin konsantrasyonu (X_2), sıcaklık (X_3) ve süre (X_4) bağımsız değişken, inhibisyon oranı ise bağımlı değişken olarak seçilmiştir. Çalışma aralıkları pH 5.0'da belirlenen MİK değerleri temel alınarak ön denemelerle belirlenmiştir. Ön denemelerde elde edilen veriler doğrultusunda yanıt yöntemi merkezi kompozit tasarımında dört faktör-üç seviyeli deneysel aralıklar belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Yüzey yanıt yöntemi merkezi kompozit tasarımında kullanılan bağımsız değişkenler ve deneysel aralıklar

Table 1. Independent variables and experimental ranges used in the RSM-CCD (Response Surface Methodology-Central Composite Design)

Bağımsız değişkenler <i>Independent variables</i>	Birim <i>Unit</i>	Kodlanmış ve gerçek değerler <i>Coded and real values</i>		
		-1	0	+1
Vanilin konsantrasyonu (X_1) <i>Vanillin concentration (X₁)</i>	mg/mL mg/mL	0.5	1.0	1.5
Nisin konsantrasyonu (X_2) <i>Nisin concentration (X₂)</i>	IU/mL IU/mL	5.0	7.5	10.0
Sıcaklık (X_3) <i>Temperature (X₃)</i>	°C °C	45	50	55
Süre (X_4) <i>Time (X₄)</i>	dakika <i>min</i>	2	4	6

TSBYE besiyeri ortamında belirlenen konsantrasyonlarda nisin ve vanilin içeren ve asitliği pH 5.0 değerine ayarlanmış örnekler 0.45 µm por çaplı steril membran filtreden geçirilerek sterilize edilmiştir. Su banyosunda istenen sıcaklık değerlerine getirilen 10 mL vida kapaklı

tüplerdeki örneklere ayrı ayrı son konsantrasyon ~7 log kob/mL olacak şekilde 24 saatlik aktif kültür inoküle edilmiştir. İnokülasyon işlemi gerçekleştirilmiş örneklere sıcaklık kontrollü bir su banyosu yardımıyla belirlenen sıcaklık ve sürelerde ısı işlem uygulanmıştır. Tüm ısı işlem

sürecinin sıcaklık değişimi, aynı koşullarda hazırlanmış tüp içerisinde kalibre edilmiş bir thermocouple yardımıyla izlenmiştir. Termal inaktivasyon işlemi sırasında belirli zaman aralıklarında alınan örnekler aseptik koşullarda steril tüplere aktarılmış ve buzlu su banyosuna alınarak hızlı bir şekilde soğutulmuştur (Polat Yemiş vd., 2011). Daha sonra örnekler Maximum Recovery Diluent (MRD, Merck) ile belirli aralıkta seyreltilmiştir. Tüm seyreltilerden TSA besiyerine standart yayma plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37°C'da 48 saat inkübasyon sonrasında besiyerinde oluşan koloniler sayılmıştır. Elde edilen sonuçlar log kob/mL olarak ifade edilmiştir. Denemeler iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel değerlendirme

Araştırma sonucunda elde edile veriler Design-Expert paket programına yüklenmiş, olası regresyon modellerinin ve modelde yer alan katsayıların önem derecesi (significance test) varyans analizi (ANOVA) ile ortaya konmuştur. Elde edilen değerlerin linear, kuadratik ve kübik modele uygunlukları için F, P, R², R²_{düzeltilmiş} ve R²_{tahminlenmiş} değerleri kıyaslanmıştır. MİK ve MBK sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi SPSS (ver.20.0. SPSS Inc.. Chicago IL) istatistik paket programı kullanılarak varyans analiz tekniği (ANOVA) ile yapılmış ve farklılık görülen gruplarda farklılığın hangi düzeyde olduğu LSD (Asgari Önemli Fark) testi uygulanarak (P<0.05) belirlenmiştir.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Nisin ve vanilinin minimum inhibisyon konsantrasyonu

Nisin ve vanilinin farklı pH değerlerinde *L. monocytogenes*'e karşı antibakteriyel etkisi kantitatif olarak mikro tüp dilüsyon yöntemi ile belirlenmiş ve elde edilen minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Her iki bileşik de *L. monocytogenes*'e karşı antibakteriyel aktivite sergilemiştir. Asitlik artışına paralel olarak MİK değerleri de artış göstermiştir. pH'nın fenolik bileşiklerin antibakteriyel aktivitesi üzerindeki etkisi detaylı olarak çalışılmamıştır. Bununla birlikte, fenolik bileşiklerin çözünürlüğünün ve stabilitesinin

düşük pH değerlerinde arttığı bilinmektedir (Friedman ve Jürgens 2000, Puupponen-Pimiä vd., 2005). Bu literatür bilgisini doğrular nitelikte vanilin ve nisin, düşük pH değerinde (pH 5.0) daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir. Vanilinin *L. monocytogenes* de dahil olmak üzere Gram-pozitif bakteriler, Gram-negatif bakteriler, mayalar ve küflere karşı antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu daha önce yapılan araştırmalar ile de ortaya konmuştur (Delaquis vd., 2005; Char vd., 2009; Polat Yemiş vd. 2011; Polat Yemiş vd. 2012; Schenk vd., 2018; Ferrario vd., 2020; Li vd. 2021; Cava-Roda vd. 2021, Yang vd., 2021; Orizano-Ponce vd., 2022). Araştırma kapsamında vanilinin MİK değerleri pH 5.0, 6.0 ve 7.0 için sırasıyla 0.5 mg/mL, 2.0 mg/mL ve 3.0 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Araştırma bulgularına paralel şekilde, Cava-Roda vd. (2012), sütte *L. monocytogenes* kontrolünde vanilin, tarçın uçucu yağı ve karanfil uçucu yağı karışımlarının antimikrobiyel aktiviteleri üzerine yaptıkları araştırmalarında, vanilinin MİK değerini *L. monocytogenes* için 3000 ppm (pH 7.0) ve 2800 ppm (pH 6.0) olarak belirlemişlerdir. Delaquis vd. (2005), *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. grayi* ve *L. seeligeri*'nin farklı suşlarına karşı vanilinin etkisini inceledikleri araştırmalarında, pH 5.0, 6.0 ve 7.0'de 30 mM vanilin eklenmiş besiyeri ortamında bakterisidal etkinin düşük pH değerlerinde arttığını tespit etmişlerdir. Araştırma bulgularımız, Delaquis vd. (2005)'nin araştırma sonuçları ile uyumludur. Vanilin gibi fenolik bileşiklerin bakteri hücrelerinin hücre zarlarını etkilediği bilinmektedir. Fitzgerald vd. (2004), vanilinin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde sitoplazmik membran bütünlüğünün kaybına neden olarak hücresel sızıntıya yol açtığını ve inhibisyonun, kısmen protein, nükleik asitler, inorganik iyonlar ve ATP gibi hücre içi moleküllerin kaybına yol açan artan membran geçirgenliğinden kaynaklandığını belirlemişlerdir. Nisinin *L. monocytogenes*' e karşı MİK değerleri ise pH 5.0, 6.0 ve 7.0 için sırasıyla 10 IU/mL, 80 IU/mL ve 85 IU /mL olarak belirlenmiştir. Nisin molekülü asidik karakterde olması sebebiyle düşük pH değerlerinde yüksek çözünürlük göstermekte ve daha yüksek aktivite sergilemektedir. Nisinin pH 5.0'da daha etkili sonuç göstermesi bu literatür bilgisini

doğrulamaktadır. Nisinin bakterisidal etkisini, hücre membranının yapı ve fonksiyonunu değişiklik meydana getirmesi sonucu hücre içi

moleküllerin dışarıya sızmasına yol açarak ve hücre duvarı sentezini durdurarak gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Perez-Ramos vd. 2021).

Çizelge 2. Nisin ve vanilinin *L. monocytogenes*'e karşı farklı pH koşullarında minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK)

Table 2. Minimum inhibitory (MIC) concentrations of nisin and vanillin against *L. monocytogenes* at different pH conditions

	MİK*/MIC*	
	Nisin (IU/mL)/Nisin (IU/mL)	Vanilin (mg/mL)/Vanillin (mg/mL)
pH 5.0	10.00±00 ^b	0.50±00 ^c
pH 6.0	80.00±00 ^a	2.00±00 ^b
pH 7.0	85.00±5.00 ^a	3.50±0.50 ^a

*Aynı sütundaki farklı harfler (a-c) ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

*Mean values in each column with different lower case letter superscripts are significantly different (p<0.05)

Değişkenlerin *L. monocytogenes* inaktivasyonu üzerine etkisinin incelenmesi ve optimum noktaların belirlenmesi

Araştırma kapsamında, bağımsız değişkenlerin (nisin konsantrasyonu, vanilin konsantrasyonu, sıcaklık ve süre) bireysel ve birbirleriyle olan ilişkileri ile maksimum indirgemeyi sağlandığı koşulların saptanacağı optimizasyon modeli oluşturulmuştur. Yanıt yüzey yöntemi merkezi kompozit tasarım yoluyla dört faktör-üç seviyeli olarak kullanılan deneysel tasarım ve bu koşullar altında elde edilen inhibisyon değerleri Çizelge 3'de verilmiştir. Çizelge 3'den de görüleceği üzere indirgeme değeri 0.39–7.30 log kob/mL aralığında değişim göstermiştir. En düşük indirgeme 1. denemede (vanilin: 0.5 mg/mL, nisin: 5 IU/mL sıcaklık: 45°C ve süre: 2 dak.) 0.39 log kob/mL düzeyinde, en yüksek indirgeme ise 16. denemede (vanilin: 1.5 mg/mL, nisin: 10 IU/mL, sıcaklık: 55°C ve süre: 6 dak.) 7.30 log kob/mL düzeyinde gerçekleşmiştir.

Elde edilen veriler Design-Expert paket programına yüklenmiş, olası regresyon modellerinin ve modelde yer alan katsayıların önem derecesi (significance test) varyans analizi (ANOVA) ile ortaya konmuştur. Elde edilen değerlerin linear, kuadratik ve kübik modele uygunlukları için F, P, R², R² düzeltilmiş ve R² tabminlenmiş değerleri kıyaslanmıştır (Çizelge 4). Kullanılan program bütün bu elde edilen kriterleri göz önünde bulundurarak en uygun model olarak kuadratik modeli önermiştir. Mikrobiyel indirgemeye ilişkin önerilen bu kuadratik model

için aşağıda verilen ikinci dereceden polinomial eşitlik kullanılmıştır.

$$Y = k_0 + k_1X_1 + k_2X_2 + k_3X_3 + k_4X_4 + k_5X_1^2 + k_6X_2^2 + k_7X_3^2 + k_8X_4^2 + k_9X_1X_2 + k_{10}X_1X_3 + k_{11}X_1X_4 + k_{12}X_2X_3 + k_{13}X_2X_4 + k_{14}X_3X_4$$

Bu eşitlikte Y logaritmik indirgemeyi, X₁, X₂, X₃ ve X₄ bağımsız değişkenleri, k₀ sabit, k₁, k₂, k₃ ve k₄ söz konusu değişkenler için doğrusal etkileri yansıtan katsayıları. k₅, k₆, k₇ ve k₈ söz konusu değişkenlerin kuadratik etkileri yansıtan katsayıları. k₉, k₁₀, k₁₁, k₁₂, k₁₃ ve k₁₄ ise değişkenler arasındaki ilişkiyi gösteren katsayıları belirtmektedir.

Önerilen bu kuadratik modele ANOVA analizi yapılarak, işlem değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden regresyon modelleri oluşturulmuştur. Bu amaçla her bir değişkenin “doğrusal” (lineer) etki terimleri, daha sonra “ikinci dereceden” (kuadratik) ve “ikili fraksiyon etkileşimi” (interaksiyon) terimleri irdelenmiştir. Tasarımın önerdiği bu kuadratik modele ilişkin katsayılar ve bunların önem dereceleri toplu halde Çizelge 5'te verilmiştir. Önerilen modelin önemli (p<0.0001) olduğu görülmüştür. Bu katsayılar kullanılarak aşağıdaki matematiksel eşitliğe (Eşitlik-1) ulaşılmıştır.

$$Y \text{ (log indirgeme)} = 124.66 - 4.06X_1 - 4.89X_2 - 4.95X_3 - 2.25X_4 + 0.12X_1X_2 + 0.08X_1X_3 + 0.08X_1X_4 + 0.08X_2X_3 + 0.07X_2X_4 + 0.05X_3X_4 + 0.18X_1^2 + 0.42X_2^2 + 0.05X_3^2 - 0.02X_4^2 \text{ (Eşitlik-1)}$$

Çizelge 3. Yanıt yüzey yöntemi merkezi kompozit tasarım yoluyla dört faktör-üç seviyeli olarak kullanılan deneysel tasarım ve bu koşullar altında elde edilen deneysel inhibisyon değerleri

Table 3. Four factor, five-level central composite design used for RSM and experimental results for under the conditions

Standart Trial no	sıra	Faktör 1 (X ₁)	Faktör 2 (X ₂)	Faktör 3 (X ₃)	Faktör 4 (X ₄)	İndirgeme
		Factor 1 (X ₁)	Factor 2 (X ₂)	Factor 3 (X ₃)	Factor 4 (X ₄)	(log kob/mL)*
		Vanilin (mg/mL)	Nisin (IU/mL)	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)	Reduction (log cfu/mL)*
		Vanillin (mg/mL)	Nisin (IU/mL)	Temperature (°C)	Time (min)	
1		0.50	5.00	45.00	2.00	0.39±0.03
2		1.50	5.00	45.00	2.00	0.53±0.05
3		0.50	10.00	45.00	2.00	0.67±0.09
4		1.50	10.00	45.00	2.00	0.88±0.06
5		0.50	5.00	55.00	2.00	2.11±0.10
6		1.50	5.00	55.00	2.00	2.98±0.08
7		0.50	10.00	55.00	2.00	3.16±0.12
8		1.50	10.00	55.00	2.00	4.20±0.20
9		0.50	5.00	45.00	6.00	0.86±0.02
10		1.50	5.00	45.00	6.00	1.24±0.05
11		0.50	10.00	45.00	6.00	1.35±0.19
12		1.50	10.00	45.00	6.00	1.99±0.23
13		0.50	5.00	55.00	6.00	4.59±0.19
14		1.50	5.00	55.00	6.00	5.89±0.09
15		0.50	10.00	55.00	6.00	6.03±0.15
16		1.50	10.00	55.00	6.00	7.30 ±0.06
17		0.50	7.50	50.00	4.00	1.43±0.15
18		1.50	7.50	50.00	4.00	1.90±0.09
19		1.00	5.00	50.00	4.00	1.35±0.07
20		1.00	10.00	50.00	4.00	2.10±0.13
21		1.00	7.50	45.00	4.00	0.82±0.02
22		1.00	7.50	55.00	4.00	4.87±0.45
23		1.00	7.50	50.00	2.00	1.07±0.04
24		1.00	7.50	50.00	6.00	2.03±0.10
25		1.00	7.50	50.00	4.00	1.38±0.07
26		1.00	7.50	50.00	4.00	1.20±0.20
27		1.00	7.50	50.00	4.00	0.99±0.35
28		1.00	7.50	50.00	4.00	1.42±0.16

*İndirgeme değerleri ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir (n=2)

*Reduction values represent means ± standard deviations (n=2)

Çizelge 4. Önerilen modellerin karşılaştırılması

Table 4. Statistical summary of the models proposed

Model	F değeri	P değeri	R ²	R ² _{düzeltilmiş}	R ² _{tahminlenmiş}
	F value	P value	R-square	Adj R-square	Pred R-square
Linear/Linear	25.29	0.0001	0.8148	0.7826	0.7236
Kuadratik/Quadratic	<u>35.72</u>	<u>0.0001</u>	<u>0.9897</u>	<u>0.9787</u>	<u>0.9650</u>
Kübik/Cubic	0.57	0.7726	0.9946	0.9710	0.3986

Çizelge 5. Kuadratik modele ilişkin katsayılar ve önem dereceleri
Table 5. Coefficients and significance levels for the quadratic model

Modeldeki terim <i>Model term</i>	Katsayı (k) <i>Coefficient (k)</i>	F değeri <i>F value</i>	P değeri P>F <i>P value P>F</i>
Model/Model		89.66	<0.0001
Model uyumsuzluğu/ <i>Lack of fit</i>			0.2797*
Intercept	124.66		
X ₁	-4.06	29.84	0.0001
X ₂	-4.89	44.75	< 0.0001
X ₃	-4.95	784.13	< 0.0001
X ₄	-2.25	174.63	< 0.0001
X ₁ X ₂	0.12	0.19	0.6736*
X ₁ X ₃	0.08	8.13	0.0136
X ₁ X ₄	0.08	1.49	0.2444*
X ₂ X ₃	0.08	8.88	0.0107
X ₂ X ₄	0.07	1.19	0.2951*
X ₃ X ₄	0.05	59.15	< 0.0001
X ₁ ²	0.18	0.073	0.7910*
X ₂ ²	0.42	0.39	0.5435*
X ₃ ²	0.05	52.12	< 0.0001
X ₄ ²	-0.02	0.17	0.6909*

