

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 47

SAYI / NUMBER : 5

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> Bozkır, 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 10 2022	

Bu dergi, TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin, CrossRef, DergiPark Akademik, EBSCO Host, 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 (Sciindex), 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, Cite Factor, 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 (Sciindex), 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)

Aktaş, N. *Moisture adsorption isotherms and adsorption isosteric heat of dry ground meat* / Kuru kıymanın nem adsorpsiyon izotermeleri ve adsorpsiyon izosterik ısısı717-728

Gün, İ., Güzel-Seydim, Z.B. *The characteristic of goat skins used in the production of Tulum cheese and changes in ripening environments* /Tulum peyniri üretiminde kullanılan keçi derilerinin karakteristikleri ve olgunlaştırma ortamlarındaki değişimler729-743

Üstün, H., Doğan, A. (2022). *The effect of different UV-C illumination doses on postharvest quality of fresh fig* / Farklı dozlarda UV-C ışın uygulamalarının taze incirin hasat sonrası kalitesi üzerine etkileri744-753

Dağ, Ç., Göçenler, O., Tozkoparan, C.D. *The analysis of metabolic content of traditional milk collected from three regions in Turkey by NMR spectroscopy* / Türkiye'de üç bölgeden toplanan geleneksel sütlerin metabolik içeriğinin NMR spektroskopisi ile analizi765-775

Yılmaz, M., Yucetepe, A. (2022). *Investigation of changes in antioxidant activity and protein digestibility of wheat breads including Spirulina platensis and protein extracts from Spirulina platensis during in vitro digestion* / Spirulina platensis ve Spirulina platensis'den protein ekstraktları içeren buğday ekmeğinin in vitro sindirim sırasında antioksidan aktivite ve protein sindirilebilirliğindeki değişimin araştırılması776-789

Alp, D., Kuleşan, H. (2022). *Some characteristics of Turkish-style fermented garlic pickles produced using four different potentially probiotic starter cultures* / Dört farklı potansiyel probiyotik kültür kullanılarak üretilen Türk tipi sarımsak turşularının bazı özellikleri790-803

Bjelak, A., Sürmeli, Y., Sezer, B., Velioğlu, H.M., Boyacı, İ.H. *Investigating the effects of salt, phosphate and pH on functional properties of beef myofibrillar proteins* / Dana eti miyofibriller proteinlerinin fonksiyonel özellikleri üzerine tuz, fosfat ve pH'nın etkilerinin araştırılması846-859

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Türkmen-Erol, N. *Kestane kabuğundan elde edilen polifenollerin biyoerişilebilirliği ve erişte formülasyonunda kullanımı* / Bioaccessibility of polyphenols from chestnut peel and their use in noodle formulation754-764

Apaydın, D. *Trakya yöresi ballarının mineral içeriği ve bazı tipik kalite parametreleri açısından değerlendirilmesi* / Assessment of Thrace region honeys in terms of mineral content and some typical quality parameters804-819

Yüce, Ü.R. *Işınlanmış çörekotu ve haşhaş örneklerinin OSL tekniği ile tespiti* / Detection of irradiated black seed and poppy samples by OSL technique820-830

Öztürk, N. *Yenilebilir mantar konulu makalelerin bibliyometrik analizi* / Bibliometric analysis of articles on edible mushroom831-845

Aykın-Dinçer, E., Dinçer, C. *Vakumlu emdirim ile renkli fonksiyonel tavuk eti küplerinin üretilmesi* / Production of colored functional chicken meat cubes by vacuum impregnation860-873

Gül, O., Açıkgöz, N., Gül, L.B. *Ultrases destekli ozmotik dehidrasyon ön işleminin balkabağı (Cucurbita moschata) kurutma kinetiği ve bazı fonksiyonel özellikleri üzerine etkisi* / Effect of ultrasound assisted osmotic dehydration pre-treatment on drying kinetics and some functional properties of pumpkin (Cucurbita moschata)874-888

Yavuz-Küçük, A., Duraklı-Velioğlu, S. *"Keçiboynuzu Özü" adı altında satışı sunulan ürünün bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve keçiboynuzu pekmezi ile karşılaştırılması* / Determining some chemical properties of the product marketed under the name of "Carob Extract" and comparison with carob pekmez889-903

Coşgun, G., Torun, M. *Depolama sıcaklığının Türk kahvesinin kafein, klorojenik asit ve yağ asidi kompozisyonu üzerine etkisi* / The effect of storage temperature on caffeine, chlorogenic acid and fatty acid composition of Turkish coffee904-915

Kaya, E., Kahyaoglu, L.N. *Kurkumin yüklenmiş zeolitik imidazolat çerçeve-8 ile gıda paketlenme uygulamaları için aktif film geliştirilmesi* / Development of active film for food packaging applications with curcumin-loaded zeolitic imidazolate framework-8916-940



MOISTURE ADSORPTION ISOTHERMS AND ADSORPTION ISOSTERIC HEAT OF DRY GROUND MEAT

Nesimi Aktaş*

University of Nevşehir Hacı Bektaş Veli, Faculty of Engineering Architecture, Department of Food Engineering, Nevşehir, Türkiye

Received / Geliş: 28.03.2022; Accepted / Kabul: 09.08.2022; Published online / Online baskı: 17.08.2022

Aktaş, N. (2022). Moisture adsorption isotherms and adsorption isosteric heat of dry ground meat. *GIDA* (2022) 47 (5) 717-728 doi: 10.15237/gida.GD22043

Aktaş, N. (2022). Kuru kıymanın nem adsorpsiyon izotermi ve adsorpsiyon izosterik ısı. *GIDA* (2022) 47 (5) 717-728 doi: 10.15237/gida.GD22043

ABSTRACT

Dry ground meat is a cooked meat product. It is a popular meat product in Central Anatolian Region of Turkey. Calf plate or flank meats and intermuscular fats are used in the production of dry ground meat. In this study, sorption isotherms were determined using nine different salt solutions (0.1-0.9 a_w) having different relative humidity values at 5, 15 and 25°C. From the experimental data obtained, it was found that the sorption isotherms had Type-II characteristics. The obtained experimental data were applied to Iglesias-Chirife, Oswin, BET, Harkins-Jura, Smith, Henderson, Halsey, GAB, Peleg. Iglesias-Chirife and Peleg equations were revealed the best fitting. Isosteric heats of adsorption were evaluated by applying the Clausius-Clapeyron equation to experimental isotherms and decreased with increasing moisture content.

Keywords: Dry ground meat, sorption isotherm, isosteric heat

KURU KIYMANIN NEM ADSORPSİYON İZOTERMLERİ VE ADSORPSİYON İZOSTERİK ISISI

ÖZ

Kuru kıyma, pişirilmiş bir et ürünüdür. Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesi'nde popüler bir et ürünüdür. Kuru kıyma üretiminde dana kaburga, karın etleri ve kaslararası yağ kullanılmaktadır. Bu çalışmada, farklı nispi nem değerlerine sahip dokuz farklı tuz çözeltisi kullanılarak sorpsiyon izotermi 5, 15 ve 25°C'de belirlenmiştir. Elde edilen deneysel veriler Iglesias-Chirife, Oswin, BET, Harkins-Jura, Smith, Henderson, Halsey, GAB, Peleg eşitliklerine uygulanmış, en iyi uyumun Iglesias-Chirife ve Peleg eşitliklerinde olduğu ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen deneysel verilerden sorpsiyon izotermi Tip II özelliğe sahip olduğu bulunmuştur. Clausius Clapeyron eşitliği deneysel izotermiye uygulanarak izosterik adsorpsiyon ısıları belirlenmiş ve artan nem içeriği ile azaldığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kuru kıyma, sorpsiyon izotermi, izosterik ısı

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: naktas@nevsehir.edu.tr

☎: (+90) 384 228 1000

☎: (+90) 384 228 1123

Nesimi Aktaş; ORCID no: 0000-0002-1898-0428

INTRODUCTION

Dry ground meat is a traditional meat product produced by frying of the ground meat and fat in open cauldrons with the addition of salt. The block diagram of dry ground meat production is shown in Figure 1. In the production of dry ground meat, firstly, meat and intermuscular meat fat are ground. For this purpose, the ground meat and the ground meat fat are placed in the frying cauldrons and fried at 60°C and then 90°C for 30 minutes. Towards the end of the frying process, the salt is added and the frying process is continued for a while. After the frying process, melted animal fat is drained from the cauldrons, and it is kept for a certain period in a draining tank to separate the water it contains. The melted animal fat in the draining tank is poured over the ground meat taken into the molds, and then the cooling process is carried out and the product is offered for sale. The sustainability of traditional products like this, which are produced with intensive labor and reflect the cultural heritage of the society, has gained even more importance in the globalizing world. Therefore, the traditional food sector has to weigh improvements in the safety, health, and convenience of their products.

Ensuring food safety during the production and storage of such products is possible by revealing the characteristic properties of the products. Moisture sorption properties and the conditions associated with these properties are of great importance in this respect.

Water activity is one of the most important factors affecting the transfer of moisture in unit operations such as drying, cooling, freezing, heating, cooking and storage in foods. In addition, the stability of foods is closely related to water activity. Water activity varies depending on temperature, composition and physical state of food. At a given temperature and / or pressure, the relationship between the food's equilibrium moisture content and water activity is called sorption isotherm. These isotherms provide important information in characterizing of sorption. This information is important in modeling the drying process, designing and

optimizing drying equipment, determining shelf life, calculating changes in moisture content during storage, and selecting the most suitable packaging material for food (Shi et al., 2016; Trujillo et al., 2003).

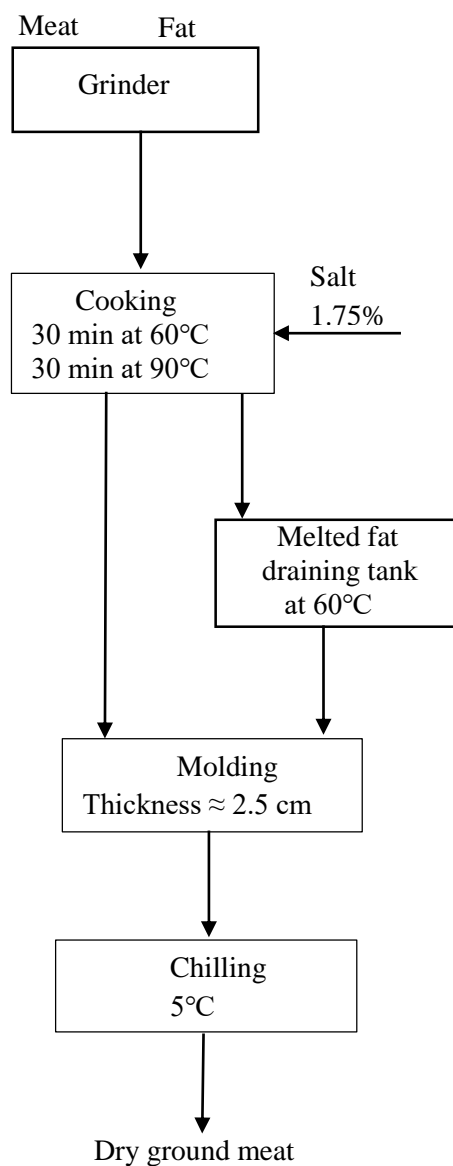


Figure 1. Block diagram of dry ground meat production.

Knowledge of the heat of sorption in food processes such as drying and cooking is extremely important to control the heat and mass transfer processes and moisture changes

during storage. The heat of sorption indicates the magnitude of the bonding energy or the intermolecular interaction forces between the adsorbent surface and the adsorbate molecules (Chung and Pfof, 1967). The high values of isosteric heat indicate that the bond energy between the adsorbent surface and the water vapor molecules is low or the intermolecular forces are weak, and if it is small, these forces and bond energies are strong (Basu et al., 2006; Al-Muhtaseb et al., 2002; Mrad et al., 2012; Mbarek and Mihoubi, 2019). There has been no research report conducted on determining the moisture sorption isotherms of dry ground meat. Therefore, the objectives of this study were 1) to determine the water sorption isotherms for dry ground meat at different temperatures (5, 15 and 25°C), 2) to find mathematical models that provide an accurate prediction of the isotherms, 3) to determine the net isosteric heat of sorption.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Dry ground meat samples with triplicate, which were produced on separate processing days by the same production technique, were purchased from a local company (Kavdırlar, Nevşehir, Turkey).

Methods

For each dry ground meat, pH, moisture, fat, protein and ash were determined according to Ockerman (1985) with three replicates. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) analysis in dry ground meats were determined based on Lemon (1975).

Adsorption isotherms

An isopiestic method was used to determine the adsorption isotherms as previously described (Gal, 1975). Briefly, adsorption isotherms were measured with desiccators containing various saturated salt solutions that provide a_w value of between 0.1 and 0.9 (Figure 2). The temperatures used for the adsorption isotherms were 5, 15 and 25°C. Samples were first dried to level containing $3.85 \pm 0.11\%$ water contents for sorption in air-dryer at 35°C and they were weighed into Quickfit® glass bottles of 50 mg

parts with 0.1 mg sensitivity. Then, they were kept half-open to avoid any confusion in the caps of the bottles in desiccators containing various salt solutions providing the desired relative humidity for 5 days to “equilibrate” until there was no noticeable weight change in triplicate experiment, as evidenced by constant weight values (± 0.01 mg). In order to prevent the microbial spoilage of the samples, crystalline thymol was placed in the desiccators. Thereafter, the bottles were taken from the desiccator and the weight gain was measured (Bel M21 4Ai, Bel Engineering, Italy). The water content of each sample was determined by drying at $105 \pm 1^\circ\text{C}$ until they reach to a constant weight. Water content was expressed as kg water/kg dry matter. The saturated salt solutions used were prepared a week beforehand and allowed to gain stability by mixing every day. The following saturated salt solutions and relative humidity media were used: LiCl 11.30%, CH_3COOK 23.11%, MgCl_2 33.07%, K_2CO_3 43.16%, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 54.38%, NaNO_2 65.40%, NaCl 75.47%, KCl 85.11% and BaCl_2 90.69% (Bell & Labuza, 2000). The relative humidities are values at 20°C. The equilibrium relative humidity values in the ambient inside the desiccators were measured by electronic relative humidity meter. All measurements were made on triplicate samples.

Fitting of adsorption data to various isotherm equations

Although there are several mathematical models available to depict the water sorption isotherms of foods, none of them are able to give accurate results for the whole range of water activities, and for all types of foods. Moreover, it is almost impossible to find a one model that fits all of the cases due to the complexity of food components; instead, various models have been proposed and checked for fit to experimental data. Thus, in this study, the experimental data obtained were applied to different isotherm equations that are as follows: Iglesias-Chirife, Oswin, BET, Harkins-Jura, Smith, Henderson, Halsey, GAB, Peleg, modified Chung-Pfof, modified Oswin. The linearized forms of the Iglesias-Chirife, Oswin, BET, Harkins-Jura, Smith, Henderson, Halsey relationships were

used for calculating the parameters of the isotherm equations using a linear regression programme (SPSS 22 for Windows). The parameters of the GAB, Peleg, modified Chung-

Pfost, modified Oswin models were estimated from the experimental results using the nonlinear regression analysis (SPSS 22 for Windows).

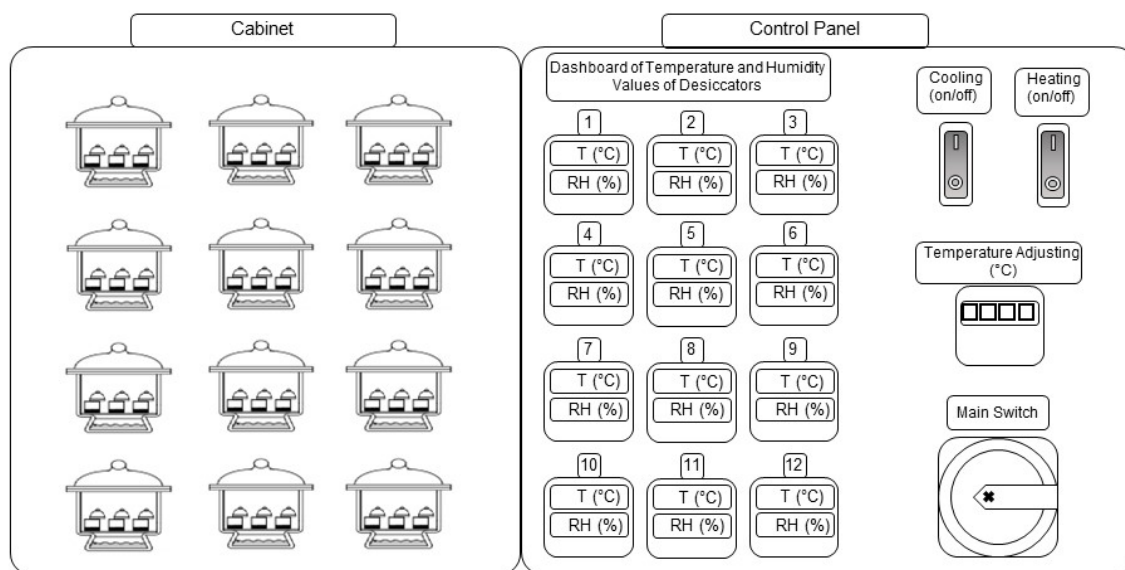


Figure 2. Experimental apparatus for determination of the adsorption isotherms

The goodness of fit as applied to the experimental data were evaluated through the determination coefficient (R^2), mean relative percentage deviation (P) and standard error of estimate (SEE).

$$R^2 = 1 - \frac{\text{Residual sum of squares}}{\text{Corrected sum of squares}} \quad (1)$$

$$P = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|X_i - X_{pi}|}{X_i} \quad (2)$$

$$SEE = \sqrt{\frac{\sum (x_i - x_{pi})^2}{d_f}} \quad (3)$$

where X_{pi} , predicted, X_i , experimental moisture contents and d_f , the number of degree of freedom (number of data points minus number of constants in the model). It was reported in several previous studies that the R^2 and SEE values may not be sufficient evidence for the goodness-of-fit (Chen and Morrey, 1989; Sun, 1999; Aviara et al., 2004; Iguaz and Virseda, 2007). For this reason, the mean relative percentage deviation (P) gives an idea of the

mean departure of the measured data from the predicted data and is used to describe the goodness-of-fit of an equation. Therefore, the smaller the P value, the better the goodness-of-fit. A model is considered acceptable if the P values are below 10% (Ansari, Farahnaky, Majzoubi, & Badii, 2011; Mrad, Bonazzi, Boudhrioua, Kechaou, & Courtois, 2012).

Isosteric heat of adsorption

The isosteric heats of adsorption were calculated by using Eq. (4), which originates from the Clausius–Clapeyron equation, to the adsorption isotherms at different temperatures (Tsami, 1991).

$$\frac{d \ln a_w}{d \left[\frac{1}{T} \right]} = - \frac{Q_n^{st}}{R} \quad (4)$$

Plotting the adsorption isotherms as $\ln a_w$ versus $1/T$ for certain values of moisture content, the net sorption isosteric heat Q_n^{st} can be obtained from the slope of these representations. In order to be able to use this method, sorption isotherms

at more than two temperatures are required as the simplifications for Eq. (4) were made.

The isosteric heat of sorption (Q^{st}) is calculated by including the latent heat of vaporization for pure water (L_r) to the net isosteric heat of sorption (Eq. (5)), considering L_r as the average value for the temperatures taken into account (2466.18 J/g for 5–25 °C).

$$Q^{st} = Q_n^{st} + L_r \quad (5)$$

RESULTS AND DISCUSSION

Physicochemical analysis

The results of physicochemical analysis were shown in Table 1. pH values of the dry ground meats were higher than that of the raw meat (pH= 5.64±0.02). During the cooking, the pH of the meat increases. The increase in the pH values might be occurred due to exposure to imidazolium during cooking, the basic R group of the amino acid histidine. Moisture content of the dry ground meat samples was 51.82%. This value is higher than the moisture content of kavurma (45%) (Turkish Food Codex, 2019). This situation might be significantly affect the storage period at 4°C. However, dry ground meat is not a product that could be stored for a very long time like kavurma. Generally, productions are made for short-term purposes (15 days) and offered for sale.

Table 1. Physicochemical characteristics of dry ground meat samples

pH	6.26±0.03
Moisture (%)	51.82±0.10
Protein (%)	24.62±0.18
Fat (%)	21.52±0.48
Ash (%)	2.04±0.22
TBARS (µmol MDA/ kg)	6.28±0.17

Cooking is a main process of dry ground meat production. The cooking process of meat and fat by grinding could be caused much more oxidation. TBARS value of dry ground meat is shown in Table 1. The occurrence of lipid oxidation is an undesirable situation as it causes changes in taste, aroma, odour, texture and color in meat and meat products and results in quality losses (Ockerman, 1985). A significant amount

of animal fat is used in the production of dry ground meat. After the production, the preservation is carried out at 4°C and during this time the sale is made in open containers. This situation creates important problems in terms of lipid oxidation during storage and sale. In order to preserve the quality characteristics of the product, it must be packaged with suitable packaging material.

Adsorption isotherms

Adsorption isotherms of the dry ground meat samples determined at three different temperatures are given in Figure 3. The isotherms revealed a typical type-II shape according to the BET classification. This type is commonly seen in food materials containing high protein content and corresponds to multilayer formation (Figure 3). In the range of 11% to 43% relative humidity, it can be seen that the equilibrium moisture content was almost constant, resulting in an almost horizontal line. A similar situation was determined as a result of the research carried out in bologna by Igbeka and Blaisdel (1982). The researchers interpreted this situation as an increase in environmental relative humidity would only have a slight effect on the stability of the product.

It has been also reported that the amount of sorbed water in protein-rich foods mainly depends on the number and presence of two types of hydrophilic groups (polar side chains and carbonyl and imido groups of peptide bonds) that are capable of binding water through hydrogen bond formation (Singh et al., 2001; Aktaş and Gürses, 2005). Water sorption by proteins occurs on the polar side chains at low humidities, spreads out to peptide linkages and then leads to multilayer adsorption at high humidity.

The increase in temperature caused a reduction in the equilibrium moisture content (Figure 3). However, an increase in the temperature did not cause the formation of any crossover or intersection point in the curves. The differences of equilibrium moisture contents between three temperatures were found statistically significant

($P < 0.05$). This tendency formed by the increase in temperature could be ascribed to the excitation states of water molecules. In addition to an escalation in the kinetic energy of the molecules that also leads to increases of molecular mobility, a rise in the temperature causes a reduction in the attractive forces between molecules. Therefore, at low

temperature values, water molecules having slow molecular mobility are bound more easily to convenient binding sites on surface and promotes an increase in the degree of water sorption by the product with decreasing temperature at the given water activity. (Quirijns et al., 2005; Ansari et al., 2011; Mbarga et al., 2017).