*P>F değeri 0.05'den büyük olan değerler önerilen modelde önemsiz olduğunu göstermektedir. X₁: Vanilin konsantrasyonu, X₂: Nisin konsantrasyonu, X₃: Sıcaklık, X₄: Süre

*P>F values greater than 0.05 indicate insignificant terms in the proposed model. X₁: Vanillin concentration, X₂: Nisin concentration, X₃: Temperature, X₄: Time

Çizelge 5'te de görüleceği üzere, vanilin konsantrasyonu (X₁), nisin konsantrasyonu (X₂), sıcaklık (X₃) ve sürenin (X₄) lineer, sıcaklığın (X₃²) ikinci dereceden, 'vanilin konsantrasyonu*sıcaklık' interaksyonu (X₁*X₃), 'nisin konsantrasyonu*sıcaklık' interaksyonu (X₂*X₃) ve 'sıcaklık*süre' interaksyonunun (X₃*X₄) model açısından istatistiksel olarak önemli (p<0.05) olduğu saptanmıştır. Buna karşın, 'vanilin konsantrasyonu*nisin konsantrasyonu' interaksyonu (X₁*X₂), 'vanilin konsantrasyonu*süre' interaksyonu (X₁*X₄), 'nisin konsantrasyonu*süre' interaksyonu (X₂*X₄), 'vanilin konsantrasyonu (X₁²), nisin konsantrasyonu (X₂²) ve sürenin (X₄²) ikinci dereceden etkilerinin model açısından istatistiksel olarak önemsiz (p>0.05) olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla yukarıda önerilen kuadratik modele ilişkin eşitlikte önemsiz olan unsurlar çıkartılarak daha basit bir hale dönüştürülmüştür. Bu amaçla backward elimination (α = 0.05) işlemi yapılarak model sadeleştirilmiştir. Sadeleşmiş bu modele ilişkin katsayılar ve bunların önem dereceleri

toplu halde Çizelge 6'da verilmiştir. Bu katsayılar kullanılarak aşağıdaki matematiksel eşitliğe (Eşitlik-2) ulaşılmıştır.

$$Y (\log \text{ indirgeme}) = 128.56 - 3.18X_1 - 3.20 X_2 - 5.18X_3 - 2.20X_4 + 0.08X_1X_3 + 0.08X_2X_3 + 0.05 X_3X_4 + 0.05X_3^2 \text{ (Eşitlik-2)}$$

Önerilen modelin deneysel veriyi ne ölçüde karşıladığı R², R²_{düzeltilmiş}, R²_{tahminlenmiş}, varyasyon katsayısı (VK), tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı (Predicted Residual Error Sum of Squares-PRESS) ve yeterli kesinlik ölçülmüştür. R² tek başına modeli doğruluğunu ortaya koyan bir kriter olmayıp, genel anlamda deneysel verileri açıklayabilme oranını ifade etmektedir. Bu nedenle çoğu zaman modelin doğruluğu için R² değeri ile beraber R²_{düzeltilmiş}, R²_{tahminlenmiş}, varyasyon katsayısı (VK), tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı (Predicted Residual Error Sum of Squares-PRESS) ve yeterli kesinlik değerinin birlikte göz önünde bulundurulması önerilmektedir (Bas ve Boyacı, 2007; Koç, 2010).

Bu bağlamda hem kuadratik hem de indirgenmiş kuadratik modelin tanımlayıcı istatistiksel değerleri Çizelge 7'de verilmiştir. Genellikle önerilen modelin tahminlemelerde kullanılmasında bu tanımlayıcı istatistiksel değerlerin yeterli kesinlik, PRESS ve $R^2_{\text{tahminlenmiş}}$ kriterlerinin dikkate alınması önerilmektedir. Bu kriterlerden yeterli kesinlik değerinin en az 4 ve üstünde olması gerektiği bilinmektedir (Montgomery, 2013). Yeterli kesinlik değeri kuadratik model

için 34.373 iken indirgenmiş kuadratik modelde 47.653 bulunmuştur. Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı (PRESS) değerinin düşük olması istenmekte, bu değer indirgenmiş kuadratik modelde daha düşük olduğu görülmüştür. İyi bir tahminlemede R^2 , $R^2_{\text{düzeltilmiş}}$, $R^2_{\text{tahminlenmiş}}$ değerlerinin yüksek olması istenmektedir. Yine $R^2_{\text{tahminlenmiş}}$ değerinin indirgenmiş kuadratik modelde daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çizelge 6. İndirgenmiş kuadratik modele ilişkin katsayılar ve önem dereceleri
Table 6. Coefficients and significance levels for the reduced-quadratic model

Modeldeki terim <i>Model term</i>	Katsayı (k) <i>Coefficient (k)</i>	F değeri <i>F value</i>	P değeri P>F <i>P value P>F</i>
Model/Model		180.44	< 0.0001
Model uyumsuzluğu/Lack of fit			0.3490*
Intercept	128.56		
X_1	-3.18	34.41	< 0.0001
X_2	-3.20	51.60	< 0.0001
X_3	-5.18	904.25	< 0.0001
X_4	-2.20	201.38	< 0.0001
X_1X_3	0.08	9.37	0.0064
X_2X_3	0.08	10.24	0.0047
X_3X_4	0.05	68.21	< 0.0001
X_3^2	0.05	164.07	< 0.0001

* X_1 : Vanilin konsantrasyonu, X_2 : Nisin konsantrasyonu, X_3 : Sıcaklık, X_4 : Süre

* X_1 : Vanillin concentration, X_2 : Nisin concentration, X_3 : Temperature, X_4 : Time

Çizelge 7. Kuadratik ve indirgenmiş kuadratik modellere ilişkin tanımlayıcı istatistiksel veriler
Table 7. Descriptive statistical data on quadratic and reduced-quadratic models

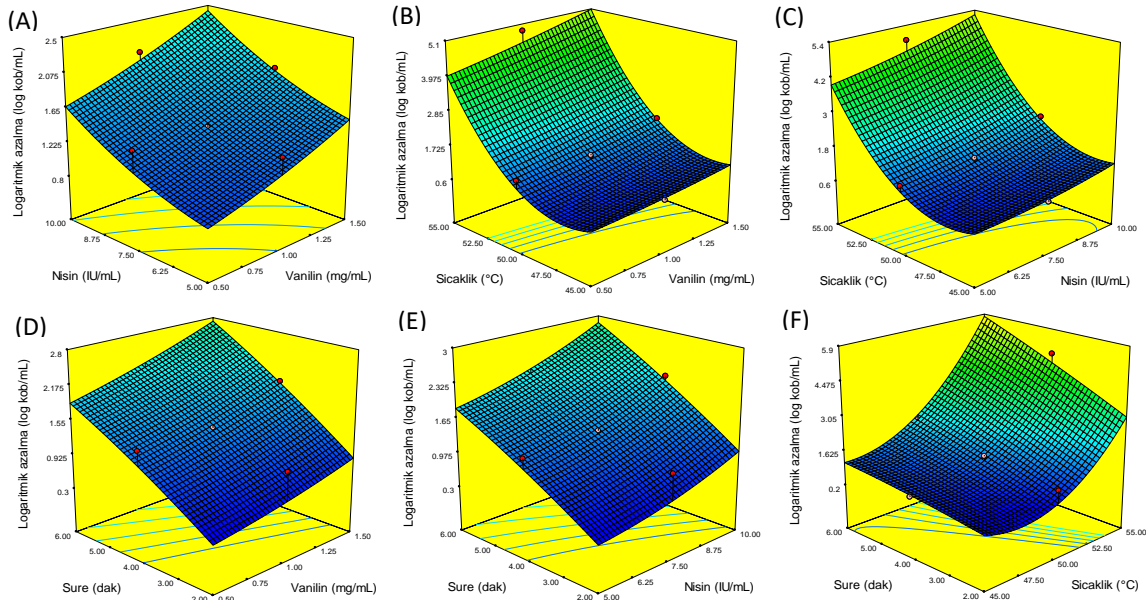
Parametreler <i>Parameters</i>	Kuadratik model <i>Quadratic model</i>	İndirgenmiş kuadratik model <i>Reduced quadratic model</i>
Standart sapma/Standard deviation	0.27	0.25
Ortalama/Mean	2.31	2.31
VK/C.V.%	11.80	10.99
PRESS/PRESS	3.31	2.23
Yeterli kesinlik/Adeq Precision	34.373	47.653
R^2 /R-square	0.9897	0.9870
$R^2_{\text{düzeltilmiş}}$ /Adj R-square	0.9787	0.9815
$R^2_{\text{tahminlenmiş}}$ /Pred R-square	0.9650	0.9764

L. monocytogenes inaktivasyonu üzerine ana bağımsız değişkenlerin (vanilin konsantrasyonu, nisin konsantrasyonu, sıcaklık ve süre) birbirleriyle olan etkileşimleri Şekil 1'de üç boyutlu olarak verilmiştir. Her bir bağımsız değişkenin katsayısının önem derecesi hem kuadratik model için (Çizelge 5) hem de

indirgenmiş kuadratik model için (Çizelge 6) p değerlerine bakılarak değerlendirilmiştir. Göz önünde bulundurulmuş tüm bağımsız değişkenlerin *L. monocytogenes* inaktivasyonu üzerine etkisi olduğu saptanmıştır. Bağımsız değişkenler arasında vanilin konsantrasyonu (X_1), nisin konsantrasyonu (X_2) ve sıcaklık (X_3)

interaksiyonlarının inaktivasyon üzerine en etkili değişkenler olduğu belirlenmiştir. Vanilin ve nisin konsantrasyonunun göz önünde bulundurulduğu yanıt yüzey grafiği incelendiğinde, konsantrasyondaki artışa bağlı olarak *L. monocytogenes* inaktivasyonunun arttığı görülmektedir (Şekil 1A). Vanilin konsantrasyonu*sıcaklık (X_1*X_3) ve nisin konsantrasyonu*sıcaklık (X_2*X_3) arasındaki interaksiyonu gösteren üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri incelendiğinde (Şekil 1B, Şekil 1C) ise, sıcaklık artışının *L. monocytogenes* inaktivasyonunda geometrik bir artışa neden olduğu gözlenmektedir. Bu durum literatürde belirtildiği gibi, sıcaklığın artması ile biyoaktif

bileşiklerin çözünürlüğünün artması ve hücre membranı üzerine etkilerinin artışı ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan araştırmalarda ise, hücre zarı hasar görmüş bakterilerin ısı direncinin azaldığı belirlenmiştir. Uygulanan ılımlı ısı işlem, vanilin ve nisin bakterisit etkisini sinerjistik olarak artırmıştır. Daha önce yapılan araştırmalarda, elde ettiğimiz bulgularla uyumlu şekilde ılımlı ısı uygulamasının vanilin, nisin, karvakrol, D-limonen gibi doğal antimikrobiyel bileşiklerin *L. monocytogenes*'e karşı inhibisyon etkilerini artırdığı belirlenmiştir (Char vd., 2010; Esteban ve Palop, 2011; Mate vd., 2017; Arioli vd., 2019; Aras vd., 2020; Chang vd. 2022).



Şekil 1. *L. monocytogenes* inaktivasyonu üzerine bağımsız değişkenlerin (vanilin konsantrasyonu, nisin konsantrasyonu, sıcaklık ve süre) birbirleriyle olan etkileşimleri

Figure 1. Interactions of the independent variables (vanillin concentration, nisin concentration, temperature and time) on *L. monocytogenes* inactivation

L. monocytogenes inaktivasyonunun optimum koşulları Design Expert programının (7.0.0) 'sayısal optimizasyon' uygulaması kullanılarak belirlenmiştir. Programın bu uygulaması *L. monocytogenes* inhibisyonunu maksimize eden 24 farklı olası optimum koşul olabileceğini önermiştir. Tüm gıda proseslerinde temel prensip, uygulanacak işlem koşulları mikrobiyolojik güvenliği sağlarken, besinsel

öğelerin maksimum seviyede korunduğu sıcaklık ve süre seçimidir. Elde edilen veriler doğrultusunda 1.5 mg/mL vanilin konsantrasyonu, 10 IU/mL nisin konsantrasyonu, 55°C sıcaklık ve 5.77 dakikalık uygulamanın *L. monocytogenes* inaktivasyonu için optimum koşullar olduğu ve bu koşullar ile 7.16 logaritmik azalmanın sağlanabileceği söylenebilir.

L. monocytogenes gibi termal direnci yüksek patojen mikroorganizmalarla kontamine olmuş ürünlerde pastörizasyon için uygulanan sıcaklık-zaman normları gerekli güvenliği sağlamada yeterli olmayabilmektedir. Buna karşın ısıya dirençli mikroorganizma hedef alınarak yoğun ısı işlem uygulanmış ürün, tüketiciye ulaştığında ise taze ürünün duyu ve besinsel kalite özelliklerinde kayıplar meydana gelmektedir. Araştırma bulguları sonucunda, *L. monocytogenes* inaktivasyonu için vanilin ve nisin ilavesinin daha düşük sıcaklıklarda pastörizasyon işleminin etkinliğini artırarak gıdalarda besin ve kalite kayıplarının önüne geçilebilecek etkin bir uygulama olduğu düşünülmektedir.

ÇIKAR İLİŞKİSİ

Yazarın bu makale ile ilgili olarak üçünü şahıslarla ilgili bir çıkar ve çatışma ilişkisi yoktur.

KAYNAKLAR

Abdollahzadeh, E., Rezaei, M., Hosseini, H. (2014). Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*, 35(1):177-183.

Aras, S., Kabir, M.N., Chowdhury, S., Fouladkhah, A.C. (2020). Augmenting the pressure-based pasteurization of *Listeria monocytogenes* by synergism with nisin and mild heat. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(2): 563.

Arioli, S., Montanari, C., Magnani, M., Tabanelli, G., Patrignani, F., Lanciotti, R., Mora, D., Gardini, F. (2019). Modelling of *Listeria monocytogenes* Scott A after a mild heat treatment in the presence of thymol and carvacrol: Effects on culturability and viability. *Journal of Food Engineering*, 240: 72-82.

Bas, D. and Boyaci, I.H. (2007) Modeling and optimization I: Usability of response resurface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78, 836-845.

Bucur, F. I., Grigore-Gurgu, L., Crauwels, P., Riedel, C.U., Nicolay, A.I. (2018). Resistance of *Listeria monocytogenes* to stress conditions

encountered in food and food processing environments. *Frontiers Microbiology*, doi:10.3389/fmicb.2018.02700.

Cava-Roda, R., Taboada-Rodriguez, A., Lopez-Gomez, A., Martinez-Hernandez, G.B., Marin-Iniesta, F. (2021). Synergistic antimicrobial activities of combinations of vanillin and essential oils of cinnamon bark, cinnamon leaves, and cloves. *Foods*, 10(6):1406.

Cava-Roda, R.M., Taboada-Rodríguez, A., Valverde-Franco, M.T., Marín-Iniesta, F. (2012). Antimicrobial activity of vanillin and mixtures with cinnamon and clove essential oils in controlling *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in milk. *Food Bioprocess Technology*, 5:2120–2131.

Chang, Y. Bai, J., Yu, H., Yang, X., Chang, P-S., Nitin, N. (2022). Synergistic inactivation of *Listeria* and *E. coli* using a combination of erythorbyl laurate and mild heating and its application in decontamination of peas as a model fresh produce. *Food Microbiology*, 102.

Char, C., S. Guerrero, and S. M. Alzamora. (2009). Survival of *Listeria innocua* in thermally processed orange juice as affected by vanillin addition. *Food Control*, 20:67–74.

Char, C. D., S. N. Guerrero, and S. M. Alzamora. (2010). Mild thermal process combined with vanillin plus citral to help shorten the inactivation time for *Listeria innocua* in orange juice. *Food Bioprocess Technology*, 3:752–761.

Delaquis, P., K. Stanich, and P. Toivonen. (2005). Effect of pH on the inhibition of *Listeria* spp. by vanillin and vanillic acid. *Journal of Food Protection*, 68:1472–1476.

Disson, O., Moura, A., Lecuit, M. (2021). Making sense of the biodiversity and virulence of *Listeria monocytogenes*. *Trends in Microbiology*, 29(9):811-822.

Esteban, M-D., Palop, A. (2011). Nisin, carvacrol and their combinations against the growth of heat-treated *Listeria monocytogenes* cells. *Food Technology and Biotechnology*, 49(1):89-95.

Ferrario, M, Fenoglio, D., Chantada, A., Guerrero, S. (2020). Hurdle processing of turbid

- fruit juices involving encapsulated citral and vanillin addition and UV-C treatment. *International Journal of Food Microbiology*, 332, 108811.
- Fitzgerald, D. J., M. Stratford, M. J. Gasson, J. Ueckert, A. Bos, and A. Narbad. (2004). Mode of antimicrobial action of vanillin against *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantatum* and *Listeria innocua*. *Journal of Applied Microbiology*, 97:104-113.
- Friedman, M, & Jürgens, H.S. (2000). Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2101-2110.
- Koç, B., Kaymak Ertekin, F. 2010. Yanıt yüzey yöntemi ve gıda işleme uygulamaları. *GIDA*, 35(1), 1-8.
- Li, Q., Zhu, X., Xie, Y., Zhong, Y. (2021). *o*-Vanillin, a promising antifungal agent, inhibits *Aspergillus flavus* by disrupting the integrity of cell walls and cell membranes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105: 5147-5158.
- Mate, J., Peeriago, P.M., Ros-Chumillas, M., Grullon, C., Huertas, J.P., Palop, A. (2017). Fat and fibre interfere with the dramatic effect that nanoemulsified *d*-limonene has on the heat resistance of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 62:270-274.
- Montgomery, D. C. 2013. Design and analysis of experiments. Eighth Edition, John Wiley and Sons, Incorporated, New York, 1-757.
- Olatunde, A., Mohammed, A., Ibrahim, M.A., Tajuddeen, N., Shuaibu, N. (2022). Vanillin: A food additive with multiple biological activities. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*. doi:10.1016/j.ejmcr.2022.100055.
- Orizano-Ponce, E., Char, C., Sepulveda, F., Ortiz-Viedma, J. (2022). Heat sensitization of *Escherichia coli* by the natural antimicrobials vanillin and emulsified citral in blended carrot-orange juice. *Food Microbiology*, 107. doi:10.1016/j.fm.2022.104058.
- Perez-Ramos, A., Madimoussa, D., Coucheney, F., Drider, D. (2021). Current knowledge of the mode of action and immunity mechanisms of LAB-bacteriocins. *Microorganisms*, 9(10). doi: 10.3390/microorganisms9102107.
- Polat Yemiş, G., Pagotto, F., Bach, S., & Delaquis, P. (2011). Effect of vanillin, ethyl vanillin, and vanillic acid on the growth and heat resistance of *Cronobacter* species. *Journal of Food Protection*, 74(12), 2062-2069.
- Polat Yemiş, G., Pagotto, F., Bach, S., & Delaquis, P. (2012). Thermal tolerance and survival of *Cronobacter sakazakii* in powdered infant formula supplemented with vanillin, ethyl vanillin and vanillic acid. *Journal of Food Science*, 77(9), M523-M527.
- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Alakomi, H.L., & Oksman-Caldentey, K.J. (2005). Bioactive berry compounds-novel tools against human pathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67, 8-18.
- Schenk, M., Ferrario, M, Guerrero, S. (2018). Antimicrobial activity of binary and ternary mixtures of vanillin, citral, and potassium sorbate in laboratory media and fruit purées. *Food and Bioprocess Technology*, 11:324-333.
- Takundwa, B.A., Bhagwat, P., Pillai, S., Ijabadeniyi, O.A. (2021). Antimicrobial efficacy of nisin, oregano and ultrasound against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on lettuce. *LWT*, 139, doi:10.1016/j.lwt.2020.110522.
- Yang, J., Chen, Y_Z, Yu-Xuan, W., Tao, L., Zhang, Y-D., Wang, S-R., Zhang, G-C., Zhang, J. (2021). Inhibitory effects and mechanisms of vanillin on gray mold and black rot of cherry tomatoes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 175.



IMPACT OF LOCUST BEAN GUM / XANTHAN GUM ADDITION ON NEW GENERATION SNACK DESIGN FROM CAROB FRUIT BYPRODUCTS

Afranur Donmez, Seher Nur Sahin, Sevil Cikrikci Erunsal*

Department of Food Engineering, Konya Food and Agriculture University, Konya, Turkey

Received / Geliş: 17.03.2022; Accepted / Kabul: 04.07.2022; Published online / Online baskı: 15.08.2022

Donmez, A., Sahin, S.N., Cikrikci-Erunsal, S. (2022). Impact of locust bean gum / xanthan gum addition on new generation snack design from carob fruit byproducts. *GIDA* (2022) 47 (4) 690-704 doi: 10.15237/gida.GD22034

Donmez, A., Sahin, S.N., Cikrikci-Erunsal, S. (2022). Keçiboynuzu gamı / ksantan gamı ilavesinin keçiboynuzu meyvesi yan ürünlerinden elde edilmiş yeni nesil atıştırmalık tasarımına etkisi. *GIDA* (2022) 47 (4) 690-704 doi: 10.15237/gida.GD22034

ABSTRACT

Carob products are good sources of bioactive compound/dietary fiber having beneficial effects on cardiovascular and gastrointestinal diseases. Other energy sources like tahini also improves physicochemical properties of foods. This study demonstrated the possibility for 50% replacement of cocoa powder by carob flour and the effect of Locust Bean Gum (LBG) and Xanthan Gum (XN) on consumer acceptability and physical properties of carob-based snacks. All formulations composed of carob syrup and tahini were combined with LBG and XN at different doses (1% and 2%) or together at equal combinations, as well. As LBG increased hardness up to some extent, XN influenced adhesiveness with a huge increase. Synergistic interaction of XN and LBG showing higher results on physicochemical properties than their single use was mostly observed in fresh samples under room temperature conditions. This study promoted acceptable new generation snack products with carob flour and gum addition after optimizations.

Keywords: Food hydrocolloids, carob fruit, cocoa powder, texture, sensory analysis

KEÇİBOYNUZU GAMI / KSANTAN GAMI İLAVESİNİN KEÇİBOYNUZU MEYVESİ YAN ÜRÜNLERİNDEN ELDE EDİLMİŞ YENİ NESİL ATIŞTIRMALIK TASARIMINA ETKİSİ

ÖZ

Keçiboynuzu ürünleri, kardiyovasküler ve gastrointestinal hastalıklar üzerinde faydalı etkileri olan iyi biyoaktif bileşik/diyet lifi kaynaklarıdır. Tahin gibi diğer enerji kaynakları da gıdaların fizikokimyasal özelliklerini iyileştirmektedir. Bu çalışma, kakao tozunun keçiboynuzu unu ile %50 oranda ikame edilme olasılığını ve keçiboynuzu bazlı atıştırmalıklarda Keçiboynuzu Gamı (LBG) ve Ksantan Gaminin (XN) tüketici kabul edilebilirliğine ve fiziksel özelliklere etkisini incelemiştir. Keçiboynuzu şurubu ve tahinden oluşan tüm formülasyonlara farklı dozlarda (%1 ve %2) veya eşit oranlardaki LBG ve XN gamları ilave edilmiştir LBG sertliği bir dereceye kadar arttırırken, XN gamı yapışkanlığı büyük bir artışla etkilemiştir. Tek başlarına kullanımlarına kıyasla fizikokimyasal analizlerde daha yüksek sonuçlar vererek sinerjistik etkilerini gösteren XN ve LBG, özellikle bu etkilerini oda sıcaklığındaki

* Corresponding Author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: sevil.cikrikci@gidatarim.edu.tr

☎: (+90) 332 223 5333

☎: (+90) 332 223 5390

Afranur Donmez; ORCID no: 0000-0001-6971-451X

Seher Nur Sahin; ORCID no: 0000-0001-8251-8687

Sevil Cikrikci Erunsal; ORCID no: 0000-0002-0459-4657

taze numunelerde göstermişlerdir. Bu çalışma, optimizasyon çalışmaları ile keçiyoynuzu unu ve gam ilavesi yapılan yeni nesil keçiyoynuzu bazlı atıştırılabilir ürünlerin geliştirilebileceğini desteklemiştir.

Anahtar kelimeler: Gıda hidrokolloidleri, keçiyoynuzu meyvesi, kakao tozu, tekstür, duyu analizi

INTRODUCTION

Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) is grown mainly in Mediterranean countries, including Turkey and belongs to the legume family (Zhu *et al.*, 2019). Carob fruit generally includes two main parts as 80–90% pulp and 10–20% seeds by weight, having approximately 50–65% sugars, 1–5% proteins, ~11% dietary fibers, 1–6% minerals and 0.2–0.8% lipids (Tounsi *et al.*, 2017). Carob pulp is rich in natural sugar content (mainly sucrose, glucose and fructose), cellulose, fibers, minerals and phenolic compounds giving healthy benefits such as anti-oxidant, anti-cancer, anti-diabetic and anti-reflux effects and it gives functional property and sensory quality to food products (Zhu *et al.*, 2019). Meanwhile, the seeds are used to produce Locust Bean Gum (LBG) which is very important food additive acting as thickener, stabilizer, gelling agent in food industry such as ice cream, ketchup, mayonnaise, candies, bakery products. LBG is partially soluble at room temperature and the main chain of LBG consists of (1-4) linked beta-D mannose residues. LBG dissolves in water at room temperature to a limited extent, but the solubility of LBG increases as the temperature increases. While LBG (E410) does not show significant gelling properties when used alone, it is generally used together with guar, agar, κ -carrageenan or xanthan, as it has good gelling properties. When the hot solution is cooled together with xanthan and carob bean gums, which do not show gelling properties on their own, they undergo gelation due to the formation of junction areas between the two polymers.

Xanthan gum (XN) is a water-soluble exopolysaccharide consisting of (1-4) linked beta-D glucose units produced by fermentation using *Xanthomonas campestris* as bacteria. Xanthan gum (E 415), which is widely used in the food industry, acts as an emulsifier and stabilizer in products such as chocolate, soft drinks and bakery products. Since it shows pseudoplastic properties, the gummy structure felt in the mouth is lighter and thus improves the texture of the product. For example, it increases the water holding capacity in

bakery products, improves the structure, or acts as a stabilizer in ready-made foods or dairy products, preventing syneresis and providing solution stabilization (Palaniraj and Jayaraman, 2011). When XN is used together with galactomannans such as LBG, they show a synergistic effect and display different rheological properties in the product (Higiro *et al.*, 2006).

Carob molasses (pekmez) or carob syrup as another form which is produced by cold press technique can be consumed as energy and nutrient source for consumers, especially children who need urgent energy requirement. Carob flour (powder) is another sweet byproduct obtained from carob pulp which is grinded into powder as a source of dietary fiber. It is a good alternative to replace cocoa powder due to similar bitter taste and flavor, healthy feature, caffeine and theobromine free composition (Nasar-Abbas *et al.*, 2016). Due to these positive effects and low-cost value, nowadays it has been started to replace cocoa powder up to a point (around 40-50%) without affecting the taste and other properties (Akdeniz *et al.*, 2021). When their compositions are compared, it is seen that carob reduces the addition of processed sugar when used as a cocoa replacement because of its high sugar content. Carob powder has lower fat content (around 0.6%) and higher dietary fiber (up to 40%) as compared to cocoa powder containing 23% fat and between 5 and 33% fiber thereby showing nutritional advantages over cocoa powder (Nasar-Abbas *et al.*, 2016). About 50% of the carob dietary fiber (by weight) is associated with polyphenols which are condensed tannins (proanthocyanidins), gallic acid, catechins, quercetin glycosides, epicatechin gallate and epigallocatechin gallate differentiating from other fiber sources (Nasar-Abbas *et al.*, 2016). Similarly, cocoa powder is antioxidant rich source including polyphenols mainly flavonoids, however compositions of cocoa powder and carob flour could change according to several factors as origin, process conditions (Benković *et al.*, 2018).

Sesame paste, also called as tahini is another natural energy source, lipid and protein rich food (Tounsi *et al.*, 2019). Becoming one of the popular foods in Turkey and other East Asian and Middle Eastern countries, tahini is made from sesame seeds with the help of grinding, dehulling and roasting processes (Alpaslan and Hayta, 2002). Sesame paste/carob molasses blend is widely consumed due to its enriched content. Until last years, this blend had been made by consumers at home but now blend products as spreadable cream could be seen in the markets. Since this blend is a simple oil in water type emulsion, stability and prevention of phase separation becomes important for product quality besides mouthfeel of the product (Alpaslan and Hayta, 2002).

Carob products have been used in so many food applications such as wafer cream with carob pod, rice-based extruded snacks (Arribas *et al.*, 2019), muffin with carob flour (Červenka *et al.*, 2019), high-protein bread with carob flour (Hoehnel *et al.*, 2019), sponge cakes enriched with carob syrup and carob flour (Fidan *et al.*, 2020), carob spread with hazelnut puree as a nutritious snack for children (Aydın and Özdemir, 2017), pasta enriched with carob flour (Biernacka *et al.*, 2017), carob fruit enriched meat (Macho-González *et al.*, 2020). Rheological, sensory, and other quality properties of individual carob molasses or their blend with sesame paste were also analyzed in several past studies (Alpaslan and Hayta, 2002; Sengül *et al.*, 2007; Benkovic *et al.*, 2019). However, they were spreadable products rather than bar type products. Carob based and snack-like bar formulations has not been encountered to understand the addition of different type of gums on final product stability and properties.

Nowadays, “functional or healthy food” has become a crucial criteria for so many consumers since they demand to have a healthy eating habits and to take high nutritional value from food products (Ibrahim *et al.*, 2021). Achieving both excellent organoleptic characteristics and nutritious composition in a single product could be challenging. Dates and honey are among the widely used alternative natural substitutes used in

snack bar production (Ibrahim *et al.*, 2021). Here, carob-based bar formulations were investigated to see the effect of different kind of gum addition on final product properties. For this purpose, carob syrup and carob flour were combined with tahini and enhanced with another carob byproduct which was LBG (locust bean gum) or its replacement with XN (xanthan gum) to obtain an energy bar like product which was alternative to chocolate due to similar taste and appearance. The effects of amount and gum type were assessed by evaluating the sensory, viscosity, moisture, color and texture properties.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Carob syrup and carob flour (0.5% fat) were purchased from local carob manufacturer (Kebal, Mersin, Turkey) and LBG was supplied from Meysut Food Co. Inc. (Mersin, Turkey). XN was obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) to be used as thickening and stabilizing agent. Tahini (Koska, Turkey) with 11.5% fiber, 22% protein, 48.8% fat content and cocoa powder (Altınmarka, Turkey) with 10-12% fat were bought from local markets.

Preparation of Carob Bars

In this study, main ingredient was chosen as carob syrup instead of carob molasses. Since carob syrup is produced by cold press technique, it has a high potential of nutrient value and less HMF formation. For the preparation of samples; cocoa powder and carob flour were used separately or mixed at equal ratios at total 28.8 % (w/w) concentration. Similarly, LBG and XN were added either individually or as a mixture at equal ratio keeping their concentration at 2%. These concentrations were determined according to sensory analyses as mentioned in sensory part. Fig. 1 summarized decision stages for final compositions. Basically, cocoa/carob flour, carob syrup, tahini and given gums were weighed in accordance with the formulations specified in Table 1.

Firstly, water and non-gum substances were mixed in a beaker. In a separate beaker, gum was dissolved in water using a homogenizer (Daihan

Impact of locust bean gum / xanthan gum addition on carob fruit-based snack design

HG-15D, Germany) at 700 rpm for 60 seconds to obtain a homogeneous solution. Then, all ingredients were combined and mixed together. Finally, the prepared samples were shaped by

using aluminum foil with dimensions of 10 x 2 x 2 cm and then packed with nylon locked bags to be stored until analyses.

Table 1 Prepared bar compositions for Sensory I and II tests

a. Trials for optimal replacement concentration of cocoa powder with carob flour							
Sample Code	Cocoa%	Carob flour %	Carob syrup %	Tahini %	Water %	LBG %	XN
841	14.55	14.55	23.30	23.30	23.30	1	-
621	-	29.10	23.30	23.30	23.30	1	-
507	29.10	-	23.30	23.30	23.30	1	-
962	23.30	-	23.30	23.30	29.10	1	-
b. Trials for determining optimal gum concentrations in bar formulations							
205	14.40	14.40	23.10	23.10	23.10	2	-
389	14.55	14.55	23.30	23.30	23.30	0.5	0.5
162	14.40	14.40	23.10	23.10	23.10	1	1
471	14.55	14.55	23.30	23.30	23.30	1	-

LBG: Locust bean gum, XN: Xanthan gum Note: Sample codes were given randomly

Step 1. Sensory I

Aim: to decide cocoa/carob flour ratio

Result: 1:1 ratio keeping concentration at around 28%

Step 2. Sensory II

Aim: to decide gum ratio

Result: 2% of total gum concentration

Step 3. Final Compositions

F1: 1:1 cocoa:carob flour and 2% LBG addition

F2: 1:1 cocoa:carob flour and 2% XN addition

F3: 1:1 cocoa:carob flour and 1% LBG:1%XN addition

F4: cocoa and 2% LBG addition

F5: carob flour and 2% LBG addition

Fig. 1 Decision stages for final bar compositions

Bar samples were produced based on the following designs: the first set as sensory analysis was implemented as Table 1a to choose carob flour / cocoa powder combination and then second set was implemented as given in Table 1b to decide gum concentration in the final formulation conducting another sensory analysis

(they were explained in further sections). The reason for division of sensory evaluation into two parts was to keep number of sensory samples as low as possible. Otherwise, it would be too hard for panelists to compare the samples. Due to the same reason, trial combinations in each analysis were kept at low level and not increased. Finally,

Table 2 was used in all bar preparations to see the effect of each gum type and ratio on final product quality. Five selected combinations for further analyses were named from F1 to F5 as: F1 (cocoa/carob powder blend with 2% LBG), F2

(cocoa/carob powder blend with 2% XN), F3 (cocoa/carob powder blend with 1:1 LBG:XN blend), F4 (cocoa powder with 2% LBG), F5 (carob flour with 2% LBG).