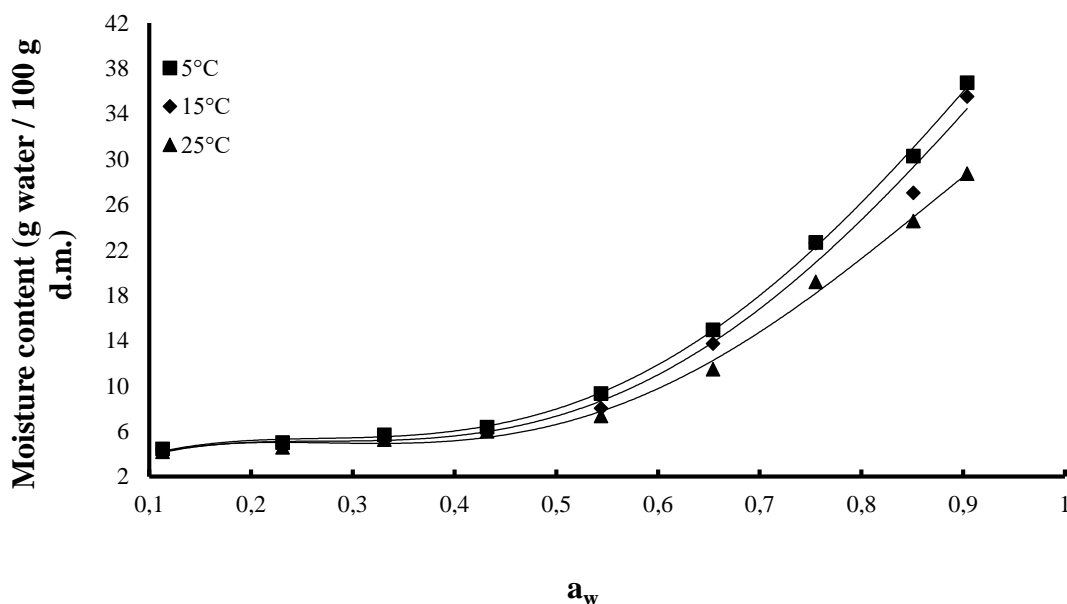


Figure 3. Moisture adsorption isotherms of dry ground meat samples at 5°C, 15°C and 25°C.

Fitting of adsorption data to various isotherm equations

The lowest P values for the isotherm equations at 5°C, 15°C and 25°C were obtained when Iglesias-Chirife equation was used (Figure 4), which was followed by Peleg. The highest P values were determined Modified Chung Pfof and Henderson equations, respectively (Tables 2). In this present study, Iglesias-Chirife and Peleg equations revealed the best fitting. Polatoğlu et al., (2011; 2013) reported that Peleg model gave the best fit for sucuk (Turkish dry-fermented sausage) and pastırma (Turkish dry meat product). Peleg's model parameters (A, B, C and D) showed a decrease with increasing temperature. The Peleg equation can predict both sigmoidal and non-sigmoidal isotherms. According to Peleg (1992), this model fitted as

well as or better than the GAB model but its constants have no physical meaning.

Compared to the water activity range of 0.1-0.9 in terms of fit to the BET equation, the adsorption data obtained in the range of 0.1–0.55 water activity was found to fit better the BET model (Table 2). This agrees with report that the model of BET is the best fit for this water activity range (Labuza et al., 1985). The P values for the model of BET in the water activity range 0.1–0.55 were found to be 5.76, 5.29, 1.52 at 5, 15 and 25 °C, respectively. The high P values obtained in the 0.1-0.9 water activity range could be attributed to the existence of multiple mechanisms for sorption.

Table 2. Estimated parameters for several models for isotherms of dry ground meat samples at different temperatures

Isotherm equation	a_w (range)	Temperature (°C)	Constant parameters	Determination coefficient (R ²)	P (%)	SEE
Iglesias and Chirife $\ln\left(m + (m^2 + m_{0.5})^{\frac{1}{2}}\right) = p + b(a_w)$	0.1-0.9	5°C	b= 2.83 p= 1.60	0.951	0.16	0.008
		15°C	b= 2.77 p= 1.58	0.938	0.43	0.022
		25°C	b= 2.57 p= 1.60	0.939	0.29	0.021
Oswin $\ln m = \ln k + n \ln\left(\frac{a_w}{1 - a_w}\right)$	0.1-0.9	5°C	n= 0.56 k= 10.12	0.939	15.44	0.638
		15°C	n= 0.55 k= 9.55	0.926	17.00	0.689
		25°C	n= 0.51 k= 8.72	0.929	15.78	0.604
BET $\frac{a_w}{m(1-a_w)} = \frac{1}{(m_0 C)} + \frac{(C-1)}{(m_0 C)} a_w$	0.1-0.9 /0.1- 0.5	5°C	C=46.94/60.34 m ₀ = 4.35/4.04	0.866/0.973	12.28/5.76	0.815/0.206
		15°C	C= 44.62/166.41 m ₀ = 4.07/3.53	0.868/0.998	11.78/5.29	0.750/0.157
		25°C	C=35.44/-53.75 m ₀ = 3.24/3.32	0.869/0.999	12.33/1.52	0.717/0.041
Harkins-Jura $\frac{1}{m^2} = \left(\frac{B}{A}\right) - \left(\frac{1}{A}\right) \log a_w$	0.1-0.9	5°C	A= 16.34 B= -0.05	0.960	13.37	0.829
		15°C	A= 15.65 B= -0.03	0.941	14.44	0.940
		25°C	A= 14.53 B= -0.02	0.960	13.00	0.784
Smith $m = W_b - W \ln(1 - a_w)$	0.1-0.9	5°C	W= 15.60 W _b = 0.28	0.978	19.11	0.538
		15°C	W= 14.74 W _b = 0.31	0.968	21.22	0.637
		25°C	W= 12.08 W _b = 0.49	0.969	18.00	0.500
Henderson $\ln[-\ln(1 - a_w)] = \ln k + n \ln m$	0.1-0.9	5°C	n= 0.78 k= 14.96	0.880	23.33	1.121
		15°C	n= 0.77 k= 14.03	0.861	26.11	1.160
		25°C	n= 0.71 k= 12.47	0.864	23.55	0.996
Halsey $\ln m = \left[\frac{1}{n} \ln c\right] - \left(\frac{1}{n}\right) \ln \left[\ln \frac{1}{a_w}\right]$	0.1-0.9	5°C	n= 1.28 c= 11.87	0.969	12.11	0.657
		15°C	n= 1.30 c= 11.45	0.961	12.44	0.582
		25°C	n= 1.40 c= 12.65	0.964	11.22	0.527

Table 2. (Continued)

Isotherm equation	a_w (range)	Temperature (°C)	Constant parameters	Determination coefficient (R ²)	P (%)	SEE
GAB $\frac{a_w}{m} = \alpha a_w^2 + \beta a_w + \gamma$ $c = \left[\beta - \frac{\left(\frac{1}{m_m}\right)}{(-2 \gamma)} \right]$ $K = \frac{1}{m_m c \gamma}$	0.1-0.9	5°C	$m_m=4.33$ $c=1.01$ $K'=28.23$	0.850	12.60	1.067
		15°C	$m_m=3.94$ $c=1.03$ $K'=41.07$	0.856	14.58	1.260
		25°C	$m_m=3.69$ $c=0.95$ $K'=92.02$	0.891	7.13	0.414
Peleg $M=A a_w^B + C a_w^D$	0.1-0.9	5°C	A= 46.33 B= 3.37 C= 3.72 D= -0.10	0.998	4.49	0.176
		15°C	A= 44.36 B= 3.43 C= 3.38 D= -0.14	0.990	7.25	0.379
		25°C	A= 36.13 B= 3.34 C= 3.35 D= -0.12	0.993	6.19	0.254
Modified Chung-Pfost $M = -\frac{1}{c} \ln \left[\frac{(t+b) \ln(a_w)}{-a} \right]$	0.1-0.9	5°C	a= 78.76 b= 34.24 c= 0.09	0.931	28.22	1.088
		15°C	a= 34.87 b= 2.40 c= 0.92	0.918	31.67	1.089
		25°C	a= 557.54 b= 230.96 c= 0.11	0.921	20.11	0.657
Modified Oswin $(A + B t) \left(\frac{a_w}{1 - a_w} \right)^C$	0.1-0.9	5°C	A= -3.86x10 ⁻⁴ B= 7.73x10 ³ C= 0.59	0.978	14.22	0.591
		15°C	A= -7.74x10 ⁴ B= 5.16x10 ³ C= 0.60	0.971	15.01	0.537
		25°C	A= 1.73x10 ⁴ B= -690.73 C= 0.56	0.966	14.89	0.569

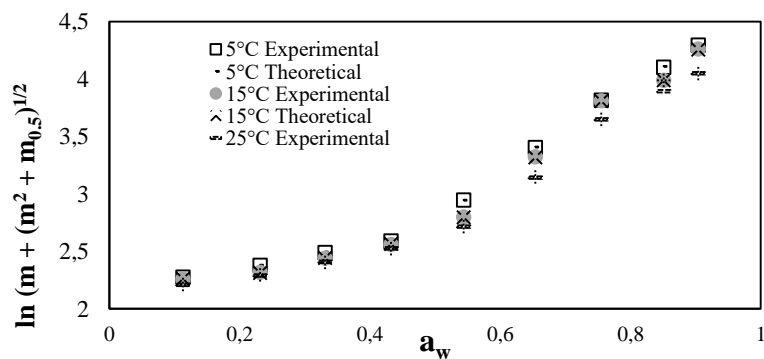


Figure 4. Moisture adsorption isotherms of the dry ground meat plotted by using Iglesias-Chirife model

The monolayer water contents (shown as m_o from the BET equation, and m_m from the GAB equation) are shown in Table 2. Above monolayer moisture content, which is assessed as a critical water content could result some deteriorations in foods such as activity of enzymes, non-enzymatic browning and lipid oxidation. However, below monolayer moisture contents where water is strictly adsorbed to the food, water is not able to serve as a solvent or substrate in any reaction except for lipid oxidation. When temperature increased, monolayer moisture content decreased (Table 2). The decrease in the content of monolayer moisture could result in a drop in the abundance of active sites because of the physical and chemical alterations caused by temperature. This agrees with previous reports (Falade and Aworh, 2004; Vega-Galvez et al., 2009; Ansari et al., 2011; Mrad et al., 2012; Prasantha and Amunogoda, 2012; Badii et al., 2014; Mbarga et al., 2017). m_o content in the BET isotherm equation could be an indicator for the affinity of polar sites to water vapour. Iglesias and Chirife (1976) suggests that there is a good correlation between the number of water molecules calculated to exist in a B.E.T. monolayer and the number of polar side chains. This suggests that each polar group initially sorbs one molecule of water followed at higher humidities by multimolecular adsorption. Moreover, lower m_o values were calculated when BET equation was

used, compared to those calculated in the GAB at all temperatures tested. This finding is also in an agreement with the findings reported by other researchers (Timmermann et al., 2001; Mrad et al., 2012; Aykın and Erbaş, 2016; Aykın-Dinçer and Erbaş, 2018). These differences can be attributed that the model of BET mainly focuses on surface adsorption in the first layer, whereas the model of GAB also considers sorbed water properties in the region of multilayer (Bell and Labuza, 2000). In other words, the GAB model takes into account both capillary saturation and surface saturation (Aykın-Dinçer and Erbaş, 2016).

Isosteric heat of adsorption

The adsorption isosteric heat is shown in Figure 5. When the moisture content increased, a decrease in sorption energy was observed. This could be attributed to the fact that the adsorption at first takes place in the most active and accessible sites that involve elevated energies of interaction. Once these sites are engaged, adsorption to the less active sites having poorer interaction energies starts (Iglesias and Chirife, 1976; Sanchez et al., 1997). At low water content, binding seems to be predominantly controlled by Van der Waals forces and hydrogen bonding occurring between the adsorbent surface (dry ground meat) and water molecules.

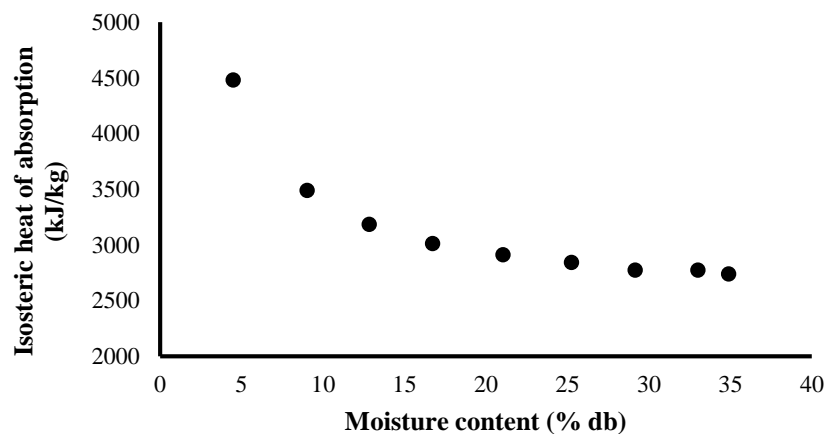


Figure 5. Isosteric heat of adsorption

CONCLUSION

The results obtained in this study clearly indicates that sorption isotherms of dry ground meat samples were type II isotherm pattern that is commonly observed in high protein content food products. The equilibrium moisture content relationship of the dry ground meat samples in the studied temperatures were best described by the Iglesias-Chirife and Peleg models.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Nevşehir Hacı Bektaş Veli University (Project no. NEÜBAP16/2F9)

CONFLICTS OF INTEREST

Author declare that there is no conflict of interest. This article does not contain any studies with human or animal subjects.

REFERENCES

Al-Muhtaseb, A. H., McMin, A. M., Magee, T. R. A. (2002). Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A review. *Trans IChem E*, 80, 118-128. <https://doi.org/10.1205/09603080252938753>

Aktaş, N. and Gürses, A. (2005). Moisture adsorption properties and adsorption isosteric heat of dehydrated slices of Pastirma (Turkish dry meat product). *Meat Science*, 71, 571–576. doi:10.1016/j.meatsci.2005.04.042

Ansari, S., Farahnaky, A., Majzoobi, M., & Badii, F. (2011). Modeling the effect of glucose syrup on the moisture sorption isotherm of figs. *Food Biophysics*, 6, 377–389. DOI 10.1007/s11483-011-9213-4

Aykın, E. and Erbaş, M. (2016). Quality properties and adsorption behavior of freeze-dried beef meat from the Biceps femoris and *Semimembranosus* muscles. *Meat Science*, 121, 272-277. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.030>

Aykın-Dinçer, E. and Erbaş, M. (2018). Drying kinetics, adsorption isotherms and quality characteristics of vacuum dried beef slices with different salt contents. *Meat Science*, 145, 114-120. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.007>

Aviara, N. A., Ajibola, O. O., & Oni, S. A. (2004). Sorption equilibrium and thermodynamic characteristics of soya bean. *Biosystems Engineering*, 87(2), 179–190. doi:10.1016/j.biosystemseng.2003.11.006

Badii, F., Farahnaky, A., & Behmadi, H. (2014). Effect of storage relative humidity on physical stability of dried fig. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 477-483. doi:10.1111/j.1745-4549.2012.00797.x

Basu, S., Shivhare, U. S., Mujumdar, A.S. (2006). Models for sorption isotherms for foods: A review. *Drying Technology*, 24, 917-930. <https://doi.org/10.1080/07373930600775979>

Bell, L., & Labuza, T. (2000). *Moisture Sorption: Practical Aspects of Isotherm Measurements and Use*; American Association of Cereal Chemists: St. Paul, MN.

Chen, C. C., & Morey, R. V. (1989). Comparison of four EMC/ERH equations. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 32, 983–990. doi: 10.13031/2013.31103 @1989

Chung, D. S. and Pfost, H. B. (1967). Part 1: Heat and free energy changes of adsorption and desorption. *Transactions of the ASAE*. 549-555.

Falade, K. O., & Aworh, O. C. (2004). Adsorption isotherms of osmo-oven dried african star apple (*Chrysophyllum albidum*) and african mango (*Irvingia gabonensis*) slices. *European Food Research and Technology*, 218, 278–283. DOI 10.1007/s00217-003-0843-8

Gal, S. (1975). Recent advances in techniques for the determination of sorption isotherms. In R. B. Duckworth (Ed.), *Water relations of foods* (pp. 139). New York: Academic Press.

Igbeka, J. C. and Blaisdel, J. L. (1982). Moisture isotherms of a processed meat product-Bologna. *Journal of Food Technology*, 17, 37-46. DOI:10.1111/j.1365-2621.1982.tb00157.x

Iglesias, H. A. and Chirife, J. (1976). Equilibrium moisture content of air dried beef-Dependence on drying temperature. *Journal of Food Technology*, 11, 565-573. DOI:10.1111/j.1365-2621.1976.tb00755.x-i1

- Iguaz, A and Virseda, P. (2007). Moisture desorption isotherms of rough rice at high temperatures. *Journal of Food Engineering*, 79:794–802. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.03.002
- Labuza, T. P., Kannane, A., & Chen, J. (1985). Effect of temperature on the moisture sorption isotherm and water activity shift of two dehydrated foods. *Journal of Food Science*, 50, 385–392. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb13409.x>
- Lemon, D. W. (1975). An improved TBA test for rancidity. *New Series Circular No. 51. Halifax Laboratory*, Halifax, Nova Scotia.
- Mbarek, R., and Mihoubi, D. (2019). Thermodynamic properties and water desorption isotherms of Golden Delicious apples. *Heat and Mass Transfer*, 55, 1405-1418. DOI:10.1007/s00231-018-2527-8
- Mbarga, M. C. N., Nde, D. B., Mohagir, A., Kapseu, C., & Nkenge, G. E. (2017). Moisture sorption isotherms and properties of sorbed water of neem (*Azadirachta indica A. Juss*) kernels. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 90, 35-42. DOI 10.1007/s10891-017-1536-7
- Mrad, N. D., Bonazzi, C., Boudhrioua, N., Kechaou, N., & Courtois, F. (2012). Moisture sorption isotherms, thermodynamic properties, and glass transition of pears and apples. *Drying Technology*, 30, 1397–1406. <https://doi.org/10.1080/07373937.2012.683843>
- Ockerman, H. W. (1985). *Quality control of post-mortem muscle tissue* (pp. 90–112). Ohio: Department of Animal Science, The Ohio State University and The Ohio Agricultural Research and Development Center.
- Peleg, M. (1992). Assessment of a semi-empirical 4 parameter general model for sigmoid moisture sorption isotherms. *Journal of Food Process Engineering*, 16, 21–37. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.1993.tb00160.x>
- Polatoğlu, B., Beşe, A. V., Kaya, M. and Aktaş, N. (2011). Moisture adsorption isotherms and thermodynamic properties of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *Food and Bioprocess Technology*, 89, 449–456. doi:10.1016/j.fbp.2010.06.003
- Polatoğlu, B., Beşe, A. V., Kaya, M. and Aktaş, N. (2013). Thermodynamic analysis of experimental adsorption isotherms of Pastırma (Turkish dry meat product). *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11, 2803-2809.
- Prasantha, B. D. R., & Amunogoda, P. N. R. J. (2013). Moisture adsorption characteristics of solar-dehydrated mango and jackfruit. *Food Bioprocess Technology*, 6, 1720–1728. DOI 10.1007/s11947-012-0832-7
- Quirijns, E., Van Boxtel, A., Van Loon, W., & Van Straten, G. (2005). Sorption isotherms, GAB parameters and isosteric heat of sorption. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1805–1814. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2140>
- Sanchez, E. S., Juan, N. S., Simal, S., & Rossello, C. (1997). Calorimetric techniques applied to the determination of isosteric heat of desorption for potato. *Journal of Science Food and Agriculture*, 74, 57–63. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199705\)74:1%3C57::AID-JSFA770%3E3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199705)74:1%3C57::AID-JSFA770%3E3.0.CO;2-8)
- Singh, R. R. B., Rao, K. H., Anjaneyulu, A. S. R. and Patil, G. R. 2001. Moisture sorption properties of smoked chicken sausages from spent hen meat. *Food Research International*, 34, 143-148. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00145-9](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00145-9)
- Shi, Q., Lin, W., Zhao, Y., Zhang, P., Wang, R. (2016). Moisture adsorption isotherms and thermodynamic properties of penaeus vannamei meat with and without maltodextrin addition. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 25, 1348-1367. <https://doi.org/10.1080/10498850.2015.1073204>
- Sun, D. W. 1999. Comparison and selection of EMC/ERH isotherm equations for rice. *Journal of Stored Products Research*, 35: 249-264. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(99\)00009-0](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(99)00009-0)
- Timmermann, E. O., Chirife, J., & Iglesias, H. A. (2001). Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? *Journal of*

Food Engineering, 48, 19–31. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00139-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00139-4)

Trujillo, F. J., Yeow, P. C., Pham, Q. T. (2003). Moisture sorption isotherm of fresh lean beef and external beef fat. *Journal of Food Engineering*, 60, 357–366. doi:10.1016/S0260-8774(03)00058-X

Tsami, E. (1991). Research note: net isosteric heat of sorption in dried fruits. *Journal of Food Engineering*, 14: 327–335. [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(91\)90022-K](https://doi.org/10.1016/0260-8774(91)90022-K)

Turkish Food Codex, (2019). Turkish Food Codex Notification No. 2018/52 on raw and

processed meat and poultry meat and their compounds.

Vega-Galvez, A., Lopez, J., Miranda, M., Di Scala, K., Yagnam, F., & Uribe, E. (2009). Mathematical modelling of moisture sorption isotherms and determination of isosteric heat of blueberry variety O'Neil. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 2033–2041. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02027.x>



THE CHARACTERISTICS OF GOAT SKINS USED IN THE PRODUCTION OF TULUM CHEESE AND CHANGES IN RIPENING ENVIRONMENTS

İlhan Gün^{1**}, Zeynep B. Güzel-Seydim²

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Burdur Food, Agriculture and Livestock Vocational High School, Department of Food Processing, Burdur, Türkiye

²Suleyman Demirel University Department of Food Engineering, Isparta, Türkiye

Received / Geliş: 27.01.2022; Accepted / Kabul: 09.08.2022; Published online / Online baskı: 22.08.2022

Gün, İ., Güzel-Seydim, Z.B. (2022). The characteristic of goat skins used in the production of Tulum cheese and changes in ripening environments. *GIDA* (2022) 47 (5) 729-743 doi: 10.15237/gida.GD22015

Gün, İ., Güzel-Seydim, Z.B. (2022). Tulum peyniri üretiminde kullanılan keçi derilerinin karakteristikleri ve olgunlaştırma ortamlarındaki değişimler. *GIDA* (2022) 47 (5) 729-743 doi: 10.15237/gida.GD22015

ABSTRACT

The present study aimed to determine the physical, chemical, and textural properties of goatskin used in the production of Tulum cheese and the traditional and industrial ripening conditions. Natural ripening conditions (caves) and some parameters (temperature, humidity, oxygen, and CO₂ values) of the cold storage of the dairy plants were examined between March and October. It was determined that the temperature and moisture content of the natural cave where cheese ripening was carried out was different from that of the dairy factory storage conditions. The oxygen and carbon dioxide ratios were similar in both ripening conditions. The effects of skin thickness, fat, and skin structure, especially tensile strength, elongation break, tear strength, air, water vapor, and oxygen permeability properties were statistically significant. The goatskins' tensile strength, elongation at break and tear strength values were 9.16-36.48 daN, 22.57-81.57 N, and 35.4-150.28 N/mm, respectively. When used as a casing material for the ripening of Tulum cheese, the effect of the skin's properties such as Oxygen, water vapor, and air permeability on the product was found to be significant. The present study determined that goatskin's outward air permeability was 6.6-10.95 times higher than the inward air permeability.

Keywords: Tulum cheese, goatskin, ripening, packaging

TULUM PEYNİRİ ÜRETİMİNDE KULLANILAN KEÇİ DERİLERİNİN KARAKTERİSTİKLERİ VE OLGUNLAŞTIRMA ORTAMLARINDAKİ DEĞİŞİMLER

ÖZ

Çalışma, Tulum peyniri üretiminde kullanılan keçi derisinin fiziksel, kimyasal ve dokusal özelliklerini ve geleneksel olgunlaşma koşullarını belirlemeyi amaçlamaktadır. Çalışmada, Mart ve Ekim ayları arasında doğal olgunlaşma koşulları (mağara) ve süt işletmelerinin soğuk hava depolarının bazı parametreleri (sıcaklık, nem, oksijen ve CO₂ miktarı) incelenmiştir. Peynir olgunlaşmasının gerçekleştirildiği doğal mağara sıcaklık ve nem içeriğinin işletme koşullarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Her iki olgunlaşma koşulunda oksijen ve karbondioksit oranı benzer bulunmuştur. Deri kalınlığı, yağ ve deri maddesi içeriği özellikle kopma dayanımı, uzama ve yırtılma, hava, su buharı ve

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: igun@mehmetakif.edu.tr

☎: (+90) 248 213 2273

☎: (+90) 248 213 2288

İlhan Gün; ORCID no: 0000-0003-0047-273X

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

oksijen geçirgenliği üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Derilerin kopma dayanımı, uzama ve yırtılma değerleri sırasıyla 9.16-36.48 daN, 22.57-81.57 N ve 35.4-150.28 N/mm olarak belirlenmiştir. Ayrıca tulum peynirinin olgunlaşması için ambalaj malzemesi olarak kullanıldığında derinin oksijen, su buharı ve hava geçirgenliği gibi özelliklerinin ürün üzerindeki etkisi önemlidir. Bu çalışmada keçi derisinin içten dışa doğru hava geçirgenliğinin, dıştan içe doğru hava geçirgenliğinden 6.6-10.95 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Tulum peyniri, keçi derisi, olgunlaşma, ambalaj

INTRODUCTION

Tulum cheese is one of the most common cheeses consumed in Turkey and differs from other cheese types in terms of its characteristics. Tulum cheese had been previously produced locally on a small scale, however, over time, due to increasing consumer interest, it has been produced in larger quantities and exported. It has been reported to support regional and international development as a branded product among traditional cheeses (Çiftçi and Durukan, 2020). Goat skin has been used for cheese ripening and is called Tulum in Turkish. Currently, it is replaced by semi-synthetic salami cases, cloth, plastic, glass, cube, or pottery due to the effect of many factors such as the decrease in the number of small cattle, legal obstacles brought by the forest law, regulations established within the framework of harmonization with the European Union laws, and the ease of use (Duman-Aydın and Gülmez, 2008; Gün et al., 2015; Rençber, 2016; Arslaner and Türkmen, 2020). However, many researchers state that Tulum cheeses obtained from these materials do not provide the desired characteristic of Tulum cheese taste and aroma (Güven and Konar, 1994; Koçak et al., 1996; Tomar et al., 2018). On the other hand, another study emphasized that the ripening of Tulum cheese in glass jars and plastic packaging also positively affected the sensory qualities (Bostan, 1991; Tarakçı et al., 2005).

Goatskin has been used as a packaging material in the production of Tulum cheese for centuries as well as in many areas in the leather industry. It is a unique natural product with its chemical composition and other properties (Toptaş, 1998). The skin has many functions in the animal body. The most important ones are protecting the body against external warm/cold conditions, mechanical effects, ultraviolet rays, and microorganisms, and balancing the body

temperature. Skin is a complex organic substance surrounding the animal body from the outside as a sheath and consists of various tissues formed by various cell units. It is similar in terms of histological and chemical properties, however, it is a unique structure that changes according to each animal species (Orpak, 2001). The use of goatskin as a casing/ripening material in the production of Tulum cheese may vary among different regions. Tulum cheese is generally stuffed into the inner part of the skin. However, the cheese is stuffed on the outer hairy surface after the skin hair is shaved in the Aegean Region, especially in and around the Manisa province. The skin that will be used as the packaging material must be prepared for use after shaving the hair of the goat (Dağ, 2020). Although this is not regarded as essential in production due to the economical circumstances, it creates serious hygiene and economical problems during the supply, production, and storage of the material in industrial production. Also, goatskin is important in terms of durability and protection and should not pose hygienic problems. However, it has been stated that the skin used in the standard production of Tulum cheese should not belong to an animal with anthrax to prevent disease transmission to humans (Anonymous, 2016a). Therefore, the hygienic risk of the skins to be used in Tulum cheese and the challenges during industrial production have focused the research on the use of alternative packaging materials for skin bags. However, the most significant deficiency seen in alternative casing/packaging materials for Tulum cheese is the absence of the structural and permeability properties of the skin. Especially the water vapor permeability of the skin and the permeability of oxygen and carbon dioxide are important criteria. Although the permeability of many alternative materials does not show similar properties to that of goatskin, its permeability is prevented by being coated with

barrier materials. For example, while hygienic glass packaging is an advantage, its lack of permeability is an important disadvantage in cheese ripening. Primarily, in products in which moisture content is not balanced, various defects can be observed including body softening, oversour, and bitter taste (Hayaloglu et al., 2007a).

In the ripening process of Tulum cheese, the characteristics of the ripening environments are as important as the characteristics of the casing/packaging material. The importance of natural cheese ripening environments has been historically well-known. For example, the world-famous French cheese, Roquefort, is ripened in the Combalou mountain caves. Vertical faults in these caves provide natural ventilation and a unique ripening environment. Caves provide a storage area that keeps a constant temperature of 9°C and humidity of 95% (Renneberg et al., 2017). Thus, the cheese stored in the cave is properly ventilated. A similar case is observed in Kars Kashar cheese ripening rooms. Producers use the northerly winds for good ventilation and ripening of the Kashar cheese and adjust the windows in the direction of the wind (Demir, 2016). Similarly, Tulum cheese is traditionally ripened in natural caves.

The ripening of Tulum cheese in the goatskin under natural conditions provides important textural and flavor characteristics. The previous studies do not provide adequate information on the chemical, physical, and permeability properties of goatskin used in packaging. The present study aimed to determine: 1-Some properties of the goatskins used in the production of traditional Tulum cheese, 2- Conditions of ripening environments (natural caves and storages of cheese plants) between March and October.

MATERIAL AND METHODS

Material

Ten dried goatskins from different manufacturers were obtained from the Burdur province and its districts. Goatskins were preserved by salinating.

Ripening Environments

The data on the cold storage conditions of seven companies that produce Tulum cheese, two caves

in the neighboring villages of the Barla District in the Isparta province, and one cave in the village of the Atabey district, where Tulum cheese is ripened in goatskins, were determined. Among these caves, which are 40-80 km away from Isparta, the Kapacık village sinkhole is approximately 25-40-meter deep and has an area of 80-90 m².

Preparation of Skin Samples for Test and Analysis

The physical and chemical properties of the skins were tested according to TS EN ISO 2418 (Anonymous 2017a) and TS EN ISO 2419 (Anonymous, 2012), respectively. The samples were tested after being kept for 48 hours at 20°C in a standard room with 65% relative humidity (Anonymous, 2012; 2017a). For chemical analysis, the skins were pre-dried at 50°C and used after grinding in a Retsch Mühle (Haan, Germany) cutter mill (Anonymous, 2017b).

Histopathological Method

Tissue samples were fixed in a 10% buffered formalin solution. The tissue samples were processed using tissue processing equipment (Leica ASP300S, Leica Microsystem, Nussloch, Germany) and embedded in paraffin wax. A fully automatic rotary microtome took five-micron thickness sections from the paraffin blocks (Leica 2155, Leica Microsystem, Nussloch, Germany). After drying, the preparations were passed through alcohol and xylol series, stained with hematoxylin-eosin (HE), mounted with a coverslip, and examined under a light microscope (Luna, 1968).

Physical Tests of the Samples

The samples were conditioned and prepared following the related standards (Anonymous, 2012; 2017a). The thickness values were measured using a digital micrometer (Satra STD 483, UK) (Anonymous, 2016c). The morphological structures were displayed using a scanning electron microscope (Jeol JSM-6060LV Model, Tokyo, Japan).

Chemical Analysis of Skin Samples

Sample Preparation for Chemical Analysis

Skin samples were cut into 10-mm-squares according to TS EN ISO 4044 (Anonymous, 2017b). Since raw skins deteriorate due to their protein and fat contents, samples were taken to the pre-drying process in an oven at 50°C. Then, the samples were ground in a Retsch Mühle (Haan, Germany) cutter mill with a 700-1000rpm-rotation speed and a 4-mm-diameter perforated sieve table. The prepared samples were mixed thoroughly and stored in clean, dry, and airtight plastic bags.

The pH Value of the Skins

The samples were weighed at 5 ± 0.05 g, 100 mL of distilled water was added, and shaken for 6 hours by an orbital shaker. Following the filtering, the acidity of the filtrate was measured by a pH meter (Metrohm 827, Sweden) (Anonymous, 2018a).

Hide Substance Analysis

After weighing 0.3-0.5 g of the prepared skin samples, the total nitrogen content was analyzed by the Kjeldahl method (Velp UDK 126 D, Italy). The amount of hide substance was calculated by multiplying the percentile nitrogen value by the coefficient of 5.75 (Anonymous, 2018b).

Fat Analysis

Fat analysis of the skin samples was carried out adopting the Randall Method. The samples were weighed (4 g) and placed in a solvent extraction device (Anonymous, 2018c).

Tensile Strength and Elongation at Break Test

The tensile strength tests of the samples were performed according to the related standard (TS EN ISO 3376). The specimens were taken from the mid-E point from the mid-point of E, E, and AB, and the mid-point of E and CD, of the skin (Shimadzu AG IS, Japan) (Anonymous, 2016b). The arithmetic mean of the measurements for the thickness of the test samples was taken.

Tear Strength Test

The curved ends of the tool to the skin sample were attached and the device was run (Shimadzu

AG IS, Japan). The value of the force applied to the skin sample at the time of complete tearing was determined. (Anonymous, 2020).

Water Vapor Permeability Test

Water vapor permeability tests were performed according to the ASTM F1249-0 standard by Satra STM 473 (UK) (Anonymous, 2011a). The test sample (outer diameter 34 mm) is placed in the mouth of the bottles with freshly-dried silica gel at the rate of 2/3. At the end of the conditioning (16-24 hours), the bottles are removed from the device, and freshly dried silicas brought to a constant weight in the desiccator are placed in the second bottle and the skin samples are placed. The second bottle is weighed as quickly as possible on a precision scale (initial weighing) to record the weighing weight and time. The bottles are placed in the carrier, and the device is operated for 16 hours. Subsequently, the bottles are taken and weighed (final weighing), and the time is recorded.

Oxygen Permeability Analysis

After being conditioned in accordance with the standard (Anonymous, 2012, 2017a), the air permeability values of the samples were determined in the air permeability measuring device (Devotrans, Istanbul, Turkiye). Measurements were carried out at 23°C, 0% relative humidity, and 1 bar pressure (Anonymous, 2010).

Visual Displays of the Samples by Scanning Electron Microscope (SEM)

The samples were taken from the skins. The morphology of the skin's surface and cross-section of the skins were investigated under SEM (Jeol JSM-6060LV, Tokyo, Japan).

Ripening Conditions Analysis

Temperature and humidity measurements of the natural ripening place and dairy factory were measured by the USB Data Logger (Extech Instruments, RHT10, Waltham, USA). Oxygen and carbon dioxide values were measured using GMI Visa (4-Gas Version, Scotland-England) instruments.

Statistical Analysis

The analysis of variance (ANOVA) was performed using the general linear model (GLM) procedure to compare the different treatments at a 95% confidence level. TUKEY's multiple comparison test performed pairwise comparisons of statistically significant features. The correlation of goatskins variables was estimated by the Pearson correlation coefficient. Statistical analysis of the experimental data was performed using the SPSS 13.0 statistical software.

Results and Discussion

Physical properties of goatskin

In the production of Tulum cheese, goat and sheepskins, called Tulum or Tuluk, are used as a whole. However, there are also Tulum cheeses that are offered for sale in smaller skins of 3-5 kg (Ozturkoglu-Budak et al., 2015). In the study, goat skin was purchased as a whole, which had no scratches or tears and was used in the analysis. The size of the skins used in the present study was approximately 0.6-0.7 m². Gerhard (1996) has stated that the size of goatskin is approximately 0.5-0.9 m², and that of suckling lamb is 0.2-0.5 m². There must be no deformations such as scratches and tears on the goatskin surface to prevent Tulum Cheese quality. Deformations such as cuts or tears on the skin can accelerate the deterioration of the cheese towards the interior by bacterial contamination or contact with air. Assefa et al. (2012) found that a scratch was detected in 22.5%, and a scar was detected in 11.3% of 400 skin samples. These skins must be sewn in such a way so that they don't let air pass through before curd pressing into the Tulum.

In the present, differences were determined between the thickness values of the samples (Table 1). This was mainly associated with the animal's age or body weight (Thiruvankadan and Panneerselvam, 2008). It has been reported that the goatskin thickness of a 5-10 kg body weight was 2.44 mm, while the goatskin thickness of a 25 kg body weight was 3.37 mm. The dermis layer, known as the chorium or cutis, is the part of the animal body that protects against physical impacts/hits and injury, balances the body temperature, and constitutes approximately 85%

of the total skin thickness (Toptaş, 1998). The dermis layer of a male goat consists of thick and dense connective tissue. Therefore, it is indicated that the dermis layer of the thoracal regio of males is thicker than that of females. The epidermis layer, which covers the upper part of the skin, constitutes 1-2% of the total skin thickness (Toptaş, 1998). Furthermore, the papillare and reticulare layers have a smooth collagen fiber distributed irregularly and a solid rough collagen layer (Suwiti et al., 2019). These structures may affect the thickness of the skin.

Goatskins are stronger than sheepskins, and both of them possess air and oxygen permeability (Hayaloglu et al., 2007b). The amount of sebaceous and sweat glands in goatskin is lower and smaller compared to that of sheepskin. Therefore, goatskin is more durable because it does not have a spongy-like structure (Harmancioğlu and Dikmelik, 1993). The present study showed that goatskin's outward air was 6.6-10.95 times higher than inward air permeability. The results in Table 2 show a positive correlation between goatskins' air and oxygen permeability but a negative correlation between water vapor permeability. In general, the skins of female animals are thinner but more flexible than the skins of males. Since the structural properties of the tissues can be different in young and old animal skins, the rate of substance transfer such as water and air from the skin also changes. Therefore, the amount of water they contain, the protein structure, and the amount and quality of intercellular substances differ significantly (Anonymous, 2011b). The epidermis varies between 1-2 and 6% of the total skin thickness in goatskins. Collagen fiber bundles are thicker and contain more fibers, making goat skins more durable (Orpak, 2001). For all these reasons, it has been thought that the permeability properties such as air and water vapor of the goatskin change.

Table 1. Some chemical and physical properties of skin samples¹

Skin Properties	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mean
pH	6.18± 0.03 ^{c2}	6.56± 0.01 ^b	5.78± 0.02 ^c	6.05± 0.02 ^d	5.80± 0.02 ^c	6.10± 0.01 ^{cd}	6.71± 0.01 ^{ab}	5.80± 0.03 ^c	5.85± 0.04 ^c	6.61± 0.03 ^a	6.15± 0.03
Fat (%)	1.38± 0.03 ⁱ	10.21± 0.03 ^b	4.28± 0.02 ^f	14.56± 0.32 ^a	2.24± 0.06 ^h	2.07± 0.11 ^b	5.76± 0.02 ^e	3.80± 0.09 ^g	6.16± 0.03 ^d	7.16± 0.02 ^c	5.76± 0.15
Total nitrogen (%)	10.77 ±0.05 ⁱ	15.84± 0.03 ^c	15.98± 0.03 ^c	16.85± 0.20 ^a	14.28 ±0.04 ^f	13.44 ±0.05 ^g	14.61 ±0.02 ^e	12.81 ±0.02 ^h	14.81 ±0.02 ^d	16.48 ±0.02 ^b	15.01± 0.18
Hide Substance (%)	61.95 ±0.22 ⁱ	91.10± 0.19 ^c	91.87± 0.20 ^c	96.86± 0.58 ^a	82.15 ±0.23 ^f	77.28 ±0.28 ^g	84.05 ±0.11 ^e	73.70 ±0.12 ^h	85.18 ±0.10 ^d	94.78 ±0.12 ^b	86.32± 1.64
Thickness (mm)	0.54± 0.01 ^d	0.88± 0.01 ^b	0.88± 0.02 ^b	1.41± 0.02 ^a	0.56± 0.01 ^d	0.63± 0.01 ^d	0.68± 0.03 ^{cd}	0.74± 0.01 ^c	0.83± 0.02 ^b	0.84± 0.01 ^b	0.80± 0.01
Tensile strength (daN)	9.16± 0.34 ⁱ	36.48± 1.20 ^a	15.38± 0.02 ^g	25.68± 0.02 ^c	15.79 ±0.03 ^f	14.42 ±0.11 ^h	18.28 ±0.03 ^e	18.31 ±0.03 ^e	19.42 ±0.06 ^d	28.71 ±0.18 ^b	20.17± 2.69
Elongation at Break (%)	22.57 ±0.19 ⁱ	65.37± 0.08 ^b	55.79± 0.09 ^c	81.57± 2.20 ^a	25.37 ±0.06 ^h	24.90 ±0.23 ^h	42.83 ±0.04 ^f	40.87 ±0.03 ^g	61.37 ±0.06 ^c	57.78 ±0.04 ^d	47.80± 7.99
Tear strength (N/mm)	35.40 ±3.20 ^h	119.91 ±0.39 ^b	110.94 ±0.06 ^c	150.28 ±4.24 ^a	42.07 ±0.04 ^g	44.23 ±0.06 ^g	78.47 ±0.25 ^f	80.19 ±0.09 ^f	95.54 ±0.24 ^d	88.36 ±0.06 ^c	84.26± 11.88
Air Permeability (from outside to inside surface) (Liter/day)	12670 ±6.25 ^a	883± 49 ^f	618± 25 ^f	400± 2.67 ^g	8393± 11 ^b	7648± 42 ^c	6493± 26 ^d	1232± 27 ^e	1308± 12 ^e	1318± 21 ^e	3760 ±3.15
Air Permeability (from inside to outside surface) (Liter/day)	83520 ±20.4 ^a	4380± 5.32 ^k	8551± 65 ⁱ	4544± 41 ^k	45425 ±116 ^b	37112 ±184 ^c	14746 ±30 ^h	28964 ±200 ^d	17644 ±112 ^c	16894 ±86 ^{fg}	26130 ±23.78
Water Vapor Permeability (mg H ₂ O/cm ² h)	3320.6 ±32 ^a	1511± 7 ^g	2687± 9 ^{dc}	1234.9 ±8.26 ^b	1670± 23 ^g	2263± 71 ^f	2629± 43 ^c	3128± 21 ^{ab}	2969± 38 ^{bc}	2870± 42 ^{cd}	2423.3 ±535
Oxygen Permeability (cc/m ² day)	4481± 26.84 ^a	619±2. 52 ^g	574±5. 87 ^g	229.1± 3.42 ^h	2310± 29.1 ^b	1667± 14.5 ^c	1603± 21.7 ^c	1484± 15.2 ^d	1370± 8.65 ^c	1089± 8.22 ^f	1538.21 ±820

¹ Data are the averages of triplicates

² a, b: Means within a row with different lowercase letters show significant differences between goatskin samples, *P* < 0.05

Table 2. Correlation of the skin properties

Variables	pH	Fat	Total Nitrogen	Hide Substance	Thickness	Tensile Strength	Elongation at Break	Tear Strength	Air Permeability ^a	Air Permeability ^b	Water Vapor Permeability	Oxygen Permeability
pH	Pearson Correlation	1	.301	.213	.213	-.013	.507	.145	.088	.057	-.192	-.067
	Sig. (2-tailed)		.398	.554	.554	.971	.135	.690	.809	.875	.596	.855
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Fat	Pearson Correlation	.301	1	.750*	.750*	.916**	.779**	.918**	.898**	-.671*	-.720*	-.592
	Sig. (2-tailed)	.398		.013	.013	.000	.008	.000	.000	.034	.019	.071
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Total Nitrogen	Pearson Correlation	.213	.750*	1	1.000**	.718*	.712*	.819**	.794**	-.761*	-.887**	-.531
	Sig. (2-tailed)	.554	.013		.000	.019	.021	.004	.006	.011	.001	.115
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Hide Substance	Pearson Correlation	.213	.750*	1.000**	1	.718*	.712*	.819**	.794**	-.761*	-.886**	-.530
	Sig. (2-tailed)	.554	.013	.000		.019	.021	.004	.006	.011	.001	.115
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Thickness	Pearson Correlation	-.013	.916**	.718*	.718*	1	.552	.908**	.914**	-.717*	-.677*	-.494
	Sig. (2-tailed)	.971	.000	.019	.019		.098	.000	.000	.020	.031	.146
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Tensile Strength	Pearson Correlation	.507	.779**	.712*	.712*	.552	1	.732*	.688*	-.673*	-.700*	-.500
	Sig. (2-tailed)	.135	.008	.021	.021	.098		.016	.028	.033	.024	.141
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Elongation at Break	Pearson Correlation	.145	.918**	.819**	.819**	.908**	.732*	1	.973**	-.857**	-.821**	-.369
	Sig. (2-tailed)	.690	.000	.004	.004	.000	.016		.000	.002	.004	.294
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Table 2. Correlation of the skin properties (continue)

Variables	pH	Fat	Total Nitrogen	Hide Substance	Thickness	Tensile Strength	Elongation at Break	Tear Strength	Air Permeability ^a	Air Permeability ^b	Water Vapor Permeability	Oxygen Permeability
Pearson Correlation	.088	.898**	.794**	.794**	.914**	.688*	.973**	1	-.865**	-.847**	-.413	-.832**
Tear Strength Sig. (2-tailed)	.809	.000	.006	.006	.000	.028	.000		.001	.002	.236	.003
N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Pearson Correlation	.057	-.671*	-.761*	-.761*	-.717*	-.673*	-.857**	-.865**	1	.874**	.177	.891**
Air Permeability ^a Sig. (2-tailed)	.875	.034	.011	.011	.020	.033	.002	.001		.001	.624	.001
N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Pearson Correlation	-.192	-.720*	-.887**	-.886**	-.677*	-.700*	-.821**	-.847**	.874**	1	.395	.969**
Air Permeability ^b Sig. (2-tailed)	.596	.019	.001	.001	.031	.024	.004	.002	.001		.259	.000
N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Pearson Correlation	-.067	-.592	-.531	-.530	-.494	-.500	-.369	-.413	.177	.395	1	.465
Water Vapor Permeability Sig. (2-tailed)	.855	.071	.115	.115	.146	.141	.294	.236	.624	.259		.176
N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Pearson Correlation	-.049	-.700*	-.883**	-.883**	-.720*	-.670*	-.793**	-.832**	.891**	.969**	.465	1
Oxygen Permeability Sig. (2-tailed)	.892	.024	.001	.001	.019	.034	.006	.003	.001	.000	.176	
N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

*Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

^aFrom outside to inside surface (Liter/day)

^bFrom inside to outside surface (Liter/day)

Similarly, tensile strength, elongation at break, and tear strength values of the skin samples showed differences. These three parameters provide important information about the strong structure of the skin. According to the findings detected in different gender and age groups, the tensile strength and elongation at break values of hair goatskins were 12.3-18.0 N/mm² and 38.16-65.92%, respectively (Gün et al., 2015). The tear strength values of the skin samples were between 34.75 and 56.29 N/mm, and the water vapor and air permeability values were between 0.46 and 0.82 mg/cm².h, and 9.27 and 38.90 cm³/cm².sec, respectively. In a study on Sudan desert goatskin, elongation at break, tensile strength, and flexibility degree values were 58.3%, 194.4 kg/cm², and 3.3 in the male goatskin, respectively. However, the same values were 61.8%, 159.1 kg/cm², and 2.1 in female goats, respectively (Ebrahiem, 2016). These physical properties were associated with the non-homogeneous distribution of the collagen structure in the skin (Maxwell, 2007). This shows that it stretches better when the skin has a higher elongation value, and there can be more space between the fibers for moisture loss. Therefore, it is easier to remove the water from the cheese, and, hence, the cheese can be preserved for a longer time. Thus, the chemical,

biochemical, and microbiological quality of the cheese would slightly change.