Table 2 Compositions of final carob bar formulations

Formulation	Cocoa powder%	Carob flour %	Carob syrup %	Tahini %	Water %	LBG %	XN %
F1	14.40	14.40	23.05	23.05	23.10	2	-
F2	14.40	14.40	23.05	23.05	23.10	-	2
F3	14.40	14.40	23.05	23.05	23.10	1	1
F4	28.80	-	23.05	23.05	23.10	2	-
F5	-	28.80	23.05	23.05	23.10	2	-

LBG: Locust bean gum, XN: Xanthan gum

Sensory Evaluation

In this study, sensory analysis was conducted in two steps to decide acceptable combinations of different ingredients in the formulation. In the light of previous studies, half portion replacement was chosen for cocoa/carob flour mixture (Brassesco *et al.*, 2021).

All the samples were composed of same basic ingredients: cocoa powder, carob flour, carob syrup, tahini and gum (with/out LBG and XN) with varying proportions. To determine cocoa powder/carob flour addition and gum concentration in the study, sensory tests were evaluated in two steps. First aim was to determine consumer acceptance of cocoa replacement with carob flour. Herein, four different combinations were applied as the first set to find out the most acceptable combination (Table 1a). For this purpose, sensory scores were held on among the following samples: half portion replacement of cocoa powder (sample code of 841), single addition of carob flour (621), single addition of cocoa powder (507), single but less amount of cocoa powder addition (962). The second step was to determine the most acceptable gum concentration and type. Since gums are generally used in the range of 1 and 2% in food recipes (Renou *et al.*, 2013), 1 and 2% of LBG and its half replacement with XN were selected to conduct sensory tests due to their potential synergistic behavior.

Sensory analysis was carried out according to the study of (Özdemir and Gökmen, 2017) with slight modifications. Sensory evaluation was performed by 40 semi-trained panelists (20 women and 20 men) asking them to fill down a questionnaire giving guidelines about how to score them (Supp. Mat 1). Instructions were given to panelists before the test. They were asked to evaluate appearance, color, taste, aroma, texture, after taste and general acceptability using 7-point hedonic scale ranging from “dislike extremely” to “like extremely”. Scores of 4 and above were considered as acceptable for the selection criteria. The samples were prepared at the same day and coded with 3-digit random numbers. As explained before, they were presented in Table 1.

Storage Studies

To see the effect of storage temperature and time on physical and textural properties of bars, they were packed in nylon locked bags and stored at 30 °C and 40 °C for one week duration. At the beginning, the literature was checked for shelf-life assessment of bar including acceleration method, as well. Thus, these temperatures were also chosen according to the literature (Corrigan *et al.*, 2012; Çınar and Aydın, 2020; Singh *et al.*, 2020; Ekafitri *et al.*, 2021). Moisture content measurement was periodically done at predetermined time intervals (day 0, 1, 2, 3, 4 and 7) for five different formulations. Color and textural measurements were then carried out at the beginning (day 0) and at the end of storage time (day 7) duration.

Physical Analyses

Firstly, viscosities of the gum solutions at 1% and 2% concentrations were measured with Sinewave Vibro Viscometer SV-10/SV-100 (A&D Company Limited, Japan) at room temperature. The samples were subjected to vibration by oscillating gold covered two sensor plates at frequency of 30 Hz and an amplitude of less than 1 mm.

Moisture content of the samples were determined by using oven method in triplicate (AOAC, 2016). It was measured at the beginning and after the end of 7 days of storage period at 30 and 40 °C.

Color measurements were conducted using DataColor 110™ Benchtop Spectrophotometer (New Jersey, USA) to obtain L, a, b and total color change (ΔE) values. L, a and b represent lightness, green to red and blue to yellow variation, respectively (Saber *et al.*, 2016). Then, ΔE could be calculated by using the Eqn. (1) below:

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

where L, a and b represent the values belonging to the sample, L^* , a^* , and b^* are the values of reference material (white paper was used as the reference).

Textural Properties

Hardness could be defined as the force required to achieve a given deformation of a product (Rosa *et al.*, 2015). Adhesiveness refers to capability of product to become sticky including combination of cohesive and adhesive forces and indicative for viscosity and viscoelasticity of the sample (Goksel *et al.*, 2013). Hardness and adhesiveness measurements of carob bars were done by using Texture Analyser (Brookfield Engineering Laboratories INC., USA) with TA10 cylindrical probe (12.7 mm D, 35 mm L). The method of Benkovic *et al.* (2019) was modified with pre-experiments in order to compare textural properties of different bar formulations (Benkovic *et al.*, 2019). Each sample (uniform square of 2 x 2 cm) was subjected to 25% compression TPA test with 0.05 N trigger load,

test-speed of 0.5 mm/s and return speed of 0.5 mm/s.

Statistical Analysis

The analyses of variance (ANOVA) were conducted to establish the effect of each variable and Tukey's HSD test was performed for comparison at the 5% significance level ($p < 0.05$). One-way, two-way and generalized linear models were used depending on the number of dependent variables. The analyses were performed in triplicate and standard deviations were calculated.

RESULTS AND DISCUSSION

Sensory Evaluation

Sensory test is one of the substantial studies in foods to understand acceptability of new products.

As given in Fig. 2, the first sensorial analysis was performed to optimize the ratios of carob flour, cocoa powder, carob syrup, tahini and water by using only LBG obtained from carob seeds. In that part, LBG concentration was kept constant and at the lowest level. For this purpose, the formulations with the given percentages in Table 1a were used. Appearance, color, taste, aroma, structural feature, after taste, and general acceptance were evaluated among all panelists. Female panelists gave the highest score to cocoa/carob flour added samples in all criteria except for appearance and color (they were also very close). Male panelists also evaluated samples giving high scores to both to cocoa/carob flour (1:1 ratio) added (sample code: 841) and only carob flour added formulations (sample code: 621). Interestingly, the samples including only cocoa gave the lowest scores. This could be due to the unattractive taste combination between cocoa and carob syrup. Considering overall average results, the use of cocoa/carob flour blend (1:1) was decided for further formulations as the most acceptable ratio regarding to appearance, texture, color and taste. Additionally, there was not a significant difference between individual use of carob flour and its blend use with cocoa powder ($p \leq 0.05$) on consumer preferences. Hence, final compositions for

further analyses were decided including both of them to see their effects on final product properties, as well. Generally, carob flour added bars had similar sensory scores giving higher

results above average but the highest scores were obtained in 2% LBG addition especially in general acceptability



Note: Check Table 1 for sample coding details

Fig. 2 Sensory analysis of carob bar formulations for first step (top) and second step (bottom)

After performing the first sensorial analysis and examining the data, the most suitable formulation (sample code: 841) with cocoa/carob flour blend was tested with varying concentrations of LBG and XN in accordance with the formulations specified in Table 1b. For this purpose, 2% gum blend (1% LBG and 1% XN) was used in formulation of sample 162, 1% gum blend (0.5% LBG and 0.5% XN) was used in the formulation of sample 389, 1% LBG was used in the formulation 471, and 2% LBG was used in the formulation of sample 205. In order to determine final product formulations to be analyzed for further measurements, sensorial analysis was finally performed on these products. Similarly, 20 male and 20 female panelists evaluated them according to independent variables of appearance, color, taste, aroma, structural feature, after taste, and general acceptance. Preferences were changed depending on gender ($p \leq 0.05$). General acceptability scores for sample codes 205, 389, 162 and 471 were found as 5.32, 4.84, 4.95 and 4.58 for female panelists, while for male panelists were found as 4.47, 4.26, 3.87, 4.25, respectively. Thus, 2% concentration of LBG (w/w) and its half replacement with XN was chosen for overall formulations to understand their impacts on quality of products prepared with/out carob flour and cocoa powder. As a result, final experimental design was shaped as given in Table 2 for the rest of the study.

Storage Studies

Moisture analysis

Table 3 shows moisture content of each fresh and stored samples at 30 and 40 °C. As expected, moisture percentage decreased as storage time increased due to water loss. At the beginning during 30 °C storage, sample F2 made by carob/cocoa blend with 2% XN gave significant difference than sample F3 (cocoa/carob flour blend with 2% LBG-XN) ($p \leq 0.05$). The results implied that the use of mixture of two gums could create difference in moisture content of fresh cocoa/carob flour mixed samples giving the highest value. This could support the ability of gum blends to retain water in their structure. Ghebremedhin et al. (2020) states that XN undergoes a conformational change from a rigid

ordered helix structure to disordered shape at higher temperatures. Previous studies show intermolecular bonding between the xanthan in its coil conformation and galactomannans such as LBG so LBG could be trapped in helix structure of XN for gelling process forming junction zones (Ghebremedhin *et al.*, 2020). This gel network might have entrapped higher free water leading higher moisture content in fresh F3 samples. However, this difference was lost during storage at 40 °C. Keeping gum type and concentration as constant, fresh samples with cocoa (F4) gave the higher result than samples with only carob flour or cocoa/carob flour blend. However, it didn't achieve to hold it and the sample lost the highest amount moisture among the samples at 30 °C. As samples were stored at 40 °C, the lowest moisture loss was observed in F5 samples at the end of 7 days. This indicated that the presence of carob flour preserved moisture loss on the contrary to cocoa powder.

Carob flour, as a promising ingredient, could improve water holding capacity and water absorption ability of end product due to its dietary fiber content (Nasar-Abbas *et al.*, 2016). Samples with carob flour (F5) seem to retard moisture loss when compared to cocoa powder (F4) at the end of two storage conditions. These results were in agreement with the explanations given by study (Nasar-Abbas *et al.*, 2016) that carob flour could extend shelf-life acting as humectant. Products with high carob flour in other words with high fiber content have a potential to maintain water due to hydrophilic characteristics (Rosa *et al.*, 2015).

Color analysis

Color results of all samples were displayed in Table 4. Lightness (L) and total color change values (ΔE) of fresh samples did not show significant difference ($p \leq 0.05$). On the other hand, the highest redness (a) was given in sample F5. b values of fresh samples F2 and F5 also differed than others.

Table 3 Moisture analyses of carob bar formulations

a.						
30 °C	Day					
	0	1	2	3	4	7
F1	29.61 ^b ± 0.28	29.29 ^b ± 0.95	29.19 ^b ± 0.55	29.23 ^a ± 0.08	28.02 ^a ± 0.13	27.46 ^{ab} ± 1.33
F2	29.43 ^b ± 0.32	29.90 ^{ab} ± 0.85	29.54 ^{ab} ± 0.69	29.41 ^a ± 0.13	29.64 ^a ± 0.09	27.80 ^{ab} ± 0.80
F3	30.42 ^a ± 0.38	30.27 ^{ab} ± 0.71	30.09 ^{ab} ± 0.30	31.01 ^a ± 0.69	28.84 ^a ± 0.61	28.91 ^a ± 0.26
F4	30.15 ^{ab} ± 0.03	31.23 ^a ± 0.81	31.59 ^a ± 1.63	30.78 ^a ± 1.66	29.26 ^a ± 0.93	25.49 ^b ± 1.02
F5	29.52 ^b ± 0.07	29.64 ^{ab} ± 0.28	29.35 ^{ab} ± 0.44	29.11 ^a ± 0.19	29.48 ^a ± 0.37	28.72 ^a ± 0.79
Lettering should be considered for each day, separately.						
b.						
40 °C	Day					
	0	1	2	3	4	7
F1	29.61 ^b ± 0.28	29.58 ^a ± 0.25	27.91 ^a ± 1.07	26.53 ^a ± 2.86	24.26 ^{ab} ± 0.94	20.18 ^{ab} ± 0.05
F2	29.43 ^b ± 0.32	29.29 ^a ± 0.42	28.38 ^a ± 0.26	27.60 ^a ± 0.47	25.31 ^a ± 0.42 ^a	21.90 ^{ab} ± 0.25
F3	30.42 ^a ± 0.38	30.10 ^a ± 0.64	28.01 ^a ± 0.83	26.62 ^a ± 0.56	21.69 ^c ± 0.55 ^c	16.71 ^b ± 3.15
F4	30.15 ^{ab} ± 0.03	29.79 ^a ± 1.22	29.52 ^a ± 1.04	26.26 ^a ± 0.61	22.63 ^{bc} ± 0.85	20.16 ^{ab} ± 2.32
F5	29.52 ^b ± 0.07	28.76 ^a ± 0.33	28.69 ^a ± 0.58	27.82 ^a ± 0.90	24.67 ^a ± 0.43	22.67 ^a ± 0.56
Lettering should be considered for each day, separately.						

F1 (cocoa/carob powder blend with 2% LBG), F2 (cocoa/carob powder blend with 2% XN), F3 (cocoa/carob powder blend with 1:1 LBG:XN blend), F4 (cocoa powder with 2% LBG), F5 (carob flour with 2% LBG). Lettering was done based on 5 % significant level conducting ANOVA. Lettering should be considered for each storage temperature and each day, separately.

High b values characterize products as strong yellow/gold staining (Rosa *et al.*, 2015). Among fresh samples, the sample with the highest a and b data was the F5 sample prepared using only carob as given in Table 4. In other words, a and b values showed a significant change only for F5 sample (formulated by only carob flour) ($p \leq 0.05$). As a result of storage at 40 °C the L, a and b values of the F5 sample were found to be the highest ($p \leq 0.05$). When storage temperature was analyzed, it was found as a crucial factor on color values of the samples. Color values among the samples were changeable with temperature. Moreover, color values especially L and ΔE differed between samples F4 and F5 at 30 °C. This refers the potential effect of cocoa powder or carob flour on product lightness at definite temperatures. Cocoa powder gave slightly darker color than carob powder used in this study. Opposite to our results, in the study of (Rosa *et al.*, 2015), use of carob flour instead of cocoa powder made the samples darker. It has also been observed that the use of carob flour instead of cocoa darkened the color in this study. According to their results; L value of the sample using 100% cocoa powder was measured as 47.06, while the L value of the sample using 50% cocoa powder and

50% carob flour was measured as 44.29 and the L value of the sample using 100% carob flour was measured as 38.58. However, it also depends on origin, type and alkalization degree of used cocoa or carob powder. Since original color of added cocoa powder was darker than carob flour in this research, the results were good agreement with the expectations. In overall, all the samples could be classified as dark bars due to L values less than 50.

Texture properties

Hardness and adhesiveness values of final formulations were obtained for both fresh and stored samples. They were presented in Fig. 3. In fresh samples, it ranged between 9 and 79 N but the values were not significantly different except for F5 sample. As seen in Fig. 3, the hardest structure as 79.72 N was obtained in sample F5 prepared with carob flour and 2% LBG ($p \leq 0.05$). In general, according to statistical analyses, 30 °C of storage had soft textures whereas fresh samples displayed very high adhesive structures among fresh and stored samples at 30 and 40 °C. Depending on five freshly prepared samples, F5 was differentiated from others in hardness with greatest value. This indicated high impact of

single selection of cocoa powder or carob flour individually in the formulations. Additionally, this revealed that hardness was influenced by type of gum giving higher results in the presence of LBG. However, it did not keep its effect during storage and all of the samples started to give similar values at the end of 7 days of storage. This was not the case for adhesiveness. F2 bar prepared by single XN differed with the greatest adhesiveness value among fresh samples and this behavior proceeded after 7 days of storage time at different temperatures, as well.

The results of (Benkovic *et al.*, 2019) supported higher hardness values which was not favorable property, with the increase of the amount of carob flour. Furthermore, they did not obtain a trend in firmness with the change of temperature. The results could be explained by weakening structure as a result of cocoa interference with other ingredients and disturb the matrix by

softening the texture (Biernacka *et al.*, 2017). At this point, other examples could be found for cocoa and carob flour relation in other food products. For instance, in the study of (Rosa *et al.*, 2015), effect of cocoa replacement with carob flour was examined on gluten free cake formulation. They showed a possibility to prepare cakes from soy and banana flours, using carob flour as a cocoa powder replacer. They developed the softest cakes by cocoa powder addition whereas softness decreased with increasing replacement of cocoa with carob flour (up to 75% replacement). Similarly, our results did not promote individual use of carob flour due to very high firmness instead suggested its replacement with cocoa powder. Lastly, another chocolate study presented increasing hardness of the chocolates by adding higher concentrations of carob flour (Akdeniz *et al.*, 2021).