A histopathological examination was carried out to determine a possible deterioration in the skin tissue, and the results are given in Figure 1. Accordingly, no lesions were observed in the skin samples. The tissue sample of an unhealthy goatskin is shown in Figure 2. The epidermis, one of the skin layers, consists of epithelial cells, including hair follicles and sweat and sebaceous glands, and is located in the skin (Figure 1). All layers of the skin are included in Tulum cheese however, the epidermis is removed from the original skin layer during the tanning process in the leather industry.

Chemical properties of goatskin

The chemical analysis results of the goatskins used in this study are presented in Table 1. The pH values in skin samples were between 5.78 and 6.71. Since anionic or cationic values can be obtained according to the amino acid content of the skin, pH values can vary (Harmancioglu and Dikmelik, 1993). Gün et al. (2015) determined that the pH values of the skin samples changed in the range of 6.3-6.6. However, in the leather industry, the pH value changes due to tanning (Nasr et al., 2013). The fat in goatskin prepared

for cheese pressing is affected by the fat in the skin structure and the amount of residual fat in the skin that has not been adequately washed. Mainly meat and adipose tissue residues can remain on the skin during the salting and drying phase and change the skin properties. It was determined that the fat and hide substance content of the skin samples varied significantly between 1.38 and 14.56%, and 61.95 and 96.86%, respectively. It was observed that the fat value varies considerably in goat samples of different breeds. The fat value was determined to be 5% (Dikmelik, 1978), 2.77-8.08% (Gün et al., 2015) in hair goatskin and 11% (Eke, 1997) in angora goatskin, and 30% (Sharphause, 1983) in sheepskin. Lipolysis and proteolysis of fat and hide nitrogen content in the skin structure can take place by the microorganisms found on the

skin or the raw cheese curd. Therefore, the bitter peptides that occur can cause the cheese to exert a rancid aroma, especially on the inner surface of the skin. Mainly meat and adipose tissue residues can remain on the skin during the salting and drying phase and can change the skin properties. The hypodermis, the lower skin layer, consists of connective tissue that provides the bond between the skin and the animal's body. This layer consists of loose connective tissues and a fat layer (Suwiti et al., 2019). Since this layer is not removed properly, it is thought that the fat content, air, oxygen, and water vapor permeability of the goatskin to be used as cheese packaging material will be affected. In addition, it is thought that it will affect many parameters such as moisture loss, texture, and aroma compounds formation during cheese ripening.

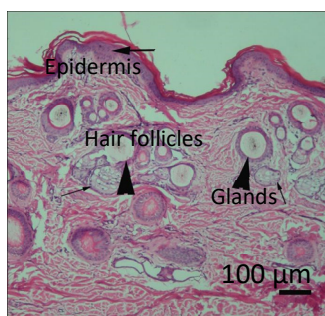


Figure 1. Textural structure of goatskin

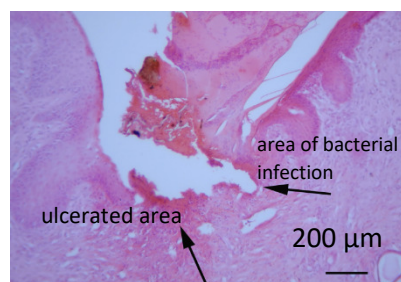


Figure 2. Textural structure of ulcer-infected goatskin

Furthermore, an increase in the composition of fat and hide substance in the skin significantly affects the physical properties of the skin (Table 2). According to the correlation of the skin variables, it was found that an increase in the fat and hide substance ratio has positive effects on thickness, tensile strength, elongation at break and tear strength, and adverse effects on air permeability, water vapor permeability, and oxygen permeability properties of the goatskin. In other words, the increase in skin thickness, fat, and protein content significantly reduces air, water vapor, and oxygen permeability.

In the present study, the hide substance value belonging to hair goats was 86.32%. The correlation between the hide substance and tensile strength variables was statistically significant as

the case in tear strength and elongation at break ($P < 0.05$) (Table 2). Previous studies determined that the hide substance value of hair goats was 44-64% (Eke, 1997) and 81.72% (Dikmelik, 1978). In two-year-old animals, this value was determined to be 80.28% in females and 77.30% in males (Eke, 1997). In another study on hair goatskin properties, the hide substance ratio was 51.81-62.89% (Gün et al., 2015). The protein structure of the skin is composed of collagen, which has a fibrillar structure. During moistening of the dried skin, the skin becomes flexible by expanding the volume of collagen with the swelling property. This is related to water particles entering the collagen fibrils with osmotic pressure (Harmancioglu and Dikmelik, 1993). Since this structure forms the basis of the skin and provides the skin with its physical properties, it is described

as a hide substance (Eke, 1997). Depending on the animal species, the changes in the collagen value also affect the characteristics of Tulum cheese pressed in these goatskin casings (Gün et al., 2015). It is thought that the increase in hide substance and fat content may also affect the oxygen and water vapor permeability of the skin. According to the correlation of the skin variables, an increase in fat and hide substance ratio has a significant positive effect on thickness, tensile strength, elongation at break and tear strength, whereas a negative effect on air permeability,

water vapor permeability, and oxygen permeability properties of the goatskin. In other words, the increase in skin thickness, fat, and protein content significantly reduces air, water vapor, and oxygen permeability.

SEM Images of Goatskin Visual Displays of the Samples by Scanning Electron Microscope.

Photographs of goat skins taken using a scanning electron microscope are shown in Figure 3.

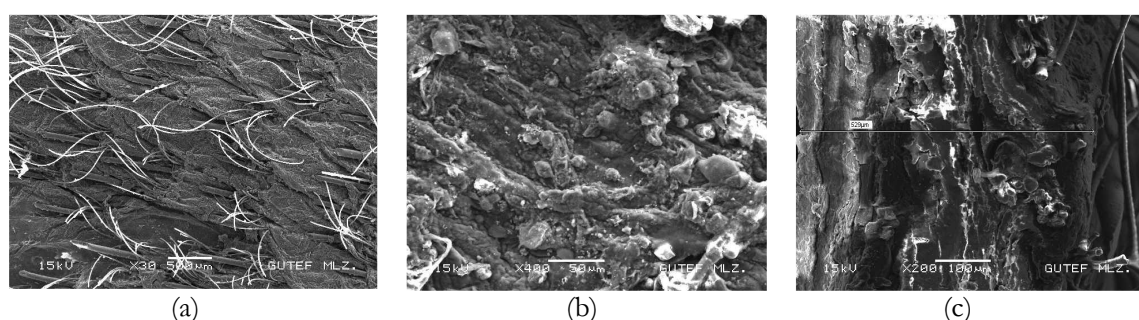


Figure 3. SEM images of the outer surface (a, 30 times magnification), the inner surface (b, 400 times magnification), and the vertical orientation (c, 200 times magnification) of skin samples

The cubic crystal structures of the sodium chloride molecules can be seen on the skin's surface by SEM micrograph. The sizes of salt crystals were between 10 and 20 micrometers. The average pore size of the skins was found to be 15 micrometers. It was thought that the small size of the salt molecules facilitated its penetration into the cross-section of the skin, and thus the skins were preserved by salt molecules effectively. Despite the cleaning of the skin to be used in the production of Tulum cheese, photographs showed that the hairs and other residues on the outer surface remained. As seen in the scanning electron microscope images, the fat meat residues on the inner surfaces and the hairs on the outer surface affect the skin's water vapor and gas permeability, thickness, and strength (Table 2). During cheese ripening, microorganisms, especially yeast and mold, play an important role. Since the whey released from the cheese curd and the moisture absorbed from the environment causes the skin's outer surface to remain moist, it is thought that unwanted microorganism growth can take place.

A Natural Cave and Cold Storage Conditions for the Ripening of Tulum Cheese

In the present study, data were collected every 15 days during the 8-month (March-October) ripening period in which traditional production is carried out. Therefore, data collection was initiated and ended simultaneously with the ripening periods in natural cave conditions and cold storage in dairy factories. Data on the cold storage conditions of seven companies that produce Tulum cheese, two caves in the neighboring villages of the Barla District of Isparta province, and one cave (called sinkhole) in the village of Atabey district, where Tulum cheese is ripened in goatskin, were collected (Tables 3 and 4). Among these caves, which are 40-80 km away from Isparta, the Kapacık village sinkhole is approximately 25-40 m deep and has an area of 80-90 m² (Figure 4).

The average temperature in the caves was 7.03°C, and the relative humidity was 92.30%. The atmospheric composition consisted of 20.91% oxygen, however, it was determined that the

carbon dioxide levels were below the limit value that the device use could read. The mean storage temperature and the relative humidities were 5.37°C and 77.65%, respectively, in the cold storage of the Tulum cheese companies. Due to the airflow in cheese ripening rooms and caves, it was deemed that the environment had an appropriate atmospheric composition. No information was found in the literature regarding such an evaluation. Similarly, caves are used in the ripening of other international cheeses. For example, the ripening process of Roquefort cheese is traditionally carried out in the mountain caves of Combalou. The natural ventilation of the cave is due to the formation of the cave by vertical faults providing airflow. Thus, a natural storage area is provided in the caves, keeping the temperature constant at 9°C and humidity at 95%. (Renneberg et al., 2017). Tağa cheese's ripening, traditional Romanian cheese, is also carried out in the cave with a unique microflora. This cave has a temperature of 14-15°C and 90-95% humidity (Criste et al., 2020). The one-year average temperature and humidity of the Peynirini Cave were found to be 6°C and 99.6%, respectively (Dağlı et al., 2020).

Many world-famous cheese types are ripened either in caves or in special cellars (Tudor Kalit et al., 2010, Kalit et al., 2016). Especially, cave conditions should be suitable for the quality of the cheese produced. Caves are used to ripen skin Tulum cheese, especially in the highlands of Eastern Anatolia, Central Anatolia, Eastern Black Sea, and Mediterranean regions in Turkey. The internal temperature of the Divle sinkhole is 5-10°C, and the relative humidity is 85% (Kan et al., 2010; Ozturkoglu-Budak et al., 2015). In the Geographical Indication Registry Document (CIRC), it is emphasized that the temperature of the Divle sinkhole should be +4°C and the humidity should be 80% (Anonymous, 2017c). However, the temperature of many plateaus in summer can vary in the range of 12-18°C, depending on the altitude. Day and night temperatures can be different in these regions (Kirdar et al., 2015). It is stated that the unique cellars where Erzincan Şavak Tulum cheese is ripened feature 6-8°C temperature and 75-80%

relative humidity (Akyüz, 1981). However, it has been stated in the CIRC that Erzincan Tulum cheese is matured for 4 months at -2 – 0°C (Anonymous, 2001).

During this study, it was observed that Tulum cheese is stored in plastic bags at 20-25°C for 5-7 days before the curd is produced in industrial production and then ripened at low storage temperatures by pressing the skin. In addition, it was determined that the cold storage of the dairy factory is not only used for Tulum cheese but also for other dairy products, therefore, the temperature of the cold storage is kept lower. According to the data obtained in the present study, it was determined that only 2 of 7 different Tulum cheese plants producing Tulum cheese kept the products at an average of 2°C. The mean temperature of the dairy factory producing only Tulum cheese was determined to be 7-9°C. This temperature almost was the same as that of the cave conditions. It was observed that, apart from the temperature data of the ripening room belonging to two dairy plants, the temperature data of the other companies were similar to the data obtained in the caves. Kurt and Öztekin (1984) determined the storage temperature of the Erzincan Meat and Fish Institution, where Tulum cheeses are stored, to be 2-3°C and relative humidity to be 80-82%. The findings obtained in the present study were compatible with the data reported by Kurt and Öztekin (1984). The high temperature and moisture content of the natural ripening conditions significantly affect the cheese microflora and enzymatic activity, thus changing the chemical, biochemical and microbiological quality of the Tulum cheese (Tekin and Güler, 2019). Also, the growth of yeast and mold on the goatskin under natural ripening conditions and the reproduction of insect species such as mites on the skin and fecal residues of these insects can pose a risk in terms of food safety. It has been stated that biogenic amines formed as a result of microbial decarboxylation from amino acids as a result of proteolysis during ripening increase in cheese samples. Especially, histamine, tyramine, tryptamine putrescine, and cadaverine levels increase (Durlu-Özkaya et al., 2000). In Turkey, there are no standards on production technology

in the production of Tulum cheese. The ripening conditions of cheeses produced, especially in the highlands and for those stored in natural environments vary. Therefore, the characteristics of Tulum cheeses vary. Standardizing the industrial production conditions will eliminate the risks in the production and storage of the Tulum

cheese. Even if the production standardization of the products that have received the CI certificate has been achieved, there are currently no standards regarding the skins used. In particular, the properties of goat/sheep skins used in the cheese ripening with CI certificates should be examined.



Figure 4. Sinkhole of Kapacık Village

Table 3. Some characteristics of natural ripening conditions (cave and sinkhole) by months

Parameter	March	April	May	June	July	August	September	October
Temperature (°C)	9.57	8.77	7.40	6.77	6.43	5.83	6.30	6.45
Humidity (%)	86.60	90.27	92.28	92.97	92.42	93.08	94.20	93.73
Atmosphere composition	Oxygen (%)	20.9	20.9	20.9	20.9	20.9	20.9	20.9
	Carbon dioxide (%)	BLV	BLV	BLV	BLV	BLV	BLV	BLV

BLV: Below the limit value that the device can read

Table 4. Some characteristics of cold storage conditions in the dairy factory by months

Parameter	March	April	May	June	July	August	September	October
Temperature (°C)	5.49	5.74	5.72	5.33	5.08	5.26	5.27	5.19
Humidity (%)	79.90	80.76	76.94	77.56	76.95	75.91	76.60	77.69
Atmosphere composition	Oxygen (%)	20.91	20.96	20.91	20.9	20.9	20.9	20.9
	Carbon dioxide (%)	BLV	BLV	BLV	BLV	BLV	BLV	BLV

BLV: Below the limit value that the device can read

CONCLUSION

Tulum cheese is an important type of cheese for Turkey. It is traditionally produced in the highlands during spring and summer. The ripening process following the stuffing/pressing the curd in goatskin is a crucial factor for Tulum cheese to gain its unique taste and aroma. The use of female or male animal skins as a packaging material, in addition to the racial characteristics, can change the quality of Tulum cheese. However, examining the characteristics of goatskin, the chemical, physical and textural properties significantly vary. Also, the change in temperature and humidity values of ripening warehouses is an essential factor that would affect the ripening level of Tulum cheese. Therefore, to obtain a standard quality Tulum cheese, besides the values at the production stages, optimum casing type and storage conditions should be determined and advised. There is no information about the characteristics of traditional ripening materials in products that have received a geographical indication registration certificate. Therefore, it is important to examine the packaging material properties of cheese varieties that have received this certificate and are ripened in the skin.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflicts of interest for this article.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

İlhan Gün and Zeynep B. Güzel-Seydim contributed to the conception and planning of the research. İlhan Gün obtained data from caves and dairy factories. The goat skin analyzes were carried out by İlhan GÜN. Both authors contributed to the writing of the article.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Ege University Leather Engineering Department and Prof. Dr. Mehmet Mete Mutlu. We would like to thank Prof. Dr. Özlem ÖZMEN for her laboratory support.

FUNDING

This research has been financially supported by the Scientific Research Projects Unit of Suleyman Demirel University, Isparta, Turkey, Project Number: 1877-D-09.

REFERENCES

- Akyüz, N. (1981). Erzincan (Şavak) Tulum peynirlerinin yapılışı ve bileşimi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12, 85-112.
- Anonymous, (2001). Erzincan Tulum Cheese, Turkish Patent and Trademark Office, Geographical Indication Registration Certificate, Registration number: 30, Registration time: 29.08.2001, Ankara, Türkiye.
- Anonymous, (2010a). Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor, ASTM-D-3985-05. Pennsylvania, United States, 7 p.
- Anonymous, (2011a). Standard test method for water vapor transmission rate through plastic film and sheeting using a modulated infrared sensor, ASTM F1249-0, Pennsylvania, United States, 6 p.
- Anonymous, (2011b). Chemical Technology, Ovine skins. <http://cygm.meb.gov.tr/modulerprogramlar/kursprogramlari/kimya/moduller/KucukbasHayvanDerileri.pdf>, (Accessed 25 August 2021)
- Anonymous, (2012). Leather- Physical and mechanical tests- Sample preparation and conditioning "TS EN ISO 2419, Turkish

- Standards Institution Publication, Necatibey Str. No:112, Bakanlıklar, Ankara, 6 p.
- Anonymous, (2016a). Tulum Cheese Standard. TS 3001, Turkish Standards Institution Publication, Necatibey Str. No:112, Bakanlıklar, Ankara, 9 p.
- Anonymous, (2016b). Leather- Physical and mechanical tests- Determination of tear load- Part 2: Double edge tear, TS 4118-2 EN ISO 3372-2, Turkish Standards Institution Publication, Necatibey Str. No:112, Bakanlıklar, Ankara, 5 p.
- Anonymous, (2016c). Leather- Physical and mechanical tests- Determination of thickness TS 4117 EN ISO 2589, Turkish Standards Institution Publication, Necatibey Str. No:112, Bakanlıklar, Ankara, 9 p.
- Anonymous, (2017a). Leather- Chemical, physical and mechanical, and fastness tests- Sampling location, TS EN ISO 2418, Turkish Standards Institution Publication, Necatibey Str. No:112, Bakanlıklar, Ankara, 11 p.
- Anonymous, (2017b). Leather- Chemical tests- Preparation of chemical test samples, TS EN ISO 4044, Turkish Standards Institution Publication, Necatibey Str. No:112, Bakanlıklar, Ankara, 3 p.
- Anonymous, (2017c). Karaman Divle Shinkhole Tulum Cheese, Turkish Patent and Trademark Office, Geographical Indication Registration Certificate, Registration number: 270, Registration time: 08.12.2017, Ankara, Türkiye.
- Anonymous, (2018a). Leather- Chemical tests- Determination of pH, TS EN ISO 4045, Turkish Standards Institution Publication, Necatibey Str. No:112, Bakanlıklar, Ankara, 13 p.
- Anonymous, (2018b). Leather-Determination of Nitrogen Content and "Hide Substance"- Titrimetric Method, TS 4134, Turkish Standards Institution Publication, Necatibey Str. No:112, Bakanlıklar, Ankara, 6 p.
- Anonymous, (2018c). Leather- Chemical tests- Determination of matter soluble in dichloromethane and free fatty acid content, TS EN ISO 4048, Turkish Standards Institution Publication, Necatibey Str. No:112, Bakanlıklar, Ankara, 17 p.
- Anonymous, (2020). Leather- Physical and mechanical tests- Determination of tensile strength and percentage extension, TS EN ISO 3376, Turkish Standards Institution Publication, Necatibey Str. No:112, Bakanlıklar, Ankara, 9 p.
- Arslaner, A., Türkmen, Ö. (2020). Erzincan Tulum Cheese. *Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology*, 8(4): 932-940. doi: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i4.932-940.3170>.
- Assefa, M., Tesfaye, D., Taye, M. (2012). A Study on The Prevalence of Sheep And Goat Skin Defects in Bahır Dar Tannery, Ethiopia, *Journal of Animal and Feed Research*, 2 (4): 384-387.
- Bostan, K. (1991). A study on the use of starter cultures in Tulum cheeses., İstanbul University, Veterinary Faculty, Ph.D. thesis, İstanbul, Turkey, 106 p.
- Çaglayan, P., Birbir, M., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A. (2018). Detection of industrially potential enzymes of moderately halophilic bacteria on salted goat skins, *Turk Journal Biochemistry*, 43 (3): 312–322. doi: <https://doi.org/10.1515/tjb-2017-0127>.
- Cevizci, S., Gökçe, S., Bostan, K., Kaypmaz, A. (2010). A View of mites infestation on cheese and stored foods in terms of public health, *Turkish Society for Parasitology*, 34 (3): 191-199.
- Criste, A., Copolovici, L., Copolovici, D., Kovacs, M., Madden, R.H., Corcionivoschi, N., Gundogdu, O., Berchez, M., Urcan, A.C. (2020). Determination of changes in the microbial and chemical composition of T₁ aga cheese during maturation, *Plos One*, 3, 1-14. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242824>.
- Çiftci, H.S., Durukan, T. (2020). Measuring consumer brand equity of Erzincan tulum cheese, *Erzincan University Journal of Social Sciences Institute*, 13 (1): 122-140. doi: <http://0000-0003-0017-8426>.
- Dağ, T. (2020). Geleneksel peynirlerin gastronomi turizmi açısından değerlendirilmesi: İzmir Örneği, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir, 163 s.

- Dağlı, A., Sert, D., Uzun, A. (2020). Using caves in cheese ripening, a case study: Peynirini Cave, Derbent/ Konya, Turkish Geographical Review, 75, 131-138, Doi: 10.17211/tcd.809065.
- Demir, M. (2016). Coğrafi işaret örneği olarak kars kaşar peynirinin üretimi ve dağılımı, Kafkas Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, Ek Sayı 1, 61-81 Doi:10.9775/kausbed.2016.033.
- Dikmelik, Y. (1978). İşlenmek üzere İzmir tabakhanelerine gelen kıl keçisi derileri üzerinde araştırmalar, Ege Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü Deri Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora tezi, İzmir, 104 s.
- Duman-Aydın, B., Gülmez, M. (2008). Erzincan Tulum peyniri üretiminde alternatif yöntemlerin araştırılması. *Kafkas Üniv Vet Fak Dergisi*, 14 (1): 67-73.
- Durlu-Özkaya, F., Ayhan, K., Özkan, G. (2000). Biogenic amine determination in Tulum cheese by high-performance liquid chromatography. *Milchwissenschaft*, 55, 27-28.
- Ebrahiem, M.A. (2016). Leather quality of some Sudan Desert sheep and goats, *Acta Fytotechn. Zootechn.*, 19, (1): 15-21.
- Eke, E.E. (1997). Tiftik keçi derilerinin teknolojik özellikleri üzerinde bir araştırma, Ege Üni. Fen Bil. Ens. Deri Teknolojisi Anabilim Dalı., Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 65 s.
- Fourneau, M., Canon, C., Van Vlaender, D., Collins, M.J., Fiddymont, S., Poumay, Y., Deparis, O. (2020). Histological study of sheep skin transformation during the recreation of historical parchment manufacture. *Herit Sci* 8, 78. doi: <https://doi.org/10.1186/s40494-020-00421-z>.
- Gerhard, J. (1996). Possible defects in leather production, Definitions, causes, consequences, remedies, and types of leather, Hemsbach, Germany, ISBN 3-00-001555-8.
- Gün, İ., Mutlu, M.M., Adıgüzel Zengin, C., Güzel, G., Seydim, Z.B. (2015). Farklı ırk cinsiyet ve yaştaki hayvan derilerinin özelliklerinin belirlenmesi ve tulum peyniri üzerine etkisinin incelenmesi, Tübitak Proje No 112O536, Ankara.
- Güven, M., Konar, A. (1994). İnek sütünden üretilen ve farklı materyallerde olgunlaştırılan Tulum peynirlerinin fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri. *Gıda*, 19 (5): 287-293.
- Harmancıoğlu, M., Dikmelik, Y. (1993). Ham deri. Yapısı, Bileşimi, Özellikleri, Özen Ofset, İzmir. 337 s.
- Hayaloglu, A.A., Fox, P.F., Guven, M., Cakmakçı, S. (2007a). Cheeses of Turkey: 1. Varieties ripened in goat-skin bags, 87 (2007) 79-95, Doi: 10.1051/lait:2007006.
- Hayaloglu, A.A., Çakmakçı, S., Brechany, E.Y., Deegan, K.C., McSweeney, P.L.H., (2007b). Microbiology, biochemistry, and volatile composition of Tulum cheese ripened in goat's skin or plastic bags. *Journal of Dairy Science*, 90, 1102-1121. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71597-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71597-7).
- Kalit, S., Matić, A., Salajpal, K., Sarić, Z., Tudor Kalit, M., (2016). Proteolysis of Livanjski cheese during ripening, *Journal of Central European Agriculture*, 17(4): 1320-1330, doi: 10.5513/JCEA01/17.4.1852.
- Kan, M., Gülçubuk, B., Kan, A., Küçükçongar, M. (2010). Coğrafi işaret olarak Karaman Divle Tulum peyniri, *KMÜ Sosyal ve Ekonomik Araştırmalar Dergisi* 12 (19): 15-23.
- Kayalvizhi, N., Anthony, T., Gunasekaran, P. (2008). Characterization of the predominant bacteria associated with sheep and goat Skin, *Alca*, 103, 182-187.
- Kirdar, S.S., Kose, S., Gun, İ., Ocak, E., Kursun, O. (2015). Do consumption of Kargi Tulum cheese meet daily requirements for minerals and trace elements?, *Mljekarstvo*, 65 (3), 203-209, doi: 10.15567/mljekarstvo.2015.0307.
- Koçak, C., Gürsel, A., Avşar, Y.K., Semiz, A. (1996). Ankara piyasasındaki Tulum peynirlerinin bazı nitelikleri. *Tr. Journal of Agriculture and Forestry*, 20, 121-125.
- Kurt, A., Öztek, L. (1984). Şavak Tulum peynirinin yapım tekniği üzerine araştırmalar, *Atatürk Üni. Ziraat Fak. Dergisi*, 15 (3-4): 65-77.

- Luna, L.G. (1968). Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd ed. McGraw- Hill Book Company, New York. pp: 36-37.
- Maxwell, C.A. (2007). Animal Hide Processing: Impact on Collagen Structure, School of Optometry and Vision Sciences, Cardiff University, PhD thesis, 201 p.
- Nasr, A.I., Abdelsalam, M.M., Azzam, A.H. (2013). Effect of tanning method and region on physical and chemical properties of Barkı sheep leather, *Egyptian Journal of Sheep and Goat Sciences*, 8 (1): 123-130.
- Orpak, A. (2001). Kış keçi derilerinde boyama sorunlarının giderilmesi, Süleyman Demirel Üni. Fen Bilim. Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı., Yüksek Lisans tezi, Isparta, 42 s.
- Ozturkoglu-Budak, S., Gursoy, A., Aykas, D.P., Koçak, C., Dönmez, S., de Vries, R.P., Bronll, P.A. (2015). Volatile compound profiling of Turkish Divle Cave cheese during production and ripening, *Journal of Dairy Science*, 99: 5120–5131, <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10828>.
- Papakçı, S., Fırat, A. (2003). The determination of collagen in Kıvrıcık and Dağlıç Iamb skins and the influence on finished leathers, *Journal of Faculty Veterinary Medicine*, 29 (2): 195-202.
- Renneberg, R., Berkling, V., Loroç, V. (2017). Chapter 1 - Beer, Bread, and Cheese: The tasty side of biotechnology, Editor(s): Reinhard Renneberg, Viola Berkling, Vanya Loroç, Biotechnology for beginners (Second Edition), Academic Press, ISBN 9780128012246, pp: 1-3.
- Rençber, F. (2016). Oğlak derisi ve plastik bidonda olgunlaştırılan muş tulum peynirinin bazı karakteristik özellikleri ve gıda güvenliği açısından değerlendirilmesi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye, 91 s.
- Salehi, M., Kadim, I., Mahgoub, O., Negahdari, Sh. Eshraghi Naeni, R.S. (2014). Effects of type, sex and age on goat skin and leather characteristics, *Animal Production Science*, 54 (5): 638-644. doi: <https://doi.org/10.1071/AN13032>.
- Sharphouse, J.H. (1983). Leather technician's handbook. Leather producer's association. Buckland Press, London, 212 p.
- Suwiti, N.K., Putri, M.Y.E., Suastika, P., Setiasih, N.L.E., Heryani, L.G.S.S., Susari, N.N.W. (2019). Histological Structure of The Thoracic and Abdominal Region Skin of The Etawah Goats Cross Breed, *Buletin Veteriner Udayana*, 11 (1) 94-101. doi: 10.24843/bulvet.2019.v11.i01.p15.
- Tarakçı, Z., Küçüköner, E., Sancak, H., Ekici, K. (2005). İnek sütünden üretilerek cam kavanozlarda olgunlaştırılan tulum peynirinin bazı özellikleri *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (1): 9-14.
- Tekin, A., Güler, Z. (2019). Glycolysis, lipolysis and proteolysis in raw sheep milk Tulum cheese during production and ripening: Effect of ripening materials, *Food Chemistry*, 286, 160-169. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.190>.
- Thiruvankadan, A.K., Panneerselvam, S. (2008). Skin thickness in relation to age and body weight in Kanni Adu goats, *Indian Veterinary Journal*, 85, 1057-1059.
- Tomar O, Akarca G, Beykaya M, Çağlar A. (2018). Some characteristics of Erzincan Tulum cheese produced using different probiotic cultures and packaging material. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24 (5): 647-654, doi: 10.9775/kvfd.2018.19596.
- Toptaş, A. (1998). Deride kalite tespiti ve deri teknolojisi, Sade Ofset Matbaacılık, İstanbul, 55 s.
- Tudor Kalit, M., Kalit, S., Havranek, J. (2010). An overview of researches on cheeses ripening in animal skin, *Mlječarstvo*, 60 (3): 149-155.
- Yaman, M., Sevinç, F., Altınöz, F., Uslu, U. (2000). Research on *Acarus siro* in moldy cheese and cheese in a skin. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 24 (3): 313-316.

THE EFFECT OF DIFFERENT UV-C ILLUMINATION DOSES ON POSTHARVEST QUALITY OF FRESH FIG

Hayri Üstün¹, Adem Doğan^{1,2*}

¹Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Akdeniz University, Antalya, Türkiye

²Department of Plant and Animal Production, Elmalı Vocational School, Akdeniz University, Antalya, Türkiye

Received / Geliş: 05.07.2022; Accepted / Kabul: 11.08.2022; Published online / Online baskı: 26.08.2022

Üstün, H., Doğan, A. (2022). The effect of different UV-C illumination doses on postharvest quality of fresh fig. *GIDA* (2022) 47 (5) 744-753 doi: 10.15237/gida.GD22063

Üstün, H., Doğan, A. (2022). Farklı dozlarda UV-C ışın uygulamalarının taze incirin hasat sonrası kalitesi üzerine etkileri. *GIDA* (2022) 47 (5) 744-753 doi: 10.15237/gida.GD22063

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effects of 1.5, 3.0 and 4.5 kJ/m² UV-C illumination doses on the postharvest quality of fresh fig (cv. Bursa Siyahı). For this purpose, fruit were stored at 0 °C temperature with 90-95% humidity for 21 days and some fruits were kept at 20 °C for 3 days to simulate a period of shelf-life. UV-C treatments did not affect fruit firmness, total soluble solids, and titratable acidity content during cold storage and shelf-life. On the other hand, UV-C doses increased total phenolic content and antioxidant activity compared to control. In both storage conditions, 3.0 and 4.5 kJ/m² UV-C doses were found to be more effective to control unmarketable fruit rate. In conclusion, a 4.5 kJ/m² UV-C illumination dose can be effective in maintaining the postharvest quality of fresh fig fruit harvested at a 2/3 maturity stage.

Keywords: Antioxidant activity, decay, commercial ripe stage, shelf-life, storage

FARKLI DOZLARDA UV-C IŞIN UYGULAMALARININ TAZE İNCİRİN HASAT SONRASI KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ÖZ

Bu çalışmada, farklı UV-C ışın dozlarının taze incir meyvesinin (cv. Bursa Siyahı) hasat sonrası kalitesi üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla incir meyvelerine 1.5, 3.0 ve 4.5 kJ/m² UV-C ışın dozları uygulanmış ve sonrasında 21 gün boyunca 0 °C sıcaklıkta %90±5 oransal nemde depolanmıştır. Soğuk depolamaya ek olarak, raf ömrü performanslarını belirlemek için meyveler 3 gün 20°C ve %70±5 oransal nemde bekletilmiştir. Soğuk depolama ve raf ömrü koşullarında UV-C uygulamaların meyve sertliği, suda çözünebilir kuru madde ve titre edilebilir asit içeriği üzerine etkileri önemsiz bulunmuştur. Buna karşılık UV-C dozları kontrole göre toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteyi artırmıştır. Her iki muhafaza koşulunda da artan pazarlanamaz ürün miktarının azaltılmasında 3.0 ve 4.5 kJ/m² UV-C ışın dozları daha etkili bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda, 2/3 olgunluk döneminde hasat edilen taze incir meyveleri için 4.5 kJ/m² UV-C ışın dozunun hasat sonrası kalitesinin korunmasında etkili olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan aktivitesi, çürüme, ticari olum aşaması, raf ömrü, depolama

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: ademdogan@akdeniz.edu.tr

☎: (+90) 242 310 2482

☎: (+90) 242 310 2479

Hayri Üstün; ORCID no: 0000-0003-1876-0481

Adem Doğan; ORCID no: 0000-0002-8578-5841

INTRODUCTION

Fresh figs are highly attractive fruit due to the delicious taste, rich biochemical and pomological properties. The total fig production is approximately 1.3 million tons and Türkiye is the main producer followed by Egypt, Morocco, Iran, and Algeria (FAOSTAT, 2022). Fresh figs are consumed worldwide and have huge potential to increase export, especially in Mediterranean countries. Unfortunately, fresh fig is perishable fruit, and its postharvest life is generally limited to 1-2 weeks in full ripe stages and 2-4 weeks in 2/3 ripe stages depending on pre- and post-harvest factors (Doğan and Erkan, 2022). For this reason, most of the fig fruits are consumed in the market close to the production areas. Developments in transportation sectors are increased to the fresh fig trade in the world.

Fresh fig fruit mostly suffers from fungal decay, weight loss, and softening in both cold storage and shelf-life conditions (Dogan, 2022). Numerous pathogens can cause deterioration and high postharvest losses under unsuitable storage conditions, especially under shelf-life. Postharvest losses can reach up to 30-50% in shelf-life following the 5-7 days cold storage period and increase when the fruit is harvested in rainy periods (Karabulut et al., 2009). The presence of ostiole opening, delicate structure, and short postharvest life of fig make it difficult to manage in postharvest operations, and to control these difficulties, alternative methods, which can be transferred into practice, are needed. Alternative treatments to chemicals have been gaining popularity due to the increase in health and environmental concerns in many countries.

Postharvest UV-C illumination is one of the alternative methods to chemicals for preventing the decay in many horticultural crops (Costa et al., 2006; González-Aguilar et al., 2010; Dogan et al., 2018; Ustun et al., 2021). According to the results of UV-C illuminations on different horticultural products, in general, UV-C illumination promotes the accumulation of antioxidant enzymes, increases the phenolic content, and improves fruit antioxidant capacity (Erkan et al., 2008; Pinheiro et al., 2015). It has been revealed that UV-C

illumination also reduced weight loss, lowered respiration rate (Cote et al., 2013; Freitas et al., 2015), decreased the activity of cell wall degradation enzymes and delayed the fruit softening (Barka et al., 2000; Pombo et al., 2009). Postharvest life and fruit quality are affected by harvest maturity in many fruits and vegetables (Erkan and Dogan, 2019). Harvest time is particularly crucial in reducing postharvest losses in products with a short post-harvest life such as fig (Dogan et al., 2020). Fresh figs are harvested considering the distance to the consumption region. If the production site is close to the target market, the fig is harvested at the full maturity stage, while if they are far from the target market, they are harvested earlier. There is a few research conducted on the effects of UV-C illumination on fresh fig fruit. Bal (2012) reported that UV-C treatment for 20 min from a distance of 50 cm is effective to control decay in the 'Bursa Siyahi' fig cultivar. Usberti and Ferraz (2021) reported that 0.71, 1.32, 2.64, and 4.01 kJ/m² UV-C treatments did not affect fig ripening, however, UV-C treated fruits had lower decay than the control fruit. On the other hand, 4.01 kJ/m² UV-C treatment resulted in undesirable epidermis stains in 'Roxo de Valinhos' figs stored at 10 and 20°C. The current study aimed to determine the effects of different UV-C illumination doses on some quality parameters of the fresh fig fruit harvested at the 2/3 stage of maturity during the cold storage and shelf-life.

MATERIAL AND METHOD

Fruit materials

The fresh fig (cv. Bursa Siyahi) fruit were harvested at Fig Research Institute in Aydin, Türkiye. After harvest, the fruit were placed in carton boxes containing viols. Fresh figs were harvested at commercial maturity stage (2/3 colored peel) and were immediately transported with refrigerated truck into postharvest physiology laboratory of Department of Horticulture at Akdeniz University in Antalya, Türkiye. The fruit were selected according to size and maturity stage, and any defected fruit were excluded from the study.

UV-C illumination

UV-C treatments were performed in a specially designed illumination chamber. In this system, UV-C treatment was applied to the fruit while passing through a closed chamber. This specially designed equipment provides fruits to be turned as they move on the packaging line under a UV-C lamp. Hence, UV-C illumination can reach all fruit surfaces. UV-C dose adjustments were done with the help of a UV meter before the treatments. Harvested fruit were divided into four different groups for different UV-C illumination doses. The first group of fruit was not treated with UV-C illumination and used as a control group. The second, third and fourth group of fruit were treated 1.5, 3 and 4.5 kJ/m² UV-C illumination doses, respectively.

Storage conditions

UV-C treated, and control fruit were stored at 0 °C and 90-95% RH for 21 days. Fresh fig samples were taken from cold storage at 7 days intervals for different analyses. At each analysis time, the shelf-life performance was determined by removing the fruits from the cold storage to 20 °C and 70-75% RH conditions for 3 days.

Methods

The firmness of fruit was determined by using a penetrometer measuring the peeled equatorial region on 3 different sides of the fruit. Fruit firmness was shown as average of these measurements and results were given as Newton (N).

For total soluble solids (TSS) and titratable acidity (TA) contents, fig fruits were smashed with a blender and weighed 1 g of puree. There after 10 mL ddH₂O was added and samples were centrifuged at 6000 g for 10 min at 4 °C. Total soluble solid (TSS) content was measured from the supernatant. The TSS contents of the samples were measured with a digital refractometer and given as a percentage (%). The titratable acidity (TA) was determined by taking 2 mL supernatant from extraction for TSS and adding 38 mL of distilled water. The prepared samples were titrated with 0.1 N NaOH to an endpoint of pH 8.1. Each sample was titrated thrice, and the

means were calculated. The TA was expressed in percent malic acid.

For total phenolic content (TPC) and total antioxidant activity (TAA) fresh figs were smashed with blender and weighed 1 g of puree. There after 10 mL 80% methanol added the tube and was centrifuged at 6000 g for 10 min at 4 °C. The supernatant was used for total phenolic content (TPC) and total antioxidant activity (TAA).

TPC in fresh figs were determined according to the Folin-Ciocalteu based method (Spanos and Wrolstad, 1990). Briefly, 0.1 mL supernatant was mixed with 0.9 mL of ddH₂O and 5 mL of 0.2 N Folin-Ciocalteu reagent in colored test tube for determined the TPC. The mixtures were incubated at the room temperature for 3 min and then 4 mL of sodium carbonate (75 g/L) was added. Before the measurement of absorbances, sample tubes were incubated in the dark for 2 h. The absorbances were measured at 765 nm by spectrophotometer against a blank. TPC in fresh figs were reported as mg of gallic acid equivalent per 100 g (mg GAE/100 g).

Total antioxidant activity (TAA) analysis was carried out according to the method specified by Benvenuti et al. (2004). Samples of 20, 40, 60, 80 and 100 µL of the extract prepared for total phenol analysis were taken and added to glass tubes in which 600 µL of DPPH radical was placed before. Immediately afterward, 80% methanol was added to give a total volume of 6 mL of the glass tube. The same method was followed by not adding a sample extract to the control sample. The tubes were mixed by vortex and incubated for 15 min at room temperature. The measurements were done at 517 nm wavelength with a spectrophotometer and the TAA activity was expressed as % inhibition. The concentration that gave 50% inhibition of the radical was calculated as EC50 fw/mg.

Each fruit was evaluated individually and any visible deterioration on the surface was rated as unmarketable. The unmarketable fruit rate was

found by proportioning the total number of fruit and expressed as a percentage (%).

The statistical analyses were conducted in a totally randomized design with three replicates and each replicate contained fifteen figs. Parameters of treatment, storage time and interaction between treatment and storage time were tested using a general linear model with using XLSTAT (version 2016.02.28451). The Tukey (HSD) test was used to compare the means and interaction ($P \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Firmness is one of the most important features in determining the storage and shelf life of horticultural crops. Soft fig fruits are highly perishable compared to firm fruit. For this reason, fruit of 'Bursa Siyahi' fig cultivar is harvested in the firm stage before the fully colored stage for exportation. Fruit firmness tends to decrease during storage and shelf life. There were no statistical differences between UV-C illumination doses and firmness, however, storage time significantly affected fig firmness in both conditions (Table 1). It is thought that structural changes in cell wall components such as pectin, hemicellulose, and cellulose are responsible for firmness (Seymour et al., 1990). Barka et al. (2000) reported that UV-C illumination reduced cell wall degradation and preserves fruit firmness by decreasing the activity of cell wall degrading enzymes on tomatoes. Similarly, UV-C illumination reduced softening at strawberries (Cote et al., 2013). However, Perkins-Veazie et al. (2008) reported fruit firmness was not affected by UV-C illumination on blueberries. Hemmaty et al. (2007) reported that fruit firmness was not affected by UV-C irradiation at shelf-life on apples. This study also revealed that UV-C illuminated 'Red Delicious' apples were significantly firmer, but UV-C had no effect on the firmness of 'Golden Delicious' apples. It is thought that the differences between these studies may be due to the species, cultivar, treatment dose, maturity stage and ripeness characteristics of fruits.

Total soluble solids (TSS) content increased up to 14 days of cold storage, then decreased at the end

of the storage but the concentration was still higher than harvest value at the end of the storage (Table 1). TSS content increased at the 7-day cold storage plus 3-day shelf-life but did not change remaining the shelf-life (Table 2). The increasing trend in TSS for a certain period of time is thought to be related to the maturity level of the fruit. Similarly, this increasing trend was also found by Bahar and Lichter (2018) in 'Ottomonit' fresh fig. On the other hand, there were no differences between UV-C doses on TSS content (Table 1). Similarly, UV-C illumination did not affect TSS content in lime (Pristijono et al., 2019), pineapple (Sari et al., 2016), apple (Hemmaty et al., 2007), strawberry (Cote et al., 2013) and tomato (Liu et al., 2009).

Titrateable acidity (TA) content decreased during cold storage (Table 1). Similarly, TA content decreased until 7 days of cold storage plus 3 days and remained unchanged in the following shelf-life (Table 2). The reduction in TA content may be part of the maturation process and/or may be due to its use in the respiratory. UV-C doses did not affect TA content in fig fruit harvested at 2/3 maturity stage. Usberti and Ferraz (2020) were tested 0.71, 1.32, 2.64 and 4.01 kJ/m² UV-C illumination in 'Roxa de Valinhos' figs and they reported that TA content did not significantly change neither storage temperature (10- and 20°C) nor UV-C doses after 7-days storage. On the other hand, Bal (2012) reported that 10- and 20-min UV-C treated fig fruit had slightly higher TA content than the control and 5 min UV-C treated fruit after 28 days of storage while UV-C treatment and storage time interaction was not found significant. The application methods and fruit maturity stages can be caused these differences.