Table 4 Color analysis results of bar formulations

Fresh				
Formulation	L	a	b	ΔE
F1	22.19 ^a ± 0.13	0.94 ^b ± 0.20	0.34 ^c ± 0.08	71.45 ^a ± 0.12
F2	21.71 ^a ± 0.45	1.28 ^b ± 0.13	0.60 ^a ± 0.45	71.94 ^a ± 0.45
F3	21.95 ^a ± 0.47	1.12 ^b ± 0.18	0.64 ^c ± 0.17	71.70 ^a ± 0.48
F4	22.37 ^a ± 0.29	0.98 ^b ± 0.21	0.49 ^c ± 0.14	71.27 ^a ± 0.29
F5	22.42 ^a ± 0.49	2.05 ^a ± 0.11	1.33 ^b ± 0.22	71.25 ^a ± 0.49

Lettering should be considered for each column, separately.

30 °C Storage				
Formulation	L	a	b	ΔE
F1	21.76 ^a ± 0.41	0.92 ^b ± 0.05	0.47 ^b ± 0.25	71.89 ^b ± 0.40
F2	21.87 ^a ± 0.10	0.92 ^b ± 0.08	0.57 ^b ± 0.22	71.77 ^b ± 0.11
F3	21.02 ^{ab} ± 0.37	1.03 ^b ± 0.02	0.40 ^b ± 0.04	72.62 ^{ab} ± 0.37
F4	19.28 ^b ± 0.45	0.70 ^b ± 0.10	-0.01 ^b ± 0.25	74.36 ^a ± 0.46
F5	21.19 ^a ± 1.13	1.91 ^a ± 0.42	1.26 ^a ± 0.22	72.47 ^b ± 1.14

Lettering should be considered for each column, separately.

40 °C Storage				
Formulation	L	a	b	ΔE
F1	19.04 ^b ± 0.35	1.13 ^a ± 0.03	0.35 ^a ± 0.06	74.62 ^a ± 0.35
F2	20.68 ^{ab} ± 1.17	0.91 ^a ± 0.05	0.26 ^a ± 0.16	72.97 ^{ab} ± 1.17
F3	20.29 ^{ab} ± 0.28	1.15 ^a ± 0.11	0.40 ^a ± 0.22	73.36 ^{ab} ± 0.27
F4	19.56 ^{ab} ± 0.95	0.77 ^a ± 0.11	0.32 ^a ± 0.09	74.08 ^{ab} ± 0.94
F5	21.75 ^a ± 0.55	1.26 ^a ± 0.27	0.80 ^a ± 0.45	71.89 ^b ± 0.55

Lettering should be considered for each column, separately. Storage day was chosen as the last day (at the end of 7 days of storage). Lettering was conducted based on 5 % significant level by ANOVA. Lettering should be considered for each storage temperature and each color parameter, separately.

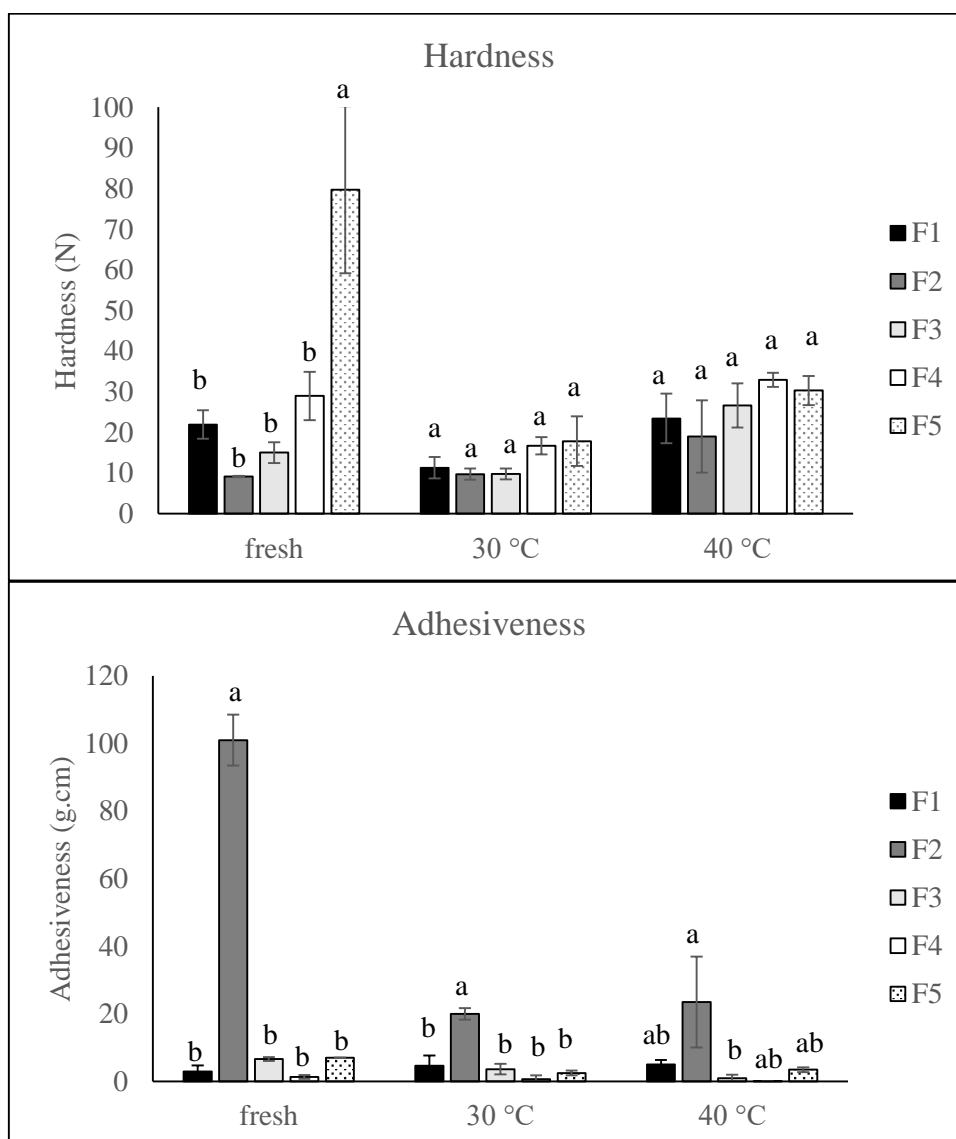


Fig. 3 Texture results of fresh and stored carob bar formulations. F1 (cocoa/carob powder blend with 2% LBG), F2 (cocoa/carob powder blend with 2% XN), F3 (cocoa/carob powder blend with 1:1 LBG:XN blend), F4 (cocoa powder with 2% LBG), F5 (carob flour with 2% LBG). Lettering was conducted based on 5 % significant level. Lettering shows statistically difference of the samples within each storage conditions, separately.

Adhesiveness data showed an increase with the increase of carob flour portion while it gave the lowest results in samples (F4) prepared with single cocoa powder and 2% LBG addition. The use of 2% XN instead of LBG created a crucial increase in adhesiveness emphasizing the importance of gum types. In the study of (Benkovic *et al.*, 2019), it was observed that the consistency and hardness values increased in higher amount of carob flour

added the samples. The reason for this is that the sugar content of carob flour is high and the gelatinization effect increases accordingly.

Gums could act as stabilizers and emulsifiers besides their ability for water absorption, gelatinization and adhesive properties (Rosa *et al.*, 2015). These properties could vary regarding to gum type, concentrations, sample preparation

conditions, etc. LBG as a polysaccharide is mainly composed of galactomannan consisting a linear chain of (1→4)-linked β-D-mannopyranosyl units with (1→6)-linked α-D-galactopyranosyl residues as side chains. The galactomannan molecule displays extended ribbon-like structure at the solid state and a semi flexible coil-like conformation in solution. The galactose to mannose ratio of locust bean gum is approximately 1:3.1–1:3.9 (Barak and Mudgil, 2014). LBG is partially soluble in cold water and it could form a gel in the presence of large amount of sucrose. It also shows a beneficial synergistic increase in gel strength in the presence of other gums such as xanthan gum, kappa-carrageenan etc. up to a point. Thus, gum addition could increase viscosity and could act as thickening agent in food products such as bakery and ice cream products. It also resists to phase separation and increase end product quality (Barak and Mudgil, 2014). Since LBG is a neutral and semi-flexible polymer with low mobility (Ghebremedhin *et al.*, 2020), high hardness values in LBG samples were expected. On the other hand, negative side chains in XN could trigger electrostatic repulsions and showed less resistance to applied force in texture measurements. However, this phenomenon did not still create significant difference between the same group samples.

According to our results, LBG caused less adhesive property as compared to XN. Hence, half replacement of XN with LBG resulted in less adhesive structure as compared to single use of XN. XN made softer texture than LBG addition and their blend again gave intermediate firmness in the same formulation. This referred to add XN gum into formulation if it was aimed to decrease the hardness value. Since xanthan has a double-strand helix conformation in its native state and has a cellulose backbone and trisaccharide side chains with glucuronic acids and a pyruvate group, it influences final softness transforming rigid helix-coil structure into flexible coils (Higiro *et al.*, 2006).

Vibroviscometer results showed that XN exhibited higher viscosity values at 1%

concentration when compared to LBG whereas this difference was not observed at 2% concentration (Table 5). However, their blend at total 2% concentration showed a high increase in viscosity indicating their synergistic behavior.

Table 5 Viscosity values of gum solutions in distilled water

Sample	Viscosity (mPa.s) at 25 °C
1% XN	184 ^d ± 2
1% LBG	89.5 ^e ± 0.7
1% XN:LBG blend	221 ^c ± 8.5
2% XN	231.3 ^{bc} ± 7.1
2% LBG	261.3 ^b ± 27.2
2% XN:LBG blend	433.6 ^a ± 12.1

In particular, when XN and LBG are mixed together, they give a network whose strength vary according to the temperature and weight ratio between the two polymers. For instance, double helix ordered structure is seen at low temperatures while random coil conformation is observed at higher temperatures (> 45 °C) (Sandolo *et al.*, 2010). Gelling, thickening property and synergism could also be affected by other factors such as side chains of polymers, branching degree of galactomannans (higher number of galactose units suppress gelation), molecular weight, etc. In cold conditions, they exhibit synergy due to interaction with each other and higher binding density but this is not the case for high temperatures. In other words, their interaction at high temperatures might not give a significant rheological improvement (Renou *et al.*, 2013). Moreover, their response could be time dependent instead of instantaneously occurrence. Whereas elastic modulus could show an increase with time, viscous modulus could be stable (Renou *et al.*, 2013). Owing to cross-linked polymers in these blends, in the presence of LBG, greater force is required with increasing deformation. The polymer chains are stretched by pulling them apart and firmer network is obtained. It is seen that XN-LBG blends show maximum modulus range referring to maximum synergistic effect around 1:1 blend ratio (Ghebremedhin *et al.*, 2020) and so this was chosen as LBG replacement ratio. Viscoelastic

properties of LBG, XN and 1:1 blend support texture results. LBG is stated as viscous, on the other hand XN is reported as more elastic polymer in the literature (Higiro *et al.*, 2006). In other words, LBG has poor viscoelastic properties than XN and this might have led to higher firm and less adhesive structure in F1 sample than others.

CONCLUSION

The findings demonstrated that it was possible to develop new-generation snack food with carob flour replacing half portion with cocoa powder and enhancing structure with food hydrocolloids to increase acceptability and high quality in final product. Sensory analyses showed that addition of gum with high concentration (2%) was acceptable regarding to taste, flavor, aroma, texture and general preference. Texture analyses emerged the importance of gum type and combination of cocoa/carob powder in the formulation. The presence of XN created softness and very high adhesiveness in products, whereas LBG led firm but less adhesive texture. Regarding to cocoa and carob powder, they also caused differences in product properties due to their unique compositions. Due to its nature color, starch and fiber content, bars formulated with carob flour were associated with similar color when compared to cocoa powder but total color change differed during warm temperature storage most probably due to browning reactions. Intermediate texture values were obtained in the combination of cocoa powder and carob flour and also in XN:LBG blend. Thus, it could be recommended that carob and tahini based snack bar formulations could be developed combining gums and cocoa/carob flour.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors would like to thank Assoc. Prof. Mecit Halil Oztop and Middle East Technical University (METU) Food Engineering Department for the use of texture facility. They also thank to Konya Sugar Factory for their help during ingredient supply.

CONFLICT OF INTEREST: Authors declare no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS: Authors AD and SNS conducted experiments with equal contributions under supervision of SCE. SCE wrote, reviewed and edited whole of the manuscript.

REFERENCES

- Akdeniz, E., Yakışık, E., Rasouli Pirouzian, H., Akkın, S., Turan, B., Tipigil, E., Toker, O.S. Ozcan, O. (2021). Carob powder as cocoa substitute in milk and dark compound chocolate formulation. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 4558–4566.
- Alpaslan, M. Hayta, M. (2002). Rheological and sensory properties of pekmez (grape molasses)/tahin (sesame paste) blends. *Journal of Food Engineering*, 54, 89–93.
- AOAC. (2016). The Association of Official Analytical Chemists International. *Official Methods of Analysis*.
- Arribas, C., Cabellos, B., Cuadrado, C., Guillamón, E. Pedrosa, M.M. (2019). The effect of extrusion on the bioactive compounds and antioxidant capacity of novel gluten-free expanded products based on carob fruit, pea and rice blends. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 52, 100–107.
- Aydın, S. Özdemir, Y. (2017). Development and characterization of carob flour based functional spread for increasing use as nutritious snack for children. *Journal of Food Quality*.
- Barak, S. Mudgil, D. (2014). Locust bean gum: Processing, properties and food applications-A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 66, 74–80.
- Benkovic, M., Bosiljkov, T., Semic, A., Ježek, D. Srećec, S. (2019). Influence of carob flour and carob bean gum on rheological properties of cocoa and carob pastry fillings. *Foods*, 8, 66.
- Benković, M., Radić, K., Vitali Čepo, D., Jaškūnas, E., Janutis, L., Morkunaite, M. Srećec, S. (2018). Production of cocoa and carob-based drink powders by foam mat drying. *Journal of Food Process Engineering*, 41, e12825.

- Biernacka, B., Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Różyło, R., Siastala, M. (2017). Physical, sensorial, and antioxidant properties of common wheat pasta enriched with carob fiber. *LWT - Food Science and Technology*, 77, 186–192.
- Brassesco, M.E., Brandão, T.R.S., Silva, C.L.M. Pintado, M. (2021). Carob bean (*Ceratonia siliqua* L.): A new perspective for functional food. *Trends in Food Science and Technology*, 114, 310–322.
- Červenka, L., Frühbauerová, M. Velichová, H. (2019). Functional properties of muffin as affected by substituting wheat flour with carob powder. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 13, 212–217.
- Çınar, İ. Aydın, R. (2020). Gıdalarda hızlandırılmış raf ömrü testleri. *Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi - C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji*, 9, 109–124.
- Corrigan, V., Hedderley, D. Harvey, W. (2012). Modeling the shelf life of fruit-filled snack bars using survival analysis and sensory profiling techniques. *Journal of Sensory Studies*, 27, 403–416.
- Ekafitri, R., Kurniawan, Y.R., Desnilasari, D., Surahman, D.N. Indriati, A. (2021). Shelf-life assessment of energy banana bar using acceleration method with critical moisture content approach. *Food Science and Technology (Brazil)*, 41, 163–168.
- Fidan, H., Petkova, N., Sapundzhieva, T., Baeva, M., Goranova, Z., Slavov, A. Krastev, L. (2020). Carob syrup and carob flour (*Ceratonia Siliqua* L.) as functional ingredients in sponge cakes. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 12, 71–82.
- Ghebremedhin, M., Schreiber, C., Zielbauer, B., Dietz, N. Vilgis, T.A. (2020). Interaction of xanthan gums with galacto- and glucomannans. Part II: Heat induced synergistic gelation mechanism and their interaction with salt. *JPhys Materials*, 3, 034014.
- Goksel, M., Dogan, M., Toker, O.S., Ozgen, S., Sarioglu, K. Oral, R.A. (2013). The effect of starch concentration and temperature on grape molasses: rheological and textural properties. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 259–271.
- Higiro, J., Herald, T.J. Alavi, S. (2006). Rheological study of xanthan and locust bean gum interaction in dilute solution. *Food Research International*, 39, 165–175.
- Hoehnel, A., Axel, C., Bez, J., Arendt, E.K. Zannini, E. (2019). Comparative analysis of plant-based high-protein ingredients and their impact on quality of high-protein bread. *Journal of Cereal Science*, 89, 102816.
- Ibrahim, S.A., Fidan, H., Aljaloud, S.O., Stankov, S. Ivanov, G. (2021). Application of date (*Phoenix dactylifera* l.) fruit in the composition of a novel snack bar. *Foods*, 10, 918.
- Macho-González, A., López-Oliva, M.E., Merino, J.J., García-Fernández, R.A., Garcimartín, A., Redondo-Castillejo, R., Bastida, S., Sánchez-Muniz, F.J. Benedí, J. (2020). Carob fruit extract-enriched meat improves pancreatic beta-cell dysfunction, hepatic insulin signaling and lipogenesis in late-stage type 2 diabetes mellitus model. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 84, 108461.
- Nasar-Abbas, S.M., e-Huma, Z., Vu, T.H., Khan, M.K., Esbenshade, H. Jayasena, V. (2016). Carob kibble: A bioactive-rich food ingredient. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 63–72.
- Özdemir, K.S. Gökmen, V. (2017). Extending the shelf-life of pomegranate arils with chitosan-ascorbic acid coating. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 172–180.
- Palaniraj, A. Jayaraman, V. (2011). Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. *Journal of Food Engineering*, 106, 1–12.
- Renou, F., Petibon, O., Malhiac, C. Grisel, M. (2013). Effect of xanthan structure on its interaction with locust bean gum: Toward prediction of rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 32, 331–340.
- Rosa, C.S., Tessele, K., Prestes, R.C., Silveira, M. Franco, F. (2015). Effect of substituting of cocoa powder for carob flour in cakes made with soy and banana flours. *International Food Research Journal*, 22, 2111–2118.