Total phenolic content (TPC) of figs increased during the storage period while it decreased after 7 days cold storage plus 3-day shelf-life. The highest TPC was determined in 4.5 kJ/m² UV-C treated fruit while the lowest was in control and 1.5 kJ /m² UV-C treated fruit at the end of the cold storage (Table 1). In the shelf-life condition, TPC increased with increasing UV-C doses and the 3.0 and 4.5 kJ/m² UV-C treated fruit had more

phenolic content then the 1.5 kJ/m² UV-C dose (Table 2). Similarly, UV-C treatments increased TPC in strawberry (Erkan et al., 2008), blueberry (Perkins-Veazie et al., 2008), tomato (Bravo et al., 2012, Liu et al., 2012), mandarin (Shen et al., 2013) and broccoli (Dogan et al., 2018). These findings showed that UV-C illumination causes stress and increases phenolic compounds because of the

activation of the phenolic synthesis process. It was shown that UV-C treatment also increased activity and expression of the enzyme which is related to the phenolics (Ouhibi et al., 2014). UV-C treated tomatoes had higher TPC and this increment was explained phenylpropanoid pathway and phenolic accumulation (Liu et al., 2018).

Table 1. Effects of UV-C doses on fruit firmness, TSS, TA, TPC, TAA and unmarketable fruit rate of 'Bursa Siyahi' fresh figs during cold storage at 0 °C.

Parameter	Treatment	Storage time (days)				Mean
		0	7	14	21	
Fruit firmness (N)	Control	12.69 ^y	10.83	9.56	8.76	10.46 ^x
	1.5 (kJ/m ²)	12.69	11.05	9.65	8.87	10.56
	3.0 (kJ/m ²)	12.69	11.23	9.67	8.77	10.59
	4.5 (kJ/m ²)	12.69	11.28	10.18	9.17	10.83
	Mean	12.69 ^a	11.10 ^b	9.77 ^{bc}	8.89 ^c	
TSS (%)	Control	15.17 ^y	15.33	16.50	16.50	15.88 ^x
	1.5 (kJ/m ²)	15.17	15.33	17.17	15.67	15.83
	3.0 (kJ/m ²)	15.17	16.33	16.83	16.33	16.17
	4.5 (kJ/m ²)	15.17	16.67	17.00	16.33	16.29
	Mean	15.17 ^c	15.92 ^b	16.88 ^a	16.21 ^b	
TA (Citric acid)	Control	0.57 ^y	0.46	0.39	0.34	0.44 ^x
	1.5 (kJ/m ²)	0.57	0.42	0.35	0.34	0.42
	3.0 (kJ/m ²)	0.57	0.39	0.35	0.35	0.41
	4.5 (kJ/m ²)	0.57	0.35	0.33	0.30	0.39
	Mean	0.57 ^a	0.41 ^b	0.36 ^{bc}	0.33 ^c	
TPC (mg/100g)	Control	39.50 ^h	42.26 ^h	64.70 ^{ef}	118.03 ^b	66.12 ^c
	1.5 (kJ/m ²)	39.50 ^h	43.41 ^h	71.40 ^{de}	121.43 ^b	68.93 ^c
	3.0 (kJ/m ²)	39.50 ^h	48.89 ^{gh}	79.25 ^{cd}	127.60 ^{ab}	73.81 ^b
	4.5 (kJ/m ²)	39.50 ^h	57.35 ^{fg}	85.48 ^c	136.45 ^a	79.70 ^a
	Mean	39.50 ^d	47.97 ^c	75.21 ^b	125.88 ^a	
TAA (EC ₅₀ /mg)	Control	62.32 ^y	59.26	56.46	49.92	56.99 ^a
	1.5 (kJ/m ²)	62.32	57.00	54.28	42.87	54.12 ^{ab}
	3.0 (kJ/m ²)	62.32	56.68	53.57	41.19	53.44 ^{ab}
	4.5 (kJ/m ²)	62.32	51.84	48.22	32.95	48.83 ^b
	Mean	62.32 ^a	56.20 ^{ab}	53.13 ^b	41.73 ^c	
Unmarketable fruit rate (%)	Control	-	0.00 ^y	6.67	20.00	8.89 ^a
	1.5 (kJ/m ²)	-	0.00	0.00	13.33	4.44 ^{ab}
	3.0 (kJ/m ²)	-	0.00	0.00	6.67	2.22 ^b
	4.5 (kJ/m ²)	-	0.00	0.00	0.00	0.00 ^b
	Mean	-	0.00 ^b	1.67 ^b	10.00 ^a	

TSS: Total soluble solid content; TA: Titratable acidity; TPC: Total phenolic content, TAA: Total antioxidant activity

^x Means in the same column are not significantly different at $P \leq 0.05$ by Tukey's multiple range test.

^y Interaction between treatment and storage time is not significantly different at $P \leq 0.05$ by Tukey's multiple range test.

Effects of UV-C doses on postharvest fig quality

Table 2. Effects of UV-C doses on fruit firmness, TSS, TA, TPC, TAA and unmarketable fruit rate of 'Bursa Siyahi' fresh figs after storage at 0 °C plus 3 days at 20°C.

Parameter	Treatment	Storage time (days)				Mean
		0	7+3	14+3	21+3	
Fruit firmness (N)	Control	12.69 ^y	7.32	7.10	6.21	8.33 ^x
	1.5 (kJ/m ²)	12.69	7.32	7.10	6.17	8.32
	3.0 (kJ/m ²)	12.69	7.34	7.23	6.68	8.48
	4.5 (kJ/m ²)	12.69	7.88	7.25	6.65	8.62
	Mean	12.69 ^a	7.46 ^b	7.17 ^b	6.43 ^b	
TSS (%)	Control	15.17 ^y	17.33	18.00	16.50	16.75 ^x
	1.5 (kJ/m ²)	15.17	16.67	16.17	15.50	15.88
	3.0 (kJ/m ²)	15.17	16.33	17.33	16.33	16.29
	4.5 (kJ/m ²)	15.17	16.33	16.25	16.83	16.15
	Mean	15.17 ^b	16.67 ^a	16.94 ^a	16.29 ^a	
TA (Citric acid)	Control	0.57 ^y	0.38	0.35	0.35	0.41 ^x
	1.5 (kJ/m ²)	0.57	0.37	0.35	0.31	0.40
	3.0 (kJ/m ²)	0.57	0.35	0.33	0.31	0.39
	4.5 (kJ/m ²)	0.57	0.33	0.31	0.31	0.38
	Mean	0.57 ^a	0.36 ^b	0.33 ^b	0.32 ^b	
TPC (mg/100g)	Control	39.50 ^y	114.37	92.15	88.49	83.63 ^c
	1.5 (kJ/m ²)	39.50	121.86	100.22	95.91	89.37 ^{bc}
	3.0 (kJ/m ²)	39.50	132.83	103.91	100.93	94.29 ^{ab}
	4.5 (kJ/m ²)	39.50	134.09	113.26	110.50	99.34 ^a
	Mean	39.50 ^c	125.7 ^a	102.38 ^b	98.96 ^b	
TAA (EC ₅₀ /mg)	Control	62.32 ^y	59.00	53.97	51.85	56.78 ^x
	1.5 (kJ/m ²)	62.32	59.54	54.55	51.76	57.04
	3.0 (kJ/m ²)	62.32	55.83	53.94	47.81	54.98
	4.5 (kJ/m ²)	62.32	53.97	50.22	44.92	52.86
	Mean	62.32 ^a	57.08 ^{ab}	53.17 ^{bc}	49.09 ^c	
Unmarketable fruit rate (%)	Control	-	0.00 ^y	20.00	40.00	20.00 ^a
	1.5 (kJ/m ²)	-	0.00	13.33	33.33	15.56 ^a
	3.0 (kJ/m ²)	-	0.00	13.33	26.67	13.33 ^{ab}
	4.5 (kJ/m ²)	-	0.00	0.00	20.00	6.67 ^b
	Mean	-	0.00 ^c	11.67 ^b	30.00 ^a	

TSS: Total soluble solid content; TA: Titratable acidity; TPC: Total phenolic content, TAA: Total antioxidant activity

^x Means in the same column are not significantly different at $P \leq 0.05$ by Tukey's multiple range test.

^y Interaction between treatment and storage time is not significantly different at $P \leq 0.05$ by Tukey's multiple range test.

Total antioxidant activity (TAA) of figs showed an increasing trend in both storage conditions. During the cold storage UV-C treatment slightly increased TAA but this increase was more evident in 4.5 kJ/m² UV-C treatment (Table 1). The effect of UV-C treatment was not significant at the end of the shelf-life (Table 2). The higher TAA means lower EC₅₀ values. In our study, antioxidant

activity increased during the storage time due to the UV-C illumination and similar result were also reported by Sari et al. (2016), Vicente et al. (2004), Erkan et al. (2008) and Jiang et al. (2010). Jiang et al. (2010) reported that the decrease in enzyme activity was delayed in shelf-life conditions. Liu et al. (2012) reported that 4 and 8 kJ/m² UV-C illuminations improved antioxidant activity and it

was also reported that 2 and 16 kJ/m² UV-C doses lesser extent improved. In our study, it is thought that TAA increased due to the increase in phenolic content during storage. Maharaj et al. (2014) agreed with this argument. Gonzalez-Aguilar et al. (2007) also found a TPC correlation with TAA.

Unmarketable product rate increased after 14-day storage and it reached up to 30% after 21-day cold storage plus 3 days storage at 20 °C. No UV-C damage was detected during storage and shelf-life condition however Usberti and Ferraz, (2020) reported that 4.01 kJ/m² UV-C treatment showed more wilting and stains than the lower doses. This difference between findings can be explained by the variety differences, maturity stages and height of the UV-C lamp. Control fruit showed decay symptoms after 7 days cold storage while 4.5 kJ/m² UV-C treated fruit showed no decay during the cold storage (Table 1). At the end of the cold storage and following shelf-life period 3.0 and 4.5 kJ/m² UV-C treated fruits had lower decay than the other treatments (Table 2). Fresh fig fruit suffers from many fungal decays and decay incidence was more evident especially in shelf-life conditions (Dogan, 2022). Bal (2012) reported that 20 min UV-C treatment decreased decay rate in fresh fig 'Bursa Siyahi' compared to the control and 5 min UV-C treatment. Similarly, Usberti and Ferraz (2020) reported that decay rate increased with increasing storage temperature however this increase was inhibited by UV-C treatment in fresh fig cv. Roxa de Valinhos. Furthermore, many researchers reported that UV-C illumination reduced the decay rate or disease incidence in a variety of products such as peach (Abdipour et al., 2019) strawberry (Erkan et al., 2008), persimmon (Khademi et al., 2013), red pepper (Rodoni et al., 2015) and pineapple (Sari et al., 2016). In addition, UV-C illuminated limes had more acceptability index than control fruits after 28 days of storage (Pristijono et al., 2019).

CONCLUSION

In the current study, UV-C illumination did not significantly affect fruit firmness, TSS, and TA while it increased TPC and TAA. Furthermore, decay rate decreased especially in 4.5 kJ/m² dose

without no visible UV-C damage. UV-C illumination had a positive effect on reducing postharvest loss in fresh figs. Thus, UV-C illumination could be an alternative tool for improving the TPC and TAA of fresh fig. Nevertheless, future study is needed for examining the biochemical changes caused by UV-C in fig fruit at the molecular level and technological studies that will put UV-C illumination into practice at industrial levels.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared that no competing interests exist.

AUTHOR CONTRIBUTION

Hayri Üstün: Writing original draft, formal analysis, data curation, statistical analysis. Adem Doğan: Conceptualization, formal analysis, data curation, writing and editing.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author gratefully acknowledges the support of Fig Research Institute (Aydın, Türkiye) for providing the fruit material. The authors would like to thank Prof. Dr. Mustafa Erkan for the critical review of the manuscript.

REFERENCES

- Abdipour, M., Hosseinifarahi, M., Naseri, N. (2019). Combination method of UV-B and UV-C prevents post-harvest decay and improves organoleptic quality of peach fruit. *Scientia Horticulturae*, 256: 108564, doi: 10.1016/j.scienta.2019.108564.
- Bahar, A., Lichter, A. (2018). Effect of controlled atmosphere on the storage potential of Ottomanit fig fruit. *Scientia Horticulturae*, 227: 196-201, doi: 10.1016/j.scienta.2017.09.036.
- Bal, E. (2012). Effect of postharvest UV-C treatments on quality attributes of fresh fig. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 18(2): 191-196.
- Barka, E.A., Kalantari, S., Makhlof, J., Arul, J. (2000). Impact of UV-C irradiation on the cell wall-degrading enzymes during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry*, 48(3): 667-671, doi: 10.1021/jf9906174.
- Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M.A., Bertelli, D. (2004). Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*. *Journal of Food Science*, 69(3): 164-169, doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb13352.x.
- Bravo, S., García-Alonso, J., Martín-Pozuelo, G., Gómez, V., Santaella, M., Navarro-González, I., Periago, M.J. (2012). The influence of postharvest UV-C hormesis on lycopene, β -carotene, and phenolic content and antioxidant activity of breaker tomatoes. *Food Research International*, 49(1): 296-302, doi: 10.1016/j.foodres.2012.07.018.
- Costa, L., Vicente, A.R., Civello, P.M., Chaves, A.R., Martinez, G.A. (2006). UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology*, 39(2): 204-210, doi: 10.1016/j.postharvbio.2005.10.012.
- Cote, S., Rodoni, L., Miceli, E., Concellón, A., Civello, P.M., Vicente, A.R. (2013). Effect of radiation intensity on the outcome of postharvest UV-C treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 83: 83-89, doi: 10.1016/j.postharvbio.2013.03.009.
- Dogan, A. (2022). Effects of different oxygen levels with high-carbon dioxide atmosphere on postharvest quality of fresh fig under palliflex storage systems. *Horticulturae*, 8(5): 353, doi: 10.3390/horticulturae8050353.
- Dogan, A., Ali, Q., Erkan, M. (2020). Comparison of quality attributes of fig fruit (Bursa Siyahi) harvested at two different maturity stages. *Acta Horticulturae*, 1275: 311-316, doi: 10.17660/ActaHortic.2020.1275.42.
- Dogan, A., Cat, A., Catal, M., Erkan, M. (2018). First report of *Alternaria alternata* causing postharvest decay in fig (*Ficus carica* L. cv. Bursa Siyahi) fruit in Turkey. *Journal of Biotechnology*, 280: S84, doi: 10.1016/j.jbiotec.2018.06.275.
- Doğan, A., Erkan, M. (2022). Postharvest Handling and Storage of Fresh Fig. In: *Ficus carica Production, Cultivation and Uses*, Dalkılıç Z. (ed.), Nova Science Publishers, USA, pp. 185-208.
- Dogan, A., Topcu, Y., Erkan, M. (2018). UV-C illumination maintains postharvest quality of minimally processed broccoli florets under modified atmosphere packaging. *Acta Horticulturae*, 1194: 537-544, doi: 10.17660/ActaHortic.2018.1194.78.
- Erkan, M., Dogan, A. (2019). Harvesting of horticultural commodities. In: *Postharvest Technology of Perishable Horticultural Commodities*, Elhadi, M.Y. (ed.), Woodhead Publishing, USA, pp. 129-159.
- Erkan, M., Wang, S.Y., Wang, C.Y. (2008). Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 48(2): 163-171, doi: 10.1016/j.postharvbio.2007.09.028.
- FAOSTAT, (2022). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Accessed: 4 July 2022).
- Freitas, P.M., López-Gálvez, F., Tudela, J.A., Gil, M.I., Allende, A. (2015). Postharvest treatment of table grapes with ultraviolet-C and chitosan coating preserves quality and increases stilbene content. *Postharvest Biology and Technology*, 105: 51-57, doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.03.011.
- González-Aguilar, G.A., Ayala-Zavala, J.F., Olivas, G.I., De la Rosa, L.A., Álvarez-Parrilla, E. (2010). Preserving quality of fresh-cut products using safe technologies. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 5(1): 65-72, doi: 10.1007/s00003-009-0315-6.
- González-Aguilar, G.A., Villegas-Ochoa, M.A., Martínez-Téllez, M.A., Gardea, A.A., Ayala-Zavala, J.F. (2007). Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. *Journal of Food Science*, 72(3): 197-202, doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00295.x.
- Hemmaty, S., Moallemi, N., Naseri, L. (2007). Effect of UV-C radiation and hot water on the calcium content and postharvest quality of apples. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 5(4): 559-568, doi: 10.5424/sjar/2007054-277.
- Jiang, T., Jahangir, M.M., Jiang, Z., Lu, X., Ying, T. (2010). Influence of UV-C treatment on

- antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and texture of postharvest shiitake (*Lentinus edodes*) mushrooms during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 56(3): 209-215, doi: 10.1016/j.postharvbio.2010.01.011.
- Karabulut, O. A., Ilhan, K., Arslan, U., Vardar, C. (2009). Evaluation of the use of chlorine dioxide by fogging for decreasing postharvest decay of fig. *Postharvest Biology and Technology*, 52(3), 313-315. doi: 10.1016/j.postharvbio.2009.01.006.
- Khademi, O., Zamani, Z., Poor Ahmadi, E., Kalantari, S. (2013). Effect of UV-C radiation on postharvest physiology of persimmon fruit (*Diospyros kaki* Thunb.) cv. Karaj during storage at cold temperature. *International Food Research Journal*, 20(1): 247-253.
- Liu, C., Zheng, H., Sheng, K., Liu, W., Zheng, L. (2018). Effects of postharvest UV-C irradiation on phenolic acids, flavonoids, and key phenylpropanoid pathway genes in tomato fruit. *Scientia Horticulturae*, 241: 107-114, doi: 10.1016/j.scienta.2018.06.075.
- Liu, C.H., Cai, L.Y., Lu, X.Y., Han, X.X., Ying, T.J. (2012). Effect of postharvest UV-C irradiation on phenolic compound content and antioxidant activity of tomato fruit during storage. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(1): 159-165, doi: 10.1016/S1671-2927(12)60794-9.
- Liu, L.H., Zabarar, D., Bennett, L.E., Aguas, P., Woonton, B. W. (2009). Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage. *Food Chemistry*, 115(2): 495-500, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.12.042.
- Maharaj, R., Arul, J., Nadeau, P. (2014). UV-C irradiation effects on levels of enzymic and non-enzymic phytochemicals in tomato. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 21: 99-106, doi: 10.1016/j.ifset.2013.10.001.
- Ouhibi, C., Attia, H., Rebah, F., Msilini, N., Chebbi, M., Aarouf, J., Urban, L., Lachaal, M. (2014). Salt stress mitigation by seed priming with UV-C in lettuce plants: Growth, antioxidant activity and phenolic compounds. *Plant Physiology and Biochemistry*, 83: 126-133, doi: 10.1016/j.plaphy.2014.07.019.
- Perkins-Veazie, P., Collins, J. K., Howard, L. (2008). Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3): 280-285, doi: 10.1016/j.postharvbio.2007.08.002.
- Pinheiro, J., Alegria, C., Abreu, M., Gonçalves, E.M., Silva, C.L. (2015). Use of UV-C postharvest treatment for extending fresh whole tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Zinac) shelf-life. *Journal of Food Science and Technology*, 52(8): 5066-5074, doi: 10.1007/s13197-014-1550-0.
- Pombo, M.A., Dotto, M.C., Martínez, G.A., Civello, P.M. (2009). UV-C irradiation delays strawberry fruit softening and modifies the expression of genes involved in cell wall degradation. *Postharvest Biology and Technology*, 51(2): 141-148, doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.07.007.
- Pristijono, P., Bowyer, M.C., Papoutsis, K., Scarlett, C.J., Vuong, Q.V., Stathopoulos, C.E., Golding, J.B. (2019). Improving the storage quality of Tahitian limes (*Citrus latifolia*) by pre-storage UV-C irradiation. *Journal of Food Science and Technology*, 56(3): 1438-1444, doi: 10.1007/s13197-019-03623-x.
- Rodoni, L.M., Zaro, M.J., Hasperué, J.H., Concellón, A., Vicente, A.R. (2015). UV-C treatments extend the shelf life of fresh-cut peppers by delaying pectin solubilization and inducing local accumulation of phenolics. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1): 408-414, doi: 10.1016/j.lwt.2015.03.042.
- Sari, L.K., Setha, S., Naradisorn, M. (2016). Effect of UV-C irradiation on postharvest quality of 'Phulae' pineapple. *Scientia Horticulturae*, 213: 314-320, doi: 10.1016/j.scienta.2016.09.049.
- Seymour, G.B., Colquhoun, I.J., Dupont, M.S., Parsley, K.R., Selvendran, R.R. (1990). Composition and structural features of cell wall polysaccharides from tomato fruits. *Phytochemistry*, 29(3): 725-731. doi: 10.1016/0031-9422(90)80008-5.
- Shen, Y., Sun, Y., Qiao, L., Chen, J., Liu, D., Ye, X. (2013). Effect of UV-C treatments on phenolic compounds and antioxidant capacity of minimally processed Satsuma mandarin during refrigerated

storage. *Postharvest Biology and Technology*, 76: 50-57, doi: 10.1016/j.postharvbio.2012.09.006.

Spanos, G.A., Wrolstad, R.E. (1990). Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(7): 1565-1571, doi: 10.1021/jf00097a030.

Usberti, F.C.S., Ferraz, A.C.D.O. (2020). UV-C radiation on fresh fig quality. *Scientia Agricola*, 78(3): e20190155, doi: 10.1590/1678-992X-2019-0155.

Ustun, H., Ali, Q., Kurubas, M.S., Dogan, A., Balkhi, M., Peker, B., Erkan, M. (2021). Influence

of postharvest UV-C illumination on biochemical properties of green beans. *Scientia Horticulturae*, 289: 110499, doi: 10.1016/j.scienta.2021.110499.

Vicente, A., Repice, B., Martínez, G., Chaves, A., Civello, P., Sozz, G. (2004). Maintenance of fresh boysenberry fruit quality with UV-C light and heat treatments combined with low storage temperature. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79(2): 246-251, doi: 10.1080/14620316.2004.11511756.

KESTANE KABUĞUNDAN ELDE EDİLEN POLİFENOLLERİN BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ VE ERİŞTE FORMÜLASYONUNDA KULLANIMI

Nihal Türkmen Erol*

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

Geliş / Received: 20.05.2022; Kabul / Accepted: 18.08.2022; Online baskı / Published online: 01.09.2022

Türkmen-Erol, N. (2022). Kestane kabuğundan elde edilen polifenollerin biyoerişilebilirliği ve erişte formülasyonunda kullanımı. *GIDA* (2022) 47 (5) 754-764 doi: 10.15237/ gida.GD22052

Türkmen-Erol, N. (2022). Bioaccessibility of polyphenols from chestnut peel and their use in noodle formulation. GIDA (2022) 47 (5) 754-764 doi: 10.15237/ gida.GD22052

ÖZ

Bu çalışmada, atık kestane kabuğundan su ile elde edilen ekstraktın, toplam polifenol (TP) miktarı, bireysel fenolik içeriği ve antioksidan kapasitesi (AK) ile antioksidanların ve polifenollerin in-vitro biyoerişilebilirliği incelenmiştir. Ayrıca, kestane kabuğu ekstraktının erişte üretimindeki potansiyel kullanımı da araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda kestane kabuğunda HPLC ile gallik asit ve ellajik asit tespit edilmiş; gallik asit miktarı (33.55 mg/g KM), ellajik aside (12.70 mg/g KM) göre daha yüksek bulunmuştur. Kabukların TP içeriği ve AK'sı sırasıyla 172.67 mg gallik asit eşdeğeri/g KM ve 174319.64 mmol askorbik asit eşdeğeri /100 g KM olarak saptanmıştır. Kabuk polifenollerinin biyoerişilebilirliği en fazla gastrik aşama sonrasında gözlenmiş, en düşük AK ise intestinal aşama sonrasında tespit edilmiştir. Erişte hamuruna, kabuk ekstraktının %1.0 oranında ilave edilmesi, son ürünün TP ve AK' sını, kabuk ekstraktı içermeyen erişteye (kontrol) göre sırasıyla %89.36 ve %102.66 oranında artırmıştır. Bu çalışma, kestane kabuğunun önemli bir polifenol kaynağı olarak, gıdaların zenginleştirilmesi amacıyla kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Kestane kabuğu, polifenol, in-vitro sindirim, erişte

BIOACCESSIBILITY OF POLYPHENOLS FROM CHESTNUT PEEL AND THEIR USE IN NOODLE FORMULATION

ABSTRACT

In this study, total polyphenol (TP) content, individual phenolics, antioxidant capacity (AC) and in-vitro digestion of antioxidants and polyphenols of the extract obtained from chestnut peel with water were investigated. In addition, the potential use of chestnut peel extract in noodle production was investigated. The results showed that gallic and ellagic acids were determined by HPLC; gallic acid content (33.55 mg/g DM) of chestnut peel was found higher than ellagic acid (12.70 mg/g DM). TP and AC of chestnut peel were 172.67 mg gallic acid equivalent (GAE)/g dry matter (DM) and 174319.64 mmol ascorbic acid equivalent (AAE)/100 g DM, respectively. The highest bioaccessibility of peel polyphenols was observed after the gastric stage. The lowest AC in the peel extract was detected after the intestinal stage. The addition of the peel extract (1.0%) to the noodle dough increased the TP (89.36%) and AC (102.66%) of the final product compared to the noodle without the peel extract (control). Therefore, this study showed that chestnut peel, as an important source of polyphenols, may be useful for food enrichment.

Keywords: Chestnut peel, polyphenol, in-vitro digestion, noodle

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding Author

✉: nihalt@uludag.edu.tr

☎: (+90) 224 294 0000/41565,

☎: (+90) 224 294 1402

Nihal Türkmen Erol; ORCID no: 0000-0002-5682-0177

GİRİŞ

Gıda sanayinde hammadde olarak kullanılan kestane meyvesinin (*Castanea sativa*) işlenmesi sonucunda; sert dış kabuk (ağırlığının %8.9–13.5'i) ve iç zar (ağırlığının %6.3–10.1'i) olmak üzere önemli miktarda atık ortaya çıkmakta ve bu atıklar genellikle hayvansal gübre ve yakıt olarak değerlendirilmektedir (Vázquez vd., 2012; Fernández-Agulló vd., 2014; Lee vd., 2016). Çevresel faktörler ve ekonomik nedenlerle son yıllarda bu atıkların değerlendirilerek faydalı çıktılara dönüştürülmesi yönündeki çalışmalar giderek artmıştır. Literatürde kestane kabuğu ile ilgili yapılan çalışmalar yetersiz olmakla birlikte, son yıllarda yapılan bazı çalışmalar, kestane kabuğu özellikle de iç zarının biyoaktif bileşiklerden olan polifenollerini fazla miktarda içerdiğini ortaya koymuştur (Obiang-Obounou ve Ryu, 2013; Youn vd., 2016). Bununla ilişkili olarak, kestane kabuğu ekstraktının antimikrobiyal (Fernández-Agulló vd., 2014; Zhan vd., 2014; Lee vd., 2016), antioksidan (Tsujita vd., 2011; Ham vd., 2015) ve antikanser (Jung vd., 2016) etkilerinin olduğu da belirtilmektedir.

Fenolik bileşikler kuvvetli antioksidan aktiviteye sahip olmasına rağmen, biyoaktiviteleri biyoerişilebilirlik derecelerine bağlıdır (Wang vd., 2017). Bileşiklerin, sindirim sırasında gıdadan serbest bırakılması ve çözünür hale geçmesi biyoerişilebilirlik olarak adlandırılmakta ve bu bileşiklerin intestinal absorpsiyonu için biyoerişilebilirlik oranının yüksek olması gerekmektedir. İnsan ya da hayvan vücudundaki bir fenolik bileşiğin gerçek biyoyararlılığını değerlendirmek zor ve maliyetlidir. Bunun yerine, in-vitro gastrointestinal sindirim yöntemi, gıda maddesinden bir fenolik bileşiğin serbest bırakılması ve sindirim sistemi koşullarındaki stabilitesi hakkında bilgi edinmek için kullanılan daha basit ve hızlı bir yöntemdir. Nar kabuğu unu (Gullon vd., 2015), kakao tozu (Giltekin-Özğiven vd., 2016), elma (Bouayed vd., 2012) ve mürver meyvesi (Pinto vd., 2017) gibi farklı materyallerle daha önce yapılan bazı çalışmalarda, fenolik bileşiklerin in-vitro gastrointestinal sindirim yöntemine göre biyoerişilebilirliği tespit edilmiş olup, literatürde kestane polifenollerinin

biyoerişilebilirliği üzerine yok denecek kadar az çalışmaya rastlanmıştır (Tu vd., 2021).

Fenolik bileşikler gibi biyoaktif maddeleri fazlaca içeren bitki ya da onların atıklarından elde edilen ekstraktların, yapay katkı maddelerine alternatif olarak ya da zenginleştirme amacıyla çeşitli gıdalarda kullanımı giderek artış göstermektedir. Amado vd. (2014), patates kabuğu atığından elde edilen ekstraktın, antioksidan aktivitesi nedeniyle soya yağında oksidasyonu önlediğini tespit etmiştir. Rashidinejad vd. (2016), yeşil çay kateşinlerinin tam yağlı süte eklenmesiyle elde edilen peynirlerde, toplam fenolik madde miktarının ve antioksidan kapasitenin arttığını belirtmiştir. Benzer şekilde enginar atığı ekstraktı ile zenginleştirilen taze eriştinin, fenolik bileşik ve antioksidan aktivitesinde artış gözlenirken, tekstürel özellikleri ve pişirme parametreleri ekstrakt ilavesinden etkilenmemiştir (Pasqualone vd., 2017). Diğer taraftan kestane kabuğu ekstraktının, gıdalara fonksiyonel özellik kazandırmak amacıyla kullanımına yönelik literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yapılan çalışmalar kestane kabuğu ekstraktının antimikrobiyal etkisi üzerine yoğunlaşmıştır (Zhan vd., 2014; Lee vd., 2016).

Erişte ve makarna gibi genellikle buğdayın endosperm kısmı kullanılarak üretilen basit bileşime sahip unlu mamuller, bileşiminde karbohidratlardan ağırlıklı olarak nişastayı içerdikleri için nispeten düşük besin değerine sahiptir. Dolayısıyla bu tip ürünlerin kalitesini ve fonksiyonelliğini arttırmak giderek önem kazanmaktadır. Kestane kabuğundan ekstrakte edilen polifenollerin bu açıdan iyi bir alternatif olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma ile (1) kestane kabuğundan elde edilen ekstraktın TP, bireysel fenolik bileşikleri, AK ve polifenollerinin biyoerişilebilirliğinin belirlenmesi (2) kestane kabuğu ekstraktının erişte üretiminde zenginleştirme amacıyla kullanılması ve (3) eriştinin TP, AK ve polifenollerini ile antioksidanlarının biyoerişilebilirliğinin saptanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan kestane (*C. sativa*) atık kabukları, Bursa'da kestane işleyen bir işletmeden temin edilmiştir. Kabuklar, kullanılana kadar polietilen torbalarda 4 ± 2 °C de muhafaza edilmiştir. Erişte üretiminde kullanılan un ve yumurta ise yerel marketten alınmıştır. Analizlerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta veya HPLC saflığında olup, Sigma Co. (St. Louis, MO, USA) ve Merck (Darmstadt, Germany) firmalarından temin edilmiştir.

Polifenol Ekstraksiyonu

Kabuk ve erişte örneklerinden polifenol ekstraksiyonu, Turkmen vd. (2005)' na göre yapılmıştır. Buna göre, kahve öğütücüsü ile toz haline getirilen örnekler, saf su ile su banyosu (Memmert WNB 22, Almanya) kullanılarak 60 °C sıcaklıkta, 22 dk süre ile 1:40 (kabuk:solvent) oranında ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonrasında karışım 10.000 rpm de 15 dk santrifüj edilmiş ve Whatman No.1 filtre kağıdından süzülmüştür. Elde edilen berrak ekstraktlar, TP, AK, fenolik madde profili ve in-vitro biyoerişilebilirlik (mide ve bağırsak aşaması olarak) analizleri için kullanılana kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Kabuktan elde edilen berrak ekstraktın bir kısmı erişte üretiminde kullanılmak üzere -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Erişte Üretimi

Kestane kabuğu ekstraktı dondurularak kurutulduktan (-50 °C ve 0.1 mbar/ 0.75 mm Hg vakum altında) sonra, Collins ve Pangloli (1997) tarafından uygulanan reçete modifiye edilerek erişte üretiminde kullanılmıştır. Kabuk ekstraktı içermeyen erişteler, kontrol grubunu oluşturmuştur. İlk aşamada kuru bileşenler olan beyaz un (%64) ve kurutulmuş ekstrakt (%1) bir kaptaki karıştırılmıştır. Ardından su (%22) ve yumurta (%13) eklenmiş ve karışım, katı kıvamda bir hamur elde edilene kadar karıştırıcı (Siemens FQ.1) yardımıyla 5 dk boyunca yoğrulmuştur. Hazırlanan hamur, 5 dk daha elle yoğrulduktan sonra, eşit parçalara bölünerek bezeler hazırlanmıştır. Bezeler streç film ile sarılarak, oda sıcaklığında 20 dk dinlendirilmiştir. Sürenin sonunda hamur, merdane ve ardından hamur

inceltme makinası (Titania, Italy) kullanılarak inceltilmiştir. Daha sonra, fazla nemi uzaklaştırmak, dolayısıyla kesim sırasında oluşabilecek yapışmaları engellemek için oda sıcaklığında 20 dk dinlendirilmiştir. Sürenin bitiminde hamur, erişte kesme makinesiyle iki aşamada 0.4 x 3 cm ebatlarındaki şeritler halinde kesilmiştir. Yaş erişteler tepsilere ince tabaka halinde yayılarak, oda sıcaklığında, nem içeriği %8-9'a düşene kadar kurutulmuştur. Kuru erişteler, -20 °C'de polietilen poşetler içinde, analiz edilene kadar muhafaza edilmiştir.

Folin-Ciocalteu Ayırıcı ile Toplam Polifenol (TP) Tayini

Örneklerin TP içeriği, ISO 14502-1:2005 yöntemi kullanılarak saptanmıştır. 0.5 mL ekstrakt, 2.5 mL Folin-Ciocalteu (%10'luk, v/v) reaktifi ile karıştırılmış, 5 dk sonra üzerine 2 mL sodyum karbonat çözeltisi (%7.5) ilave edilmiştir. Elde edilen karışım, 60 dk karanlıkta bekletildikten sonra oluşan mavi rengin absorbansı spektrofotometrede (Shimadzu UV-VIS 1208) 765 nm'de köre karşı okunmuştur. Bu analiz için, kör çözelti olarak, ekstrakt yerine saf su kullanılmıştır. Sonuçlar, stok standart gallik asit çözeltisinin farklı konsantrasyonları (0-50 ppm; $R^2=0.99$) ile elde edilmiş olan kalibrasyon eğrisinin regresyon eşitliğinden yararlanılarak hesaplanmış ve mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru madde (KM) olarak ifade edilmiştir.

Kabuk Ekstraktı Fenolik Bileşiklerinin HPLC ile Belirlenmesi

Kabuk ekstraktı örnekleri, 0.45 µm'lik membran filtreden süzülmüş ve filtrat HPLC (Perkin Elmer, Flexar model) kolonuna enjekte edilmiştir. Ekstrakttaki bireysel fenolik bileşiklerin tanımlanması ve miktarlarının saptanması LC-20 AD Shimadzu pompa, CTO-10 ASVP kolon fırını ve SPD-M20A photo diode array (PDA) dedektöre sahip bir HPLC sistemi ile 25 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Kolon olarak C18 ters faz kolonu (250 × 4.6 mm ID, 5µm) kullanılmıştır. Pik alanları, 270 nm dalga boyunda hesaplanmıştır. Mobil faz olarak ortofosforik asit (%0.1) (A) ve asetronitril (B) kullanılmıştır. Elusyon profili 0-6 dk, %7 B; 6-82 dk, %7-38 B; 82-90 dk, %38-60 B olarak uygulanmıştır. Bir

sonraki enjeksiyondan önce kolonun 5 dk içinde başlangıç koşullarına tekrar gelmesi sağlanmıştır. Akış oranı 1.0 mL/dk ve enjeksiyon hacmi 20 µL olarak uygulanmıştır.

Örneklerdeki fenolik bileşiklerin tanımlanması, bileşiklerin kolondaki alıkonma süresi ve UV-spektrumlarının ilgili standart maddelere ait süre ve spektrumlarla karşılaştırılmasıyla yapılmıştır. Fenolik bileşiklere ait piklerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanması, bileşiklerin maksimum absorbands değeri verdiği dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin miktarlarının tespit edilmesinde bileşiklere ait HPLC kromatogramlarından elde edilmiş integre alanlar ve standart maddelerin ara stok çözeltileri ile hazırlanmış kalibrasyon eğrilerinden yararlanılmıştır.

Antioksidan Kapasite (AK)

Örneklerin AK'sı, Türkmen Erol vd. (2009) yöntemine göre yapılmıştır. 50 µL ekstrakt, metanolde hazırlanmış 1950 µL DPPH radikali (6×10^{-5} M) ile karıştırılmıştır. Kontrol örneğinde, ekstrakt yerine saf su kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı kuvvetlice karıştırıldıktan sonra, karanlıkta 25 °C'de 60 dk bekletilmiştir. Sürenin bitiminde karışımın ve kontrol örneğinin absorbandsı, spektrofotometrede 517 nm'de metanole karşı okunmuştur. Antioksidan kapasite (%), AK), aşağıdaki eşitlikten (Eşitlik 1) yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$AK (\%) = \frac{Abs_{Kontrol} - Abs_{örnek}}{Abs_{Kontrol}} \times 100 \quad (1)$$

Abs kontrol : Örnek içermeyen DPPH çözeltisinin absorbandsı,

Abs örnek : Örnek içeren DPPH çözeltisinin absorbandsı

Aynı koşullar altında referans antioksidan olarak askorbik asit çözeltisinin 0-150 µg/mL aralığındaki farklı konsantrasyonları ile bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Örneklerin AK'sı askorbik asit eşdeğerine dönüştürülerek g askorbik asit eşdeğeri (AAE)/100 g KM olarak belirlenmiştir.

In-vitro Sindirim (Biyoeişilebilirlik) Tayini

In-vitro sindirim yöntemi, ekstrakt örneklerinin antioksidan ve fenolik bileşiklerinin biyoeişilebilirliğini değerlendirmek amacıyla,

Minckus vd. (2014) yöntemine göre, gastrik ve intestinal sindirim olmak üzere 2 aşamada gerçekleştirilmiştir. Yöntem kısaca aşağıdaki gibi uygulanmıştır:

Gastrik aşama:

10 mL ekstrakt, 7.5 mL mide sıvısı, 1.6 mL stok pepsin çözeltisi (mide sıvısı ile hazırlanmış, 25000 U/mL; pepsinin aktivitesi 3200- 4500 U/mg protein), 5 µL 0.3 M CaCl₂, 0.2 mL 1M HCl (pH'yi 3'e ayarlamak için) ve 0.695 µL su ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışımın enzim aktivitesi 2000 U/mL olmuştur. Karışım daha sonra 37 °C'de çalkalamalı su banyosunda 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ekstrakt dışında solvent olarak kullanılan saf su ve aynı kimyasallar kullanılarak aynı koşullar altında kör örnek hazırlanmıştır.

Bağırsak aşaması:

10 mL gastrik kısım, 5.5 mL bağırsak sıvısı, 2.5 mL stok tripsin bazlı pankreatin çözeltisi (bağırsak sıvısı ile hazırlanmış, 800 U/mL; pankreatinin aktivitesi 100 USP U/mg protein), 1.25 mL 160 mM safra, 20 µL 0.3 M CaCl₂, 0.075 mL 1M NaOH (pH'yi 7'ye ayarlamak için) ve 0.655 mL su ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışımın enzim aktivitesi 100 U/mL olmuştur. Karışım daha sonra 37 °C'de çalkalamalı su banyosunda 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ekstrakt dışında solvent olarak kullanılan saf su ve aynı kimyasallar aynı koşullar altında kullanılarak kör örnek hazırlanmıştır.

Son olarak, gastrik ve intestinal sindirim sonrası karışımlar 12000 x g'de 4 °C'de 10 dk santrifüj edildikten sonra, Whatman No:1 ile filtre edilmiş ve TP ve AK analizleri için -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Her iki aşama için (mide ve bağırsak); antioksidanların ve fenolik bileşiklerin miktarı spektrofotometre ile belirlendikten sonra, bileşiklerin biyoeişilebilirliği (%) aşağıdaki gibi hesaplanmıştır (Eşitlik 2).

$$Biyoeişilebilirlik (\%) = (K_{sindirilmiş} / K_{sindirilmemiş}) \times 100 \quad (2)$$

K sindirilmiş: Mide/bağırsak aşamasından sonraki konsantrasyon (mg)

K sindirilmemiş: Sindirilmemiş örnekteki konsantrasyon (mg)

İstatistiksel Analiz

İstatistik analizleri SPSS (SPSS statistics 23, IBM.2015) programı ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, 3 tekrarlı ölçümlerin ortalaması \pm standart sapma olarak verilmiştir. Elde edilen verilere, tek yönlü ANOVA kullanılarak varyans analizleri uygulanmıştır. Ortalamalar arasındaki önemli farklılıklar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

İn-vitro Sindirimin Kestane Kabuğu Ekstraktının TP ve AK Üzerine Etkisi

Kestane kabuğu ekstraktının başlangıç ve sindirim sonrasındaki TP (43.97-172.67 mg GAE/g KM) ve AK (29856.46-174319.64 mmol AAE/100 g KM) değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. Vella vd. (2018) ile Jung vd. (2016) kestane kabuğunun TP miktarını sırasıyla 2.38-17.68 mg GAE/g KM ve 11.53-53.30 mg GAE/g KM aralığında bulmuşlardır. Diğer taraftan, farklı çeşitte kestanelere ait kabuklarda yapılan bir çalışmada, iç zarda bu çalışmadan daha yüksek (212.82-337.33 mg GAE/g kuru ağırlık-KA) düzeyde TP saptanmıştır (Vella vd., 2019). Çalışmalardan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıkların, analiz yöntemi, ekstraksiyon koşulları ve kestane çeşidinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kestane kabuğunda, bitkisel atıklar üzerine daha önce yapılan bazı çalışmalarda bulunan değerlerden daha fazla miktarda TP (172.67 mg GAE/g KM) tespit edilmiştir. Bu değer, ayçekirdeği küspesinde 7.51-18.51 mg GAE/g KA (Zardo vd., 2019), fındık kabuğunda en fazla 9.18 mg GAE/g kabuk (Stevigny vd., 2007) ve patates kabuğunda en fazla 1.13 mg GAE/g KA (Amado vd., 2014) şeklinde tespit edilmiştir. Bu durum, kestane kabuğunun iyi bir polifenol kaynağı olduğunu göstermektedir.

Bu çalışma ile kabuk ekstraktında tespit edilen AK değerinin (174319.64 mmol AAE/100 g KM) literatür değerleriyle karşılaştırılması mümkün olamamıştır. Bu durum, çalışmalarda kullanılan aynı antioksidan yönteminin modifiye edilerek uygulanmasından ve sonuçların farklı birimler üzerinden ifade edilmesinden kaynaklanmaktadır. Kestane kabuğu da dahil olmak üzere bitkisel atıklara ilişkin daha önce yapılan çalışmalara göre; kestane kabuğunda 3.24 mmol Trolox eşdeğeri-

TE/g ekstrakt (Vázquez vd., 2012) ve 854.47-1004.98 μ M TE/g KA (Bertolino vd., 2015), enginar atıklarında 2077- 5214 μ mol TE/kg taze ağırlık (Punzi vd., 2014) ve fındık zarında 309 - 1375 μ mol TE/g zar (Taş ve Gökmen, 2015) AK tespit edilmiştir.