- Saberi, B., Thakur, R., Vuong, Q. V., Chockchaisawasdee, S., Golding, J.B., Scarlett, C.J., Stathopoulos, C.E. (2016). Optimization of physical and optical properties of biodegradable edible films based on pea starch and guar gum. *Industrial Crops and Products*, 86, 342–352.
- Sandolo, C., Bulone, D., Mangione, M.R., Margheritelli, S., Meo, C. Di, Alhaique, F., Matricardi, P. Coviello, T. (2010). Synergistic interaction of locust bean gum and xanthan investigated by rheology and light scattering. *Carbohydrate Polymers*, 82, 733–741.
- Sengül, M., Ertugay, M.F., Sengül, M. Yüksel, Y. (2007). Rheological characteristics of carob pekmez. *International Journal of Food Properties*, 10, 39–46.
- Singh, J., Sharma, B., Madaan, M., Sharma, P., Kaur, T., Kaur, N., Bhamra, I.K., Kaur, S. Rasane, P. (2020). Chia seed-based nutri bar: Optimization, analysis and shelf life. *Current Science*. 118, 1394-1400.
- Tounsi, L., Karra, S., Kechaou, H. Kechaou, N. (2017). Processing, physico-chemical and functional properties of carob molasses and powders. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11, 1440–1448.
- Tounsi, L., Kchaou, H., Chaker, F., Bredai, S. Kechaou, N. (2019). Effect of adding carob molasses on physical and nutritional quality parameters of sesame paste. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 1502–1509.
- Zhu, B.J., Zayed, M.Z., Zhu, H.X., Zhao, J. Li, S.P. (2019). Functional polysaccharides of carob fruit : a review. *Chinese Medicine*, 1–10.

Supp. Mat. 1 Sensory evaluation score procedure

Basic Sensory Properties	Score	Definition of graded property
Appearance	7	Smooth, glossy surface, homogeneous, perfect color distribution
	1	Completely rough, matte surface, homogeneous and smooth non color
Color	7	Ideal brightness and homogeneous color distribution
	1	Unwanted, dull color
Taste	7	Unique flavor and sweetness
	1	Unacceptably annoying stranger flavor, spoiled taste
Aroma	7	Unique, aromatic (cocoa, hazelnut, milk, etc.); strong aroma
	1	Foreign odor; sour; bad
Texture	7	Soft structure that melts homogeneously in the mouth; spreadable
	1	Very sandy; stickiness
After taste	7	Distinctive positive taste and sweetness in the mouth afterwards
	1	Unacceptably, irritating foreign taste in the mouth, spoiled taste
General acceptability	7	Very good
	6	Medium good
	5	Less well
	4	Middle
	3	Little bad
	2	Middle bad
	1	Very bad



**EVALUATION OF PHYSICOCHEMICAL AND SENSORIAL PROPERTIES IN
RECONSTITUTED AYRAN DRINKS FROM YOGURT POWDERS
LYOPHILIZED UNDER DIFFERENT VACUUM PRESSURES**

Hale İnci ÖZTÜRK*

Department of Food Engineering, Konya Food and Agriculture University, Konya, Türkiye

Received / Geliş: 13.05.2022; Accepted / Kabul: 18.07.2022; Published online / Online baskı: 15.08.2022

Öztürk, H.İ. (2022). *Evaluation of physicochemical and sensorial properties in reconstituted ayran drinks from yogurt powders lyophilized under different vacuum pressures. GIDA (2022) 47 (4) 705-715 doi: 10.15237/gida.GD22049*

Öztürk, H.İ. (2022). Farklı vakum basınçlarında liyofilize edilen yoğurt tozlarından rekonstitüye edilmiş ayranlarda fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerin değerlendirilmesi. *GIDA (2022) 47 (4) 705-715 doi: 10.15237/gida.GD22049*

ABSTRACT

To extend the shelf life of yogurt and to use it in different formulations, a drying process is performed. Among the drying processes, lyophilization comes to the forefront in terms of preserving the properties of dried products at a high level. In this study, the effect of different lyophilization pressures (0.5 and 1.0 mbar) on the physicochemical properties of reconstituted ayran samples (0.5A and 1.0A) was investigated during 28 days of cold storage. Besides, sensory analyses of the reconstituted ayran samples were also performed. The outcomes were compared with the ayran produced directly (control). According to the results, serum separation increased more in reconstituted samples, however, syneresis declined with decreasing lyophilization pressure. The highest viscosity was determined in the control sample (6.97 mPa.s), followed by 0.5A (5.56 mPa.s) and 1.0A (4.66 mPa.s), respectively. Consequently, the increased lyophilization pressure negatively affected the physicochemical and sensorial properties of reconstituted ayran.

Keywords: Reconstituted ayran, syneresis, viscosity, lyophilization pressure, powdered yogurt

**FARKLI VAKUM BASINÇLARINDA LİYOFİLİZE EDİLEN YOĞURT
TOZLARINDAN REKONSTITÜYE EDİLMİŞ AYRANLARDA
FİZİKOKİMYASAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

ÖZ

Yoğurdun raf ömrünü uzatmak ve farklı formülasyonlarda kullanmak amacıyla kurutma işlemi gerçekleştirilmektedir. Kurutma işlemleri arasında liyofilizasyon, kurutulan ürünlerin özelliklerinin yüksek düzeyde korunması açısından ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada, farklı liyofilizasyon basınçlarının (0.5 ve 1.0 mbar) rekonstitüye edilmiş ayran numunelerinin (0.5A ve 1.0A) fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkisi 28 günlük soğuk depolama süresince incelenmiştir. Ayrıca, rekonstitüye ayran örneklerinin duyuşal analizleri de yapılmıştır. Analiz bulguları doğrudan üretilen ayran (kontrol) ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, rekonstitüye edilmiş örneklerde serum ayrılması daha fazla artmıştır, ancak, azalan liyofilizasyon basıncı ile sineresiz azalmıştır. En yüksek viskozite kontrol numunesinde (6.97 mPa.s) belirlenmiş olup, bunu sırasıyla 0.5A (5.56 mPa.s) ve 1.0A (4.66 mPa.s) takip etmiştir. Sonuç olarak, artan liyofilizasyon basıncı, rekonstitüye edilmiş ayranın fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkilemiştir.

Anahtar kelimeler: Rekonstitüye ayran, sineresiz, viskozite, liyofilizasyon basıncı, toz yoğurt

* *Corresponding Author / Yazışmalardan sorumlu yazar*

✉: inci.ozturk@gidatarim.edu.tr

☎: (+90) 534 460 1766

☎: (+90) 332 223 5490

Hale İnci Öztürk; ORCID no: 0000-0001-8334-0403

INTRODUCTION

Ayran is a traditional drinkable fermented milk product produced by mixing yogurt with water and salt or by adding yogurt cultures to standardized milk (Altay et al., 2013). Ayran is produced traditionally in Turkey by diluting yogurt with 30-50% water and adding about 1% salt (Koçak and Avsar, 2009). The chemical composition of ayran is directly associated with the type of milk used, the dilution rate, and the desired fat content (whole fat, semi-skimmed, or skimmed) (Kabak and Dobson, 2011). It is widely consumed in Turkey due to its nutritional value, health benefits, and desirable aroma and taste (Sarhir et al., 2019). Ayran, which is rich in calcium and vitamins, is a valuable and easily digestible beverage (Aladeboyeje and Sanli, 2021). Besides that, it has been reported to have anticarcinogenic (especially against colorectal cancer), antioxidant, and immunomodulatory properties (Grishina et al., 2011).

The primary texture defects observed in ayran and yogurt are serum separation and low viscosity (Altay et al., 2013). During the storage of these products, optimum viscosity and no serum separation are quality criteria requested by consumers for a pleasant mouthfeel (Ozdemir and Kilic, 2004). Serum separation occurs as a result of the precipitation of casein micelles by forming aggregate. In this regard, Köksoy and Kılıç (2003) have asserted that increasing water and salt levels in the composition of ayran enhance serum separation. Moreover, Gursoy et al. (2016) have reported that developing acidity throughout the storage of ayran triggers whey separation.

In the powder form of fermented milk products, it is aimed to produce a product with a long shelf life that can be used at any time and that does not need cold storage due to reduced enzymatic and microbial activities as a result of the decrease in moisture content (Routray and Mishra, 2012). Moreover, the drying process reduces product volume, thereby decreasing packaging, storage, and transportation costs (Song and Aryana, 2014). For these reasons, food manufacturers and consumers tend towards powdered foods.

Yogurt powder is used in a wide variety of food products as a nutritional supplement, texture enhancer, and flavor improver (Koç et al., 2010; Song and Aryana, 2014). Another advantage is that yogurt powder can be used by diluting it at the desired rate in the production of ayran, which has a very short shelf life (15-30 days) (Köksoy and Kılıç, 2003; Soysona Ar and Ocak, 2022).

Among the various food drying methods; the freeze-drying is the most preferred one, as it overcomes unwanted Maillard reactions during the drying process, offers a product with better rehydration capability, protects flavor components at the highest level, provides better sensorial characteristics, and preserves bacterial viability at the highest rate in fermented products (Kumar and Mishra, 2004; Santos et al., 2018a). The freeze-drying, also known as the lyophilization, involves subjecting the product frozen at very low temperatures to low pressure provided by vacuum and removing the frozen water in the product by sublimation (Santos et al., 2018b). Sublimation in the lyophilization process is accomplished as a result of lowering the ambient temperature by keeping the pressure below the triple point of water (Doran, 2013). In this process, the vacuum pump has been stated to cause the most energy consumption (Kovaci et al., 2021). Accordingly, the selection of high vacuum pressures in the lyophilization process can boost electricity consumption.

A previous study on the production of reconstituted ayran from yogurt powders produced by conventional drying and freeze-drying was conducted by Soysona Ar and Ocak (2022). According to the results of their research, the reconstituted ayran produced from lyophilized yogurt powder showed superiority in its quality compared to that produced from conventionally dried. However, no study examining the effect of different vacuum pressures on the final properties of ayran has been found in the literature. From this point of view, this study was carried out to determine the effect of lyophilization pressure on the quality characteristics of reconstituted ayran. For this purpose, the physicochemical properties of ayran

samples reconstituted from yogurts dried at 0.5 and 1.0 mbar absolute pressures were examined during 28 days of cold storage. In addition, the sensory properties of the reconstituted ayran samples were also investigated. The findings were compared with ayran samples produced by diluting yogurt, which is one of the industrial methods.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Yogurt cultures (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*) were provided from the natural isolate collection of Panagro Meat and Milk Integrated Facilities (Konya, Turkey). Pasteurized and standardized yogurt milk to 14% total dry matter content was also supplied from this company.

Yogurt making

Yogurt production was carried out according to the procedure mentioned by Öztürk (2022). Yogurt milk was inoculated with 2% of bacterial cultures (1:1, *S. thermophilus*: *L. bulgaricus*) activated in a commercial TW60 medium based on whey (Danisco, Niebüll, Germany) and incubated at 43 °C. The incubation was terminated when the acidity reached pH 4.6. Following this, the yogurts were stored at 4 °C and then used in the production of lyophilized yogurt powders. The yogurts used in the control ayran samples were produced one day before the ayran production.

Lyophilization conditions and production of yogurt powders

The method defined by Öztürk (2022) was used in the production of lyophilized yogurt powders. The yogurts, which were kept at -80 °C for a day to solidify, were placed in a freeze-dryer (Lyovapor™ L-200, Buchi, Italy) and dried separately for 1 day at vacuum pressures of 0.5 and 1.0 mbar. The dried samples were powdered with the help of a spatula and transferred to sterile plastic closed containers. Prepared powder samples were stored at room temperature.

Electricity consumption

The socket plug wattmeter (TT-technic, 16A 3680W, China) was used to determine electrical consumption of the lyophilizer at different

vacuum pressures. The results were recorded as energy consumption (kWh) and used electrical current (A).

Experimental samples

Experimental production of ayran samples is presented in Figure 1. To produce the control ayran, the dry matter ratio of the prepared yogurt samples was adjusted to approximately 8% by adding water and salt. After adding water and salt, ayran samples were mixed homogeneously for 2 min at 10000 rpm by using Ultra Turrax T25 mixer (IKA, Staufen, Germany) and transferred into 200 mL sealed sterile plastic containers. The proximate composition of the control ayran samples has been found to consist of $7.75 \pm 0.10\%$ total dry matter, $1.85 \pm 0.07\%$ fat, and $0.72 \pm 0.00\%$ salt. For reconstituted ayran samples, yogurt powders were formulated to have total dry matter and salt contents similar to those of control ayran. To that end, after adding salt and water to the yogurt powders, respectively, they were homogenized for 2 min at 10000 rpm by using the Ultra Turrax T25 mixer. The prepared reconstituted ayran samples were also transferred into 200 mL sterile sealed plastic containers. All ayran samples were produced in two replicates. The prepared samples were kept in refrigerated conditions for 28 days. Ayran samples were referred to as follows: control, 0.5A, and 1.0A for produced conventionally, produced from yogurt powder dried with 0.5 mbar, and produced from yogurt powder dried with 1.0 mbar, respectively.

Titrateable acidity (%lactic acid) and pH values

Titrateable acidity of ayran samples was figured out by titration with 0.1 N NaOH and expressed as percentage of lactic acid as described by Simsek et al. (2007). As for the pH value of the samples, it was directly measured with a calibrated pH-meter (Starter 3100 model, Ohaus).

Serum separation

For this analysis, ayran samples were stored in 50 mL graduated cylinders at 4 °C for 28 days. Serum separation was calculated by the volumetric proportioning of the whey separated at the top and the results were provided as a percentage (%) (Köksoy and Kılıç, 2003).

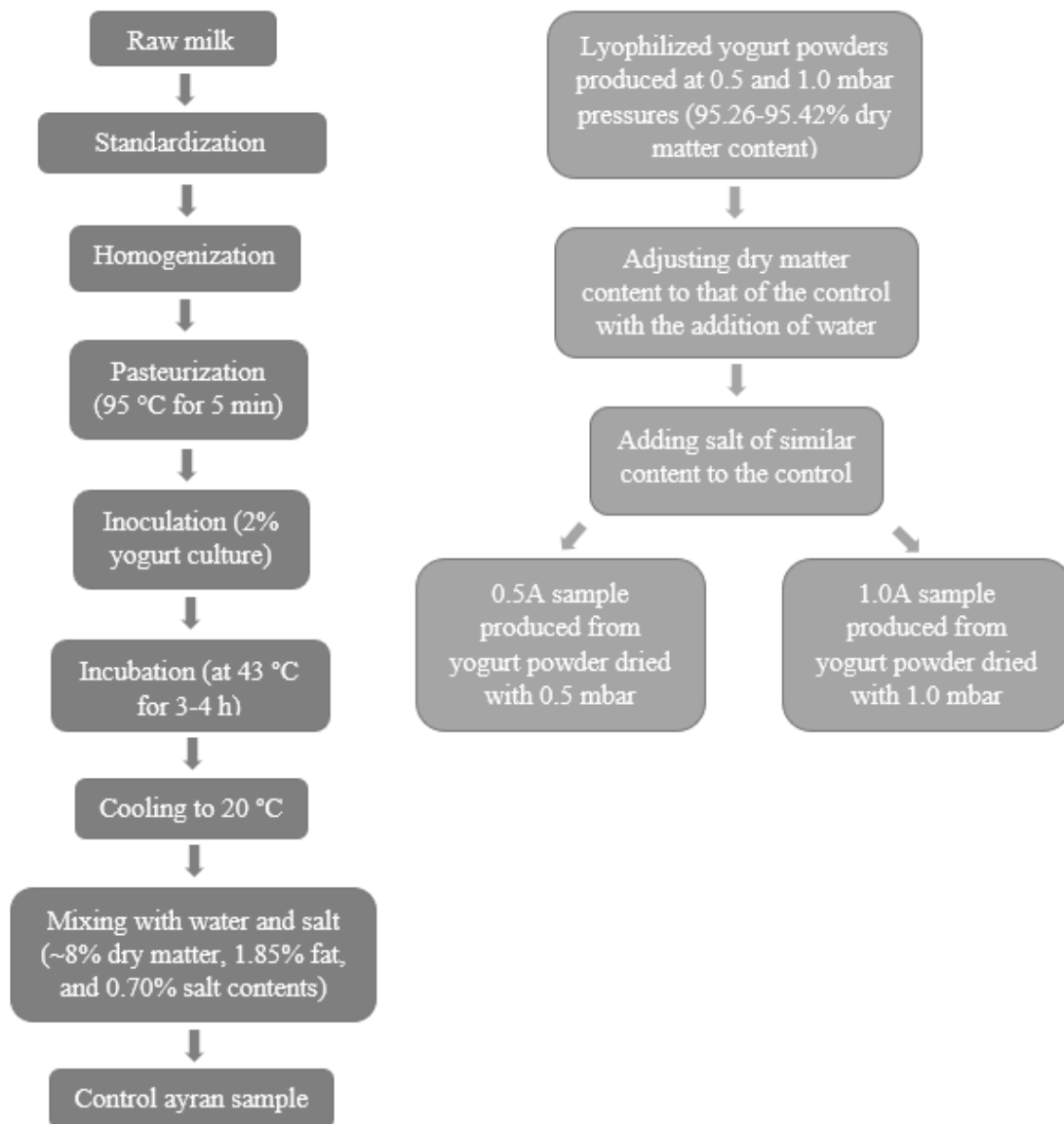


Figure 1. Experimental production schemes of ayran samples.

Viscosity measurements

Viscosity values of ayran samples were determined at 4 ± 1 °C using a viscometer (Sine-wave Vibro Viscometer SV-10/Japan), which records the electric current required to resonate two sensor plates at a fixed frequency (Celik and Temiz, 2020). The obtaining data over the storage time were expressed in millipascal second (mPa.s).

Sensorial assessment

Sensory analyzes of the samples were performed on the 14th day of the cold storage time by a panel

of eleven members, who were familiar with ayran. Samples were evaluated in terms of the following parameters: appearance, color, odor, structure, and taste. Panelists scored the samples with a hedonic scale from 1 to 5 describing dislike very much to like very much, respectively (Soysona Ar and Ocak, 2022).

Statistical evaluation

The resulting data were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) in Minitab software version 17 (State College, USA). All data

are given as the mean \pm standard deviation of two replicates. The mean of the results was compared with the Tukey test at a 95% confidence interval to identify significant differences between the ayran samples and different storage days. Additionally, the two-sample independent t-test was performed to compare the effects of different pressure treatments on electricity usage in the lyophilization process.

RESULTS AND DISCUSSION

Energy consumption in the lyophilization process is higher compared to other drying systems since it is carried out for longer times under very low pressures (Kovaci et al., 2021). Among the equipment of freeze-dryer, the vacuum pump has been reported to be the greatest individual energy consumer (Kešelj et al., 2017). The energy consumptions were 0.827 and 0.822 kWh, and the used current values were 4.450 and 4.392 A for

0.5 and 1.0 mbar pressure applications, respectively. However, the amount of consumed energy and the used current values were not statistically different for 0.5 and 1.0 mbar vacuum pressure applications ($P > 0.05$).

The mean dry matter value of the control ayran samples was determined as 7.75% whilst the dry matter values of the samples produced by rehydration were found to be between 7.70-7.85%. From a microbiological point of view, in our previous study, it was determined that the 0.5 and 1.0 mbar pressures used for drying of yogurts decreased the number of *L. bulgaricus* by 7.76% and 6.94%, respectively, and there was no statistical difference between these reductions depending on the pressure (Öztürk, 2022). Besides, in the aforementioned study, the number of *S. thermophilus* decreased by 5.17% and 6.86% for 0.5 and 1.0 mbar pressures, respectively.

Table 1. pH values of ayran samples during refrigerated storage

Samples *	Storage days				
	0	7	14	21	28
Control	4.07 \pm 0.04 ^B	4.07 \pm 0.05 ^B	4.13 \pm 0.01 ^B	4.07 \pm 0.05 ^B	4.14 \pm 0.01 ^B
0.5A	4.38 \pm 0.04 ^A	4.34 \pm 0.03 ^A	4.41 \pm 0.04 ^A	4.30 \pm 0.04 ^A	4.32 \pm 0.02 ^A
1.0A	4.40 \pm 0.01 ^A	4.35 \pm 0.01 ^A	4.42 \pm 0.04 ^A	4.34 \pm 0.01 ^A	4.36 \pm 0.02 ^A

* 0.5A and 1.0A denote reconstituted ayran samples from yogurt powders produced using 0.5 and 1.0 mbar, respectively.

Values are expressed as mean \pm standard deviation (n=2).

Significant differences were determined with the Tukey test at the $P \leq 0.05$ confidence interval.

The means indicated by different capital letters in the same column present differences between the samples.

Commercially produced ayran has a shelf life of 15 days to one month at refrigerated storage (Baruzzi et al., 2016; Köksoy and Kılıç, 2003). Considering this situation and other literature studies (Baruzzi et al., 2016; Çelekli et al., 2019; Uzay et al., 2021), ayran samples examined in this study were analyzed weekly throughout the 28 days of cold storage time. During the storage time, the pH values of the samples were between 4.07 and 4.42 (Table 1). The pH change during the storage time was insignificant for all samples ($P > 0.05$). Soysona Ar and Ocak (2022) found the pH values between 4.40-4.48 in ayran samples rehydrated from lyophilized yogurt powder, which is in accord with the pH findings (4.30-4.42) detected for the reconstituted ayran samples

in this study. The pH values of the control sample were lower than those of the reconstituted samples throughout the whole cold storage days ($P \leq 0.05$). It has been reported that the pH values of fermented products are related to their load of acid-producing microorganisms (Erkaya et al., 2015). Accordingly, the pH values may have been higher in the reconstituted ayran samples due to the decrease in the number of yogurt bacteria by lyophilization. However, no effect of different pressure applications on pH value was observed ($P > 0.05$). Moreover, although slight decreases were observed in pH values during the cold storage time, these changes were not found to be statistically significant ($P > 0.05$).

Titrateable acidity values of ayran samples were between 0.47-0.55% lactic acid as shown in Table 2. Different pressure treatments resulted in similar %lactic acid contents of reconstituted samples during the storage time ($P >0.05$). Consistent with the change in pH values, the % lactic acid content of the control sample was found to be higher than the reconstituted samples ($P \leq 0.05$) and the titrateable acidity of all samples

remained stable during storage ($P >0.05$). The obtaining data on titrateable acidity revealed the superiority of reconstituted ayran production. Because acidity is among the important factors affecting the quality and stability of ayran during storage (Erkaya et al., 2015). The improved acidity has been reported to increase serum separation, which is one of the physical quality defects in ayran (Gursoy et al., 2016).

Table 2. Titrateable acidity (%lactic acid) values of ayran samples during refrigerated storage

Samples *	Storage days				
	0	7	14	21	28
Control	0.52±0.02 ^A	0.51±0.03 ^A	0.54±0.05 ^A	0.52±0.02 ^A	0.55±0.04 ^A
0.5A	0.50±0.01 ^{AB}	0.49±0.01 ^A	0.49±0.04 ^A	0.50±0.02 ^A	0.50±0.04 ^A
1.0A	0.47±0.02 ^B	0.48±0.01 ^A	0.51±0.03 ^A	0.48±0.01 ^A	0.50±0.02 ^A

* 0.5A and 1.0A denote reconstituted ayran samples from yogurt powders produced using 0.5 and 1.0 mbar, respectively.

Values are expressed as mean ± standard deviation (n=2).

Significant differences were determined with the Tukey test at the $P \leq 0.05$ confidence interval.

The means indicated by different capital letters in the same column present differences between the samples.

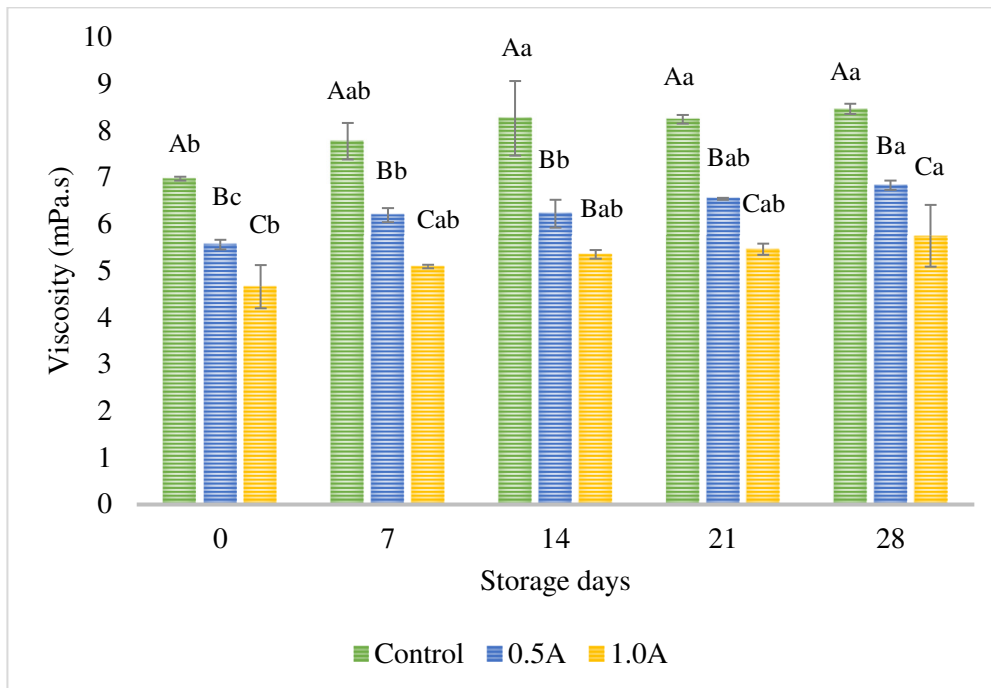


Figure 2. Viscosity of ayran samples during refrigerated storage (mPa.s). 0.5A and 1.0A denote reconstituted ayran samples from yogurt powders produced using 0.5 and 1.0 mbar, respectively. Values are expressed as mean ± standard deviation (n=2). Significant differences were determined with the Tukey test at the $P \leq 0.05$ confidence interval. The means indicated by different capital letters present differences between the samples and by different lowercase letters present differences between the storage days.

Viscosity of fermented milk products plays an important role in their shelf life (Erkaya et al., 2015). While the viscosity values of the samples were found to be between 4.66-6.97 mPa.s at the beginning of the storage time, these values were between 5.75-8.46 mPa.s at the end of the storage (Figure 2). Although these values were found to be compatible with the viscosity values determined in the ayran samples by Ozdemir and Kilic (2004) and Yilmaz et al. (2015), they were lower than the findings of Erkaya et al. (2015) and Ertugay et al. (2012), who applied ultrasonication to ayran. Throughout the storage time, the viscosity value of the control sample was higher than the reconstituted samples ($P \leq 0.05$). It has been asserted that the lyophilization process causes irreversible damage to the acid casein gel structure, especially by affecting the hydrogen bonds (Jaya, 2009; Kumar and Mishra, 2004). The mechanical energy used in mixing for rehydration has also been reported to weaken this gel structure (Santos et al., 2018b). Generally, the lyophilization pressure was observed to be effective on the

viscosity during the storage time, and the viscosity decreased as the application pressure increased ($P \leq 0.05$). In our previous study, we determined that the connections between protein aggregates in yogurt powders increased with the pressure reduction (Öztürk, 2022). Therefore, this difference between pressure treatments may be due to the increased interaction of casein micelles with decreased pressure. For the control sample, the viscosity increased after the 14th day, and then similar viscosity values were observed until the 28th day ($P > 0.05$). As for the reconstituted samples, their viscosity began to increase after the 7th day and the highest viscosity values were detected at the end of the storage time. Accordingly, prolonged storage time in reconstituted ayran may increase the quality of the final product. Moreover, although the rehydration process seems to be a disadvantage for ayran, it is considered that the possibility of adjusting the product to the desired viscosity via diluting yogurt powder can be an advantage for reconstituted ayran.

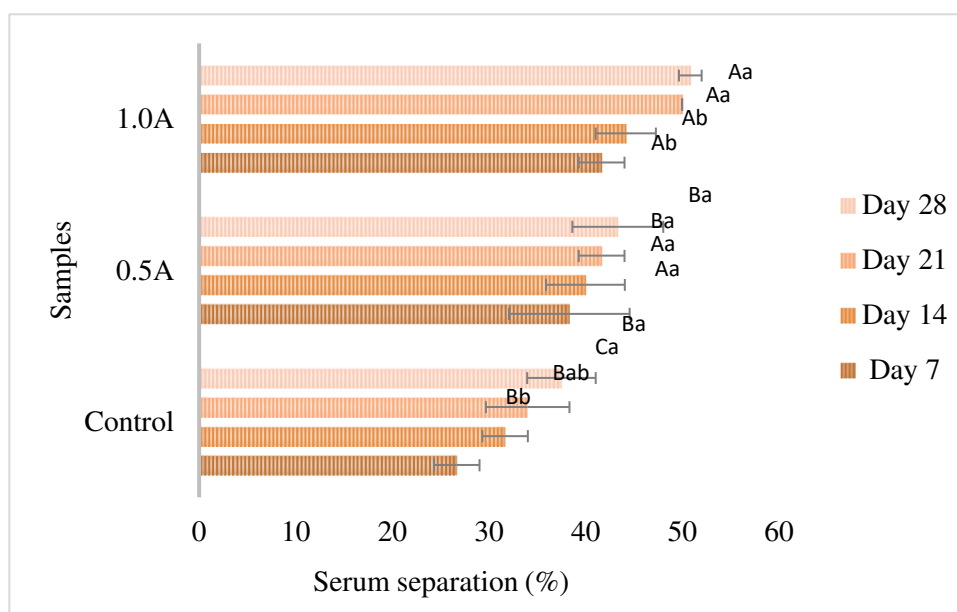


Figure 3. Serum separation of ayran samples during refrigerated storage (%). 0.5A and 1.0A denote reconstituted ayran samples from yogurt powders produced using 0.5 and 1.0 mbar, respectively. Values are expressed as mean \pm standard deviation ($n=2$). Significant differences were determined with the Tukey test at the $P \leq 0.05$ confidence interval. The means indicated by different capital letters present differences between the samples and by different lowercase letters present differences between the storage days.

The levels of serum separation from the samples during the storage time are shown in Figure 3. While serum separation was observed between 26.67-41.67% in ayran samples at the onset of the storage, the rate of syneresis at the end of storage was between 37.50-50.83%. Serum separation was less in the control sample with the highest viscosity value ($P \leq 0.05$). As mentioned earlier, serum separation was greater in reconstituted samples because the lyophilization process caused an irreversible rearrangement of protein networks in the acid gel matrix (Kumar and Mishra, 2004). Also, serum separation observed in reconstituted ayran samples was found to be higher than that of ayran drinks produced by traditional methods in the literature (Değirmenci et al., 2021; Ozdemir and Kilic, 2004). Regarding this situation, it has been suggested that increasing the dry matter content of fermented dairy products can solve textural problems in maintaining the quality of the final product (Doğan, 2011). Therefore, it can be experienced to increase the dry matter content of reconstituted ayran for lower serum separation.

While serum separation in 0.5A sample was statistically constant during the storage time ($P > 0.05$), serum separation in control and 1.0A samples increased after the 14th day of storage ($P \leq 0.05$). Similarly, Köksoy and Kılıç (2003) observed an increase in serum separation of ayran samples over the cold storage. In addition, Soysona Ar and Ocak (2022) also detected that serum separation increased in reconstituted ayran with storage time. However, producing reconstituted ayran on demand will overcome the disadvantage of storage time on serum separation. Interestingly, on days when viscosity increased, the serum separation in the samples also increased. During the storage of ayran, serum separation occurs as a result of aggregation of casein proteins and loss of water from the protein matrix (Gursoy et al., 2016). Although it has been suggested that high viscosity alleviates serum separation by reducing particle movement in fermented milk products, gel strength which indicates water holding capacity is more important for serum separation (Priyashantha et al., 2021). The mixing process of acid coagulum in the ayran production causes changes in the

protein network and affects the gel strength (Ozdemir and Kilic, 2004). Hence, in this study, the production of control ayran by breaking the coagulum of yogurt instead of being standardized at the beginning and the effect of the lyophilization process on protein network structures in reconstituted ayran may have affected the syneresis behavior of the samples during the storage time.

There was no difference in serum separation between different pressures until the 14th day of storage, however, it was determined that serum separation increased as the application pressure increased on the following storage days. The less serum separation observed in 0.5A sample compared to 1.0A may be due to the increased interaction between the casein micelles regarding the reduced vacuum pressure. Eventually, serum separation stability was found to be better in 0.5A sample during the storage time. In this regard, it is anticipated that it would be more appropriate to use lyophilized powders produced with a vacuum pressure of 0.5 mbar to produce reconstituted ayran.

Sensory analyzes of ayran samples were carried out on the 14th day of the storage time and the results are presented in Figure 4. Control ayran sample got the highest score for the sensory parameters except for taste ($P \leq 0.05$). In terms of the taste, all samples were found to be statistically similar ($P > 0.05$). In the control sample, in which dense and thicker structures were observed, the appearance score was determined as 4.67. However, there was no effect of different application pressures on the appearance scores of reconstituted ayran samples ($P > 0.05$). The structure scores of the ayran samples were found to be compatible with their viscosity values. The scores for structure were determined as 2.50 and 2.39 in 0.5A and 1.0A samples, respectively ($P > 0.05$), while it was determined as 4.56 in control sample. In one study, it was recommended to rehydrate the yogurt powder to have 30% dry matter content to obtain structural properties similar to fresh yogurt with 14% dry matter content (Sakin-Yilmazer et al., 2014). Therefore, it is considered that the production of

reconstituted ayran with higher dry matter can overcome the structural score differences with the control ayran. Although there was no statistical difference in the odor, color, and taste scores of the reconstituted samples ($P > 0.05$), 0.5A sample

received slightly higher scores in terms of these features. Based on the sensorial aspect, yogurt powders produced with 0.5 mbar pressure can be recommended for reconstituted ayran production.

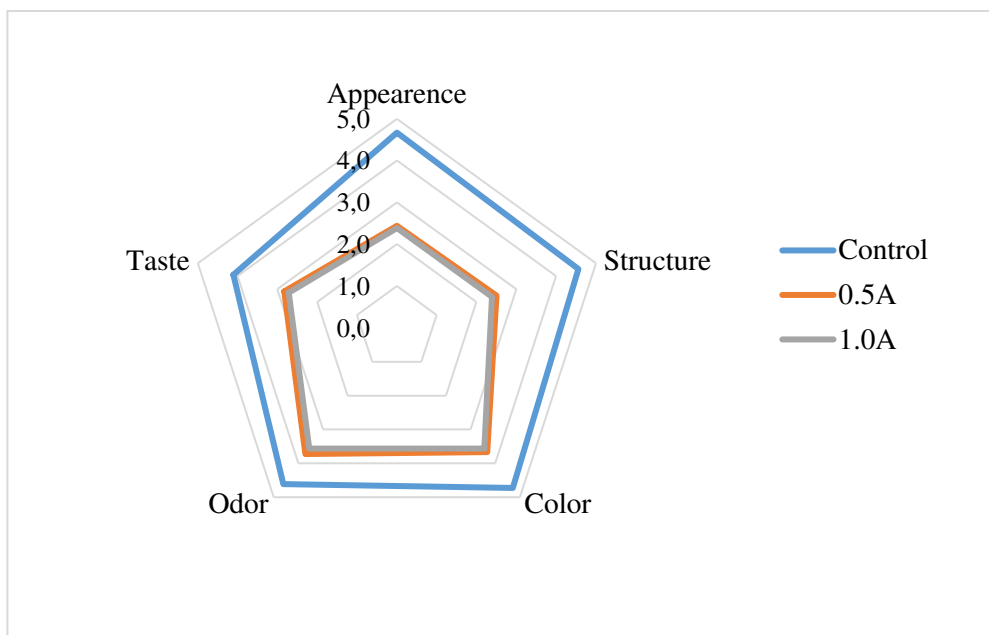


Figure 4. Comparison of sensory properties of control ayran with reconstituted ayran samples (5 points hedonic scale). 0.5A and 1.0A denote reconstituted ayran samples from yogurt powders produced using 0.5 and 1.0 mbar, respectively.

CONCLUSION

This study investigated the physicochemical characteristics of reconstituted ayran drinks made from lyophilized yogurt powders with different pressures and the findings were compared with plain ayran. Besides, ayran samples were also subjected to sensory evaluations. Throughout the 28 days of storage time, the pH values of the reconstituted ayran samples were found to be higher than the control ayran, thereby resulting in lower titratable acidity. The viscosities and serum separation levels of the samples showed a trend with respect to application pressure. Increasing applied pressure resulted in enhanced whey separation and decreased viscosity. Control samples received the highest sensory scores in terms of appearance, structure, color, and odor. In reconstituted samples, the sensory characteristics were generally found to be close to each other, however, 0.5A samples had slightly

higher sensory scores. To improve the physicochemical and sensory properties, the production of reconstituted ayran with higher dry matter can be suggested. After all, if such a production methodology is to be used to extend the shelf life of ayran, it can be recommended to use lyophilized powders dried at 0.5 mbar pressure in reconstituted ayran production for obtaining the best sensorial and physicochemical properties.

CONFLICT OF INTEREST

Author declares no potential conflict of interest.

REFERENCES

Aladeboyeje, O.T., Sanli, N.O. (2021). Fermented traditional probiotic beverages of Turkish origin: A concise review. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 4(3): 546-564, doi: 10.38001/ijlsb.936982.

- Altay, F., Karbancıoğlu-Güler, F., Daskaya-Dikmen, C., Heperkan, D. (2013). A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. *International Journal of Food Microbiology*, 167(1): 44-56, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.016.
- Baruzzi, F., Quintieri, L., Caputo, L., Cocconcelli, P., Borcakli, M., Owczarek, L., Jasińska, U.T., Skąpska, S., Morea, M. (2016). Improvement of Ayran quality by the selection of autochthonous microbial cultures. *Food Microbiology*, 60: 92-103, doi: 10.1016/j.fm.2016.07.001.
- Celik, O.F., Temiz, H. (2020). Traditional yogurt dilemma; rich flavor vs. microbial safety: An investigation on volatile aroma profiles, chemical, and microbiological qualities of traditional yogurts. *Journal of Central European Agriculture*, 21(3): 461-475, doi: 10.5513/JCEA01/21.3.2813.
- Çelekli, A., Alslibi, Z.A., Bozkurt, H. (2019). Influence of incorporated *Spirulina platensis* on the growth of microflora and physicochemical properties of ayran as a functional food. *Algal Research*, 44: 101710, doi: 10.1016/j.algal.2019.101710.
- Değirmenci, A., Kemal, M.E., Boyraci, G.M., Kemal, M., Yildiz, O. (2021). A preliminary study on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of purslane and/or cayenne pepper added drinking yogurt, a traditional Anatolian beverage. *The Black Sea Journal of Sciences*, 11(2): 486-495, doi: 10.31466/kfbd.931444.
- Doğan, M. (2011). Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6(3): 327-332, doi: 10.1007/s00003-010-0643-6.
- Doran, P.M. (2013). Unit operations. In *Bioprocess Engineering Principles*, Doran, P. M. (Ed.), Academic Press, London, UK, pp. 445-595.
- Erkaya, T., Başlar, M., Şengül, M., Ertugay, M.F. (2015). Effect of thermosonication on physicochemical, microbiological and sensorial characteristics of ayran during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 23: 406-412, doi: 10.1016/j.ultsonch.2014.08.009.
- Ertugay, M.F., Başlar, M., Sengul, M., Sallan, S. (2012). The effect of acoustic energy on viscosity and serum separation of traditional Ayran, a Turkish yoghurt drink. *Journal of Food*, 37(5): 253-257.
- Grishina, A., Kulikova, I., Alieva, L., Dodson, A., Rowland, I., Jin, J. (2011). Antigenotoxic effect of kefir and ayran supernatants on fecal water-induced DNA damage in human colon cells. *Nutrition and Cancer*, 63(1): 73-79, doi: 10.1080/01635581.2010.516873.
- Gursoy, O., Yilmaz, Y., Gokce, O., Ertan, K. (2016). Effect of ultrasound power on physicochemical and rheological properties of yoghurt drink produced with thermosonicated milk. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(4): 235-241, doi: 10.9755/ejfa.2015-09-719.
- J Jaya, S. (2009). Microstructure analysis of dried yogurt: Effect of different drying methods. *International Journal of Food Properties*, 12(3): 469-481, doi: 10.1080/10942910701772071.
- Kabak, B., Dobson, A.D. (2011). An introduction to the traditional fermented foods and beverages of Turkey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(3): 248-260, doi: 10.1080/10408390903569640.
- Kešelji, K., Pavkov, I., Radojčin, M., Stamenković, Z. (2017). Comparison of energy consumption in the convective and freeze drying of raspberries. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 21(4): 192-196.
- Koç, B., Yilmazer, M.S., Balkır, P., Ertekin, F.K. (2010). Moisture sorption isotherms and storage stability of spray-dried yogurt powder. *Drying Technology*, 28(6): 816-822, doi: 10.1080/07373937.2010.485083.
- Koçak, C., Avsar, Y.K. (2009). Ayran: microbiology and technology. In *Development and Manufacture of Yogurt and Functional Dairy Products*, Yildiz, F. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, US, pp. 123-141.
- Kovaci, T., Dikmen, E., Şahin, A.Ş. (2021). Thermodynamics analysis of the experimental freeze drying system. *Journal of Technical Sciences*, 11(2): 28-31, doi: 10.35354/tbed.946156.

- Köksoy, A., Kılıç, M. (2003). Effects of water and salt level on rheological properties of ayran, a Turkish yoghurt drink. *International Dairy Journal*, 13(10): 835-839, doi: 10.1016/S0958-6946(03)00103-1.
- Kumar, P., Mishra, H.N. (2004). Yoghurt powder-a review of process technology, storage and utilization. *Food and Bioproducts Processing*, 82(2): 133-142, doi: 10.1205/0960308041614918.
- Ozdemir, U., Kilic, M. (2004). Influence of fermentation conditions on rheological properties and serum separation of ayran. *Journal of Texture Studies*, 35(4): 415-428, doi: 10.1111/j.1745-4603.2004.tb00604.x.
- Öztürk, H.İ. (2022). The effect of different lyophilisation pressures on the microbiological stability, physicochemical, microstructural, and sensorial properties of yoghurt powders. *International Dairy Journal*, 129: 105347, doi: 10.1016/j.idairyj.2022.105347.
- Priyashantha, H., Buldo, P., Berg, T., Gilleladden, C., Ipsen, R. (2021). Understanding the fermentation factors affecting the separability of fermented milk: A model system study. *Food Structure*, 30: 100232, doi: 10.1016/j.foostr.2021.100232.
- Routray, W., Mishra, H.N. (2012). Sensory evaluation of different drinks formulated from dahi (Indian yogurt) powder using fuzzy logic. *Journal of Food Processing Preservation*, 36(1): 1-10, doi: 10.1111/j.1745-4549.2011.00545.x.
- Sakin-Yilmazer, M., Koç, B., Balkir, P., Kaymak-Ertekin, F. (2014). Rheological behavior of reconstituted yoghurt powder-An optimization study. *Powder Technology*, 266: 433-439, doi: 10.1016/j.powtec.2014.06.060.
- Santos, G.D., Nogueira, R.I., Rosenthal, A. (2018a). Powdered yoghurt produced by spray drying and freeze drying: a review. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21: e201612, doi: 10.1590/1981-6723.12716.
- Santos, G.D., Pagani, A.A.C., Rosenthal, A., Nunes, T.P., Silva, M.A.A.P. (2018b). Development and acceptance of freeze-dried yogurt "powder yogurt". *International Food Research Journal*, 25(3): 1159-1165.
- Sarhir, S.T., Amanpour, A., Selli, S. (2019). Characterization of ayran aroma active compounds by solvent-assisted flavor evaporation (SAFE) with gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry (GC-MS-O) and aroma extract dilution analysis (AEDA). *Analytical Letters*, 52(13): 2077-2091, doi: 10.1080/00032719.2019.1594244.
- Simsek, B., Sagdic, O., Ozcelik, S. (2007). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the storage of Ayran produced with different spices. *Journal of Food Engineering*, 78(2): 676-680, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.11.005.
- Song, L., Aryana, K.J. (2014). Reconstituted yogurt from yogurt cultured milk powder mix has better overall characteristics than reconstituted yogurt from commercial yogurt powder. *Journal of Dairy Science*, 97(10): 6007-6015, doi: 10.3168/jds.2014-8181.
- Soysona Ar, Ö., Ocak, E. (2022). Storage of yoghurt powder obtained by different drying methods and its use in reconstituted ayran production. *Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 42-56, doi: 10.29133/yyutbd.879612.
- Uzay, M., Öztürk, H. İ., Buzrul, S., Maskan, M. (2021). A study on rheological properties, sensory evaluation and shelf life of ayran-shalgam mixtures. *Journal of Food Science and Technology*, 58(7): 2479-2486, doi: 10.1007/s13197-020-04754-2.
- Yilmaz, M.T., Dertli, E., Toker, O.S., Tatlisu, N.B., Sagdic, O., Arici, M. (2015). Effect of in situ exopolysaccharide production on physicochemical, rheological, sensory, and microstructural properties of the yogurt drink ayran: An optimization study based on fermentation kinetics. *Journal of Dairy Science*, 98(3): 1604-1624, doi: 10.3168/jds.2014-8936.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Sayın-Börekçi, B., Kaban, G., Kaya, M. *Functional and technological properties of Candida zeylanoides strains isolated from pastırma / Pastırmadan izole edilen Candida zeylanoides* suşlarının fonksiyonel ve teknolojik özellikleri564-575

Donmez, A., Sahin, S.N., Cikrikci-Erünsal, S. (2022). *Impact of locust bean gum / xanthan gum addition on new generation snack design from carob fruit byproducts / Keçiboynuzu gamı / ksantan gamı ilavesinin keçiboynuzu meyvesi yan ürünlerinden elde edilmiş yeni nesil atıştırmalık tasarımına etkisi* 690-704

Öztürk, H.İ. *Evaluation of physicochemical and sensorial properties in reconstituted ayran drinks from yogurt powders lyophilized under different vacuum pressures / Farklı vakum basınçlarında liyofilize edilen yoğurt tozlarından rekonstitüye edilmiş ayranlarda fizikokimyasal ve duyuşsal özelliklerin değerlendirilmesi* ... 705-715

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Doğan-Özsungur, E., Kanca, N., Gürsoy, A. *Farklı oranlarda yayıkaltı tozu kullanılarak üretilen dondurmaların bazı özellikleri / Some properties of ice cream produced with different ratios of buttermilk powder*.....591-603

Abacı, Z.M., Uluata, S. *Omega-3 yağ asidi nanoemülsiyonlarının farklı koşullarda fiziksel stabiliteilerinin belirlenmesi / Determination of physical stability of omega-3 fatty acid nanoemulsions at different conditions*..... 616-629

Karaman, Ç., Kumcuoğlu, S., Kaya-Bayram, S., Tavman, Ş. *Tavuk sternumundan enzimatik hidrolizasyon ile glikozaminoglikan (GAG) üretimi ve işlem parametrelerinin optimizasyonu / Production of glycosaminoglycan (GAG) from chicken sternum by enzymatic hydrolysis and optimization of process parameters*..... 650-662

Polat Yemiş, G. *Vanilin ve nisin in Listeria monocytogenes üzerine inhibisyon etkisinin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi / Determination of inhibitory effect of vanillin and nisin on Listeria monocytogenes by response surface methodology*.....679-689

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Öztürk, N., Eyiler-Kaya, E. *Popüler mantarların besin değerleri ve sağlık üzerine etkileri / Nutritional values and health effects of popular mushrooms*539-563

Savlak, N., Çağındı, Ö., Dedeoğlu, M., İnce, C., Köse, E. *Türkiye'de ve dünyada takviye edici gıdalara genel bir bakış / An overview of the dietary supplements in Turkey and the world*.....576-590

Nakilcioğlu, E., Nurko, E. *Kovadaki gizli mucize: Arı poleni ve arı ekmeği ile gıdaların zenginleştirilmesi / The hidden miracle in the hive: Foods enriched with bee pollen and bee bread*.....604-615

Işık, S., Işık, H., Aytemiş, Z., Güner, S., Aksoy, A., Çetin, B., Topalcengiz, Z. *Mikroyeşillikler: Besinsel içeriği, sağlık üzerine etkisi, üretimi ve gıda güvenliği / Microgreens: Nutritional content, health effect, production, and food safety*..... 630-649

Ankaralıgil, P., Hakgüder-Taze, B. *Vurgulu ışık ile işlenen meyve ve sebze sularının kalitesi / Quality of fruit and vegetable juices treated by pulsed light*663-678