Kabuk ekstraktının TP ve AK değerleri, sindirim sonrasında benzer bir eğilim göstermiş olup, her ikisi de başlangıç değerlerine göre önemli düzeyde azalmıştır ($P < 0.05$) (Çizelge 1). TP ve AK değerlerinde en fazla düşüş, intestinal aşamada tespit edilmiştir. Polifenollerin biyoerişilebilirliği gastrik ve intestinal aşamada sırasıyla %49.95 ve %25.47 olarak belirlenmiştir. Bu durum, intestinal sindirim sırasındaki alkali ortamdan dolayı, polifenollerin stabilitesinin daha düşük olmasıyla ilişkilendirilmektedir (Fawole ve Opara, 2016). TP ve dolayısıyla AK'nın, gastrointestinal sindirim sonrasında azalması, daha önce farklı gıdalarla yapılan çalışmalarda da ortaya konmuştur. Bouayed vd. (2012), ortalama 44.42 mg/100 g taze ağırlık düzeyinde TP içeren dört farklı elma çeşidinin gastrik aşama sonrası TP içeriğinin 35.95 mg/100 g taze ağırlığa, pankreatik aşama sonrası ise 21.84 mg/100 g taze ağırlığa düştüğünü belirtmişlerdir. Benzer şekilde, on farklı ceviz çeşidinin TP ve AK değerleri in-vitro sindirim sonrasında, başlangıç değerlerine göre sırasıyla ortalama %74.1 ve %77 oranında azalmıştır (Figueroa vd., 2016). Söz konusu azalış biyoerişilebilirlik düzeylerine de yansımıştır ($P < 0.05$). Ancak, bu sonuçlardan farklı olarak, Wang vd. (2017), in-vitro sindirimin üzüm posasının TP ve AK üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında, gastrik aşama sonrasında, TP ve AK'nın sindirim öncesi değerlerine göre değişmediğini, intestinal aşama sonrasında ise azaldığını bildirmiştir. Nar ürünleri ve atıkları ile yapılan bir çalışmanın sonucuna göre de, başlangıç TP ve AK değerleri in-vitro sindirim sonrasında, materyale ve ekstraksiyonda kullanılan çözeltilere göre farklı eğilimler göstermiştir. Her iki aşama sonunda TP içeriklerinde, azalma veya artış görülürken, AK değerlerinde, gastrik aşama sonunda azalma, intestinal aşama sonunda ise artış gözlenmiştir (Fawole ve Opara, 2016). Sonuçlar arasındaki bu farklılıkların, çalışılan materyallerin yapısının ve in-vitro sindirim koşullarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 1. Kestane kabuğunun TP miktarı, AK ve biyoerişilebilirliği
Table 1. TP content, AC and bioaccessibility of chestnut peel

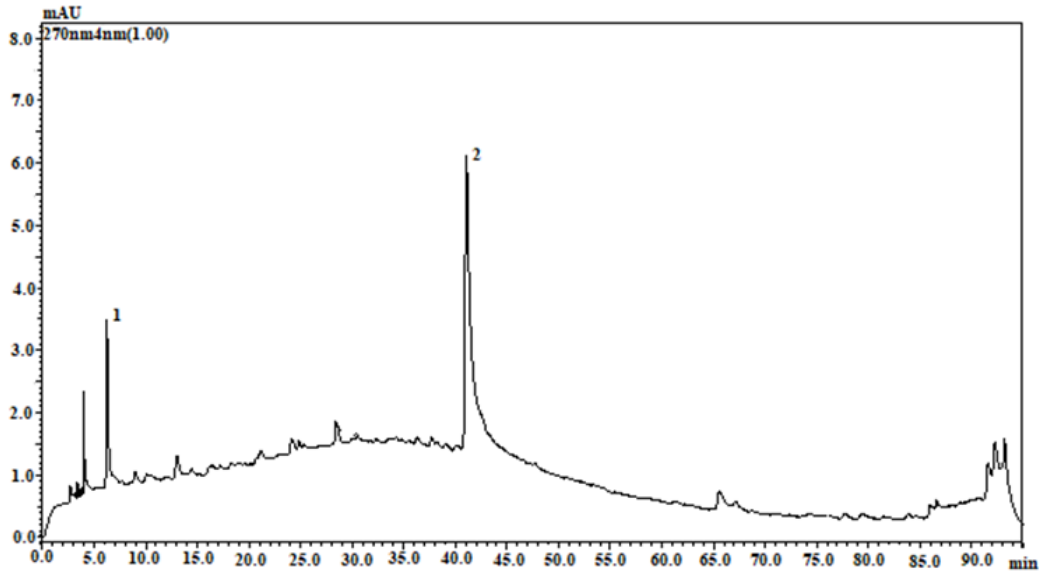
	Sindirim basamağı (<i>Digestion stage</i>)		
	Başlangıç (<i>Initial</i>)	Gastrik (<i>Gastric</i>)	İntestinal (<i>Intestinal</i>)
TP (mg GAE/g KM)	172.67 ± 1.33 ^{c*}	86.25 ± 1.04 ^b	43.97 ± 0.62 ^a
AK (mmol AAE/100 g KM)	174319.64 ± 978.57 ^c	52385.15 ± 157.53 ^b	29856.46 ± 445.31 ^a
TP biyoerişilebilirliği (%) <i>TP bioaccessibility</i>	100.00 ± 0.00 ^c	49.95 ± 0.27 ^b	25.47 ± 0.33 ^a
Antioksidanların biyoerişilebilirliği (%) <i>AC bioaccessibility</i>	100.00 ± 0.00 ^c	30.05 ± 0.26 ^b	17.13 ± 0.30 ^a

*: Aynı satırdaki harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemlidir ($P < 0.05$).

*: Differences between means in letters in the same row are statistically significant ($P < 0.05$).

Kestane kabuğunun HPLC ile fenolik bileşikleri incelenmiş ve analiz sonucunda önemli fenolik asitlerden sadece ellajik (12.70 ± 1.23 mg/100 g KM) ve gallik asit (33.55 ± 1.48 mg/100 g KM) tespit edilmiştir (Şekil 1). Ancak daha önce yapılan bazı çalışmalarda (Fernández-Agulló vd., 2014; Sorice vd., 2016) saptanan kafeik asit, rutin, kuersetin glukosid, luteolin, apigenin ve galangin ise bulunamamıştır. Gallik ve ellajik asitten her ikisi de antioksidan aktivitesi yüksek fenolik bileşikler olup, bunlardan gallik asit, vücuda alındığında diğer polifenollere göre daha iyi

absorbe olmaktadır (Vella vd., 2019). Gallik asidin kestane kabuğunda ellajik aside göre 2.64 kat daha fazla tespit edilmesi nedeniyle vücut tarafından daha fazla yararlanılacağı düşünülmektedir. Diğer taraftan gallik asidin bir türevi olan ellajik asit antimutajenik, antiviral, antibakteriyel, antioksidan ve antikarsinojenik özelliklere sahiptir (Vekari vd., 2008; Jung vd., 2016). Bu çalışma ile uyumlu olarak, kestane kabuğunda fenolik asitlerden en fazla gallik asit tespit edildiği bildirilmiştir (Sorice vd., 2016; Cacciola vd., 2019).



Şekil 1. Kestane kabuğu ekstraktına ait kromatogram (1: gallik asit; 2: ellajik asit)
Figure 1. Chromatogram of chestnut peel extract (1: gallic acid; 2: ellagic acid)

İn-vitro Sindirimin Erištenin TP ve AK Üzerine Etkisi

Zenginleştirilmiş erişte elde etmek amacıyla, kestane kabuk ekstraktı dondurularak kurutulmuş ve erişte hamuruna ilave edilmiştir. Eriştede yapılan analiz sonucuna göre, ekstrakt ilavesi beklenildiği gibi, erištenin TP içeriğini ve AK'sını, kontrol erişteye göre belirgin şekilde (sırasıyla %89.36 ve %102.66) arttırmıştır (Çizelge 2). Benzer şekilde, noodle (Kazemi vd., 2017) ve taze erištenin (Pasqualone vd., 2017) sırasıyla nar kabuğu ve enginar atığı ekstraktları ile zenginleştirildiği çalışmalardan elde edilen sonuçlar, bu çalışmanın sonucu ile uyum sağlamıştır. Ancak araştırmacılar, bu çalışmaya göre daha az bir artış tespit etmişlerdir. Bu durum, nar kabuğu (72.21 mg GAE/g; Ranjha vd., 2020) ve enginar atıklarının (0.77-1.45 mg GAE/g taze ağırlık; Punzi vd., 2014) kestane kabuğuna göre daha az TP içermesi, polifenollerinin stabiliteilerinin farklı olması ve gıdanın üretim koşullarının (yoğurma, inceltme ve kurutma vb.) farklılık göstermesi gibi sebeplerden kaynaklanabilmektedir.

İn-vitro sindirim, erişte örneklerinin TP içeriğini ve AK' ni önemli ölçüde etkilemiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 2). Proses koşulları, bileşenler arasındaki kimyasal etkileşimler, gıdada bulunan biyoaktif maddeler ve ayrıca analizler için kullanılan reaktifler, fenolik maddelerin ve dolayısıyla

antioksidanların biyoerişilebilirliğini etkileyebilmektedir (Parada ve Aguilera, 2007). Kontrol erişte örneklerinin TP içeriği, sindirim sonrasında başlangıç değerine göre gastrik aşamada daha az olmak üzere özellikle, ortam pH'sının yüksek olduğu intestinal aşamada, önemli oranda azalarak ($P < 0.05$), kabuk ekstraktının TP miktarındaki değişime benzer bir eğilim göstermiştir. Zaten polifenollerin, pH değişikliği, ışık ve ısı gibi çevresel faktörlere duyarlı olup, sindirim enzimleri ile kolaylıkla parçalandığı belirtilmektedir (Pinto vd., 2017). Diğer taraftan, erištenin yapısında bulunan polifenollerin biyoerişilebilirliğinin, kestane kabuğu polifenollerinin biyoerişilebilirliğine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durumun, erişte polifenollerinin, proteinlere bağlanarak sindirim sırasında stabiliteilerinin artmasından (Xiong vd., 2020) kaynaklandığı düşünülmektedir. Zenginleştirilmiş erişte örneklerinin TP içeriği ise, sindirim sonrasında gastrik aşamada artarken, intestinal aşamada önemli oranda ($P < 0.05$) azalmıştır. Dolayısıyla, zenginleştirilmiş erištenin polifenollerinin biyoerişilebilirliği kontrol eriştesine göre daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 2). Bu durum, kabuktan gelen polifenollerin cinsinin ve stabilitesinin, erištenin doğal yapısındaki polifenollere göre farklı olmasından kaynaklanabilmektedir.

Çizelge 2. İn-vitro sindirim sonrası erištenin TP miktarı, AK ve biyoerişilebilirliği
Table 2. TP content, AC and bioaccessibility of noodle after in-vitro digestion

	Erişte çeşidi (Noodle type)	Sindirim aşaması (Digestion stage)		
		Başlangıç (Initial)	Gastrik (Gastric)	İntestinal (Intestinal)
TP (mg GAE/g KM)	Kontrol (Control)	0.94 ± 0.03 ^{c*}	0.86 ± 0.03 ^b	0.57 ± 0.01 ^a
	Zenginleştirilmiş (Enriched)	1.78 ± 0.03 ^b	2.29 ± 0.10 ^c	1.27 ± 0.09 ^a
TP biyoerişilebilirliği (%) TP bioaccessibility	Kontrol (Control)	100.00 ± 0.00 ^c	91.07 ± 0.30 ^b	60.74 ± 0.48 ^a
	Zenginleştirilmiş (Enriched)	100.00 ± 0.00 ^b	129.11 ± 7.27 ^c	71.58 ± 6.38 ^a
AK (mmol AAE/100 g KM)	Kontrol (Control)	316.62 ± 7.41 ^b	236.24 ± 6.61 ^a	-
	Zenginleştirilmiş (Enriched)	641.67 ± 13.53	653.65 ± 24.38	-
Antioksidanların biyoerişilebilirliği (%) AC bioaccessibility	Kontrol (Control)	100.00 ± 0.00 ^b	74.79 ± 3.86 ^a	-
	Zenginleştirilmiş (Enriched)	100.00 ± 0.00	101.97 ± 4.62	-

* : Aynı satırdaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).

* : The difference between the means denoted by different letters in the same row is significant ($P < 0.05$).

İn-vitro sindirim sonrasında, kontrol eriştinin AK'sı, gastrik aşama sonrası azalma eğilimi gösterirken, intestinal aşama sonrasında AK tespit edilememiştir. Zenginleştirilmiş eriştinin AK'sı ise, gastrik aşama sonrası korunurken, intestinal aşama sonrasında bulunamamıştır. Antioksidanların biyoerişilebilirliği açısından kontrol ve zenginleştirilmiş erişte örnekleri arasında önemli bir farklılık saptanamamıştır ($P < 0.05$).

SONUÇ

Kestane kabuğu, TP, bireysel fenolik bileşikler, AK ile antioksidanların ve polifenollerin biyoerişilebilirliği açısından değerlendirilmiştir. Kestane kabuğunun TP içeriğinin ve AK'nın yüksek olması nedeniyle, kabuk ekstraktı, erişte formülasyonunda kullanılmak üzere dondurularak kurutulmuştur. Kestane kabuğu ilavesi, zenginleştirilmiş eriştinin TP içeriği ve AK'sını kontrol erişteye göre arttırmıştır. Kabuk polifenollerinin biyoerişilebilirliği, gastrik ve intestinal aşama sonrasında sırasıyla %49.95 ve %25.47 olarak saptanmıştır. Kontrol ve zenginleştirilmiş erişte polifenollerinin biyoerişilebilirliği ise zenginleştirilmiş erişte polifenollerinin daha fazla olmak üzere kabuk polifenollerine göre daha yüksek bulunmuştur. Kabuk ve kontrol eriştinin AK'sı, sindirim sonrasında azalma eğilimi göstermiştir. Ancak, zenginleştirilmiş eriştinin AK'sı, gastrik aşama sırasında korunurken intestinal aşamada gözlenmemiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, kestane kabuğunun, gıdaların zenginleştirilmesi amacıyla iyi bir polifenol kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarın bu makale ile ilgili olarak üçüncü şahıslarla bir çıkar çatışması yoktur.

KAYNAKLAR

Amado, I. R., Franco, D., Sánchez, M., Zapata, C., Vázquez, J. A. (2014). Optimisation of antioxidant extraction from *Solanum tuberosum* potato peel waste by surface response methodology. *Food Chemistry*, 165, 290–299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.103>

Bertolino, M., Belviso, S., Dal Bello, B., Ghirardello, D., Giordano, M., Rolle, L., Gerbi, V., Zeppa, G. (2015). Influence of the addition of different hazelnut skins on the physicochemical, antioxidant, polyphenol and sensory properties of yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 63(2), 1145–1154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.113>

Bouayed, J., Deuber, H., Hoffmann, L., Bohn, T. (2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns. *Food Chemistry*, 131(4), 1466–1472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.030>

Cacciola, N. A., Squillaci, G., D'Apolito, M., Petillo, O., Veraldi, F., Cara, F. La, Peluso, G., Margarucci, S., Morana, A. (2019). *Castanea sativa* Mill. shells aqueous extract exhibits anticancer properties inducing cytotoxic and pro-apoptotic effects. *Molecules*, 24(18), 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules24183401>

Collins, J. L., Pangloli, P. (1997). Chemical, physical and sensory attributes of noodles with added sweet potato and soy flour. *Journal of Food Science*, 62(3), 622–625. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb04446.x>

Fawole, O. A., Opara, U. L. (2016). Stability of total phenolic concentration and antioxidant capacity of extracts from pomegranate co-products subjected to *in vitro* digestion. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1343-2>

Fernández-Agulló, A., Freire, M. S., Antorrena, G., Pereira, J. A., González-Álvarez, J. (2014). Effect of the Extraction technique and operational conditions on the recovery of bioactive compounds from chestnut (*Castanea sativa*) bur and shell. *Separation Science and Technology (Philadelphia)*, 49(2), 267–277. <https://doi.org/10.1080/01496395.2013.838264>

Figuroa, F., Marhuenda, J., Zafrilla, P., Martínez-Cachá, A., Mulero, J., Cerdá, B. (2016). Total phenolics content, bioavailability and antioxidant capacity of 10 different genotypes of walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Food and Nutrition Research*, 55(3), 229–236.

- Giltekin-Özgiiven, M., Berktaş, I., Özçelik, B. (2016). Change in stability of procyanidins, antioxidant capacity and in-vitro bioaccessibility during processing of cocoa powder from cocoa beans. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 559–565. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.065>
- Gullon, B., Pintado, M. E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., Viuda-Martos, M. (2015). *In vitro* gastrointestinal digestion of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-products: Changes in the antioxidant potential and bioactive compounds stability. *Journal of Functional Foods*, 19, 617–628. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.056>
- Ham, J. S., Kim, H. Y., Lim, S. T. (2015). Antioxidant and deodorizing activities of phenolic components in chestnut inner shell extracts. *Industrial Crops and Products*, 73, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.017>
- ISO 14502-1:2005. *Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea. Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. 8p.* International Standard.
- Jung, B. S., Lee, N. K., Na, D. S., Yu, H. H., Paik, H. D. (2016). Comparative analysis of the antioxidant and anticancer activities of chestnut inner shell extracts prepared with various solvents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(6), 2097–2102. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7324>
- Kazemi, M., Karim, R., Mirhosseini, H., Hamid, A. A., Tamnak, S. (2017). Processing of parboiled wheat noodles fortified with pulsed ultrasound pomegranate (*Punica granatum* L. var. Malas) peel extract. *Food and Bioprocess Technology*, 10(2), 379–393. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1825-8>
- Lee, N. K., Jung, B. S., Na, D. S., Yu, H. H., Kim, J. S., Paik, H. D. (2016). The impact of antimicrobial effect of chestnut inner shell extracts against *Campylobacter jejuni* in chicken meat. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 746–750. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.004>
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., MacIerzanka, A., MacKie, A., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W., Brodkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function*, 5(6), 1113–1124. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>
- Obiang-Obounou, B. W., Ryu, G. H. (2013). The effect of feed moisture and temperature on tannin content, antioxidant and antimicrobial activities of extruded chestnuts. *Food Chemistry*, 141(4), 4166–4170. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.129>
- Parada, J., Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of Food Science*, 72(2), 21–32. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00274.x>
- Pasqualone, A., Punzi, R., Trani, A., Summo, C., Paradiso, V. M., Caponio, F., Gambacorta, G. (2017). Enrichment of fresh pasta with antioxidant extracts obtained from artichoke canning by-products by ultrasound-assisted technology and quality characterisation of the end product. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 2078–2087. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13486>
- Pinto, J., Spínola, V., Llorent-Martínez, E. J., Fernández-de Córdova, M. L., Molina-García, L., Castilho, P. C. (2017). Polyphenolic profile and antioxidant activities of Madeiran elderberry (*Sambucus lanceolata*) as affected by simulated *in vitro* digestion. *Food Research International*, 100, 404–410. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.044>
- Punzi, R., Paradiso, A., Fasciano, C., Trani, A., Faccia, M., De Pinto, M. C., Gambacorta, G. (2014). Phenols and antioxidant activity *in vitro* and *in vivo* of aqueous extracts obtained by ultrasound-assisted extraction from artichoke by-products. *Natural Product Communications*, 9(9), 1315–1318. <https://doi.org/10.1177/1934578x1400900924>
- Ranjha, M. M. A. N., Amjad, S., Ashraf, S., Khawar, L., Safdar, M. N., Jabbar, S., Nadeem,

- M., Mahmood, S., Murtaza, M. A. (2020). Extraction of polyphenols from apple and pomegranate peels employing different extraction techniques for the development of functional date bars. *International Journal of Fruit Science*, 20(S3), 1201–1221. <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1782804>
- Rashidinejad, A., Birch, E. J., Everett, D. W. (2016). The behaviour of green tea catechins in a full-fat milk system under conditions mimicking the cheesemaking process. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 67(6), 624–631. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1195797>
- Sorice, A., Siano, F., Capone, F., Guerriero, E., Picariello, G., Budillon, A., Ciliberto, G., Paolucci, M., Costantini, S., Volpe, M. G. (2016). Potential anticancer effects of polyphenols from chestnut shell extracts: Modulation of cell growth, and cytokinomic and metabolomic profiles. *Molecules*, 21(10), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules21101411>
- Stevigny, C., Rolle, L., Valentini, N., Zeppa, G. (2007). Optimization of extraction of phenolic content from hazelnut shell using response surface methodology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 2817–2822. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Taş, N. G., Gökmen, V. (2015). Bioactive compounds in different hazelnut varieties and their skins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 43, 203–208. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.07.003>
- Tsujita, T., Yamada, M., Takaku, T., Shintani, T., Teramoto, K., Sato, T. (2011). Purification and characterization of polyphenols from chestnut astringent skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(16), 8646–8654. <https://doi.org/10.1021/jf201679q>
- Tu, F., Xie, C., Li, H., Lei, S., Li, J., Huang, X., Yang, F. (2021). Effect of *in vitro* digestion on chestnut outer-skin and inner-skin bioaccessibility: The relationship between biotransformation and antioxidant activity of polyphenols by metabolomics. *Food Chemistry*, 363, 130277. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130277>
- Türkmen Erol, N., Sari, F., Çalikoğlu, E., Velioglu, Y. S. (2009). Green and roasted mate: Phenolic profile and antioxidant activity. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33(4), 353–362. <https://doi.org/10.3906/tar-0901-4>
- Turkmen, N., Sari, F., Velioglu, Y. S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, 93(4), 713–718. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.038>
- Vázquez, G., Fernández-Agulló, A., Gómez-Castro, C., Freire, M. S., Antorrena, G., González-Álvarez, J. (2012). Response surface optimization of antioxidants extraction from chestnut (*Castanea sativa*) bur. *Industrial Crops and Products*, 35(1), 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.022>
- Vekiari, S. A., Gordon, M. H., García-Macías, P., Labrinea, H. (2008). Extraction and determination of ellagic acid content in chestnut bark and fruit. *Food Chemistry*, 110(4), 1007–1011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.005>
- Vella, F. M., De Masi, L., Calandrelli, R., Morana, A., Laratta, B. (2019). Valorization of the agroforestry wastes from Italian chestnut cultivars for the recovery of bioactive compounds. *European Food Research and Technology*, 245(12), 2679–2686. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03379-w>
- Vella, F. M., Laratta, B., La Cara, F., Morana, A. (2018). Recovery of bioactive molecules from chestnut (*Castanea sativa* Mill.) by-products through extraction by different solvents. *Natural Product Research*, 32(9), 1022–1032. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1378199>
- Wang, J., Fang, X. M., Mujumdar, A. S., Qian, J. Y., Zhang, Q., Yang, X. H., Liu, Y. H., Gao, Z. J., Xiao, H. W. (2017). Effect of high-humidity hot air impingement blanching (HHAIB) on drying and quality of red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry*, 220, 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.200>
- Xiong, J., Chan, Y. H., Rathinasabapathy, T., Grace, M. H., Komarnytsky, S., Lila, M. A. (2020). Enhanced stability of berry pomace polyphenols delivered in protein-polyphenol aggregate particles to an *in vitro* gastrointestinal digestion

model. *Food Chemistry*, 331(March), 127279. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127279>

Youn, U. Y., Shon, M. S., Kim, G. N., Katagiri, R., Harata, K., Ishida, Y., Lee, S. C. (2016). Antioxidant and anti-adipogenic activities of chestnut (*Castanea crenata*) byproducts. *Food Science and Biotechnology*, 25(4), 1169–1174. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0186-4>

Zardo, I., de Espíndola Sobczyk, A., Marczak, L. D. F., Sarkis, J. (2019). Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from sunflower seed cake using response surface methodology. *Waste and Biomass*

Valorization, 10(1), 33–44. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0038-3>

Zhan, G., Pan, L. Q., Mao, S. B., Zhang, W., Wei, Y. Y., Tu, K. (2014). Study on antibacterial properties and major bioactive constituents of Chinese water chestnut (*Eleocharis dulcis*) peels extracts/fractions. *European Food Research and Technology*, 238(5), 789–796. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2151-2>



**THE ANALYSIS OF METABOLIC CONTENT OF TRADITIONAL MILK
COLLECTED FROM THREE REGIONS IN TURKEY BY NMR
SPECTROSCOPY**

Çağdaş Dağ^{1,2,3,*}, Oktay Göçenler¹, Cansu Deniz Tozkoparan¹

¹Department of Molecular Biology and Genetics, Koç University, Istanbul, Türkiye

²Nanofabrication and Nanocharacterization Centre for Scientific and Technological Advanced Research, Koç University, Istanbul, Türkiye

³Koç University Isbank Center for Infectious Diseases (KUISCID), Istanbul, Türkiye

Received /Geliş: 28.03.2022; Accepted /Kabul: 25.08.2022; Published online /Online baskı: 10.09.2022

Dağ, Ç., Göçenler, O., Tozkoparan, C.D. (2022). The analysis of metabolic content of traditional milk collected from three regions in Turkey by NMR spectroscopy. GIDA 47 (5) 765-775 doi: 10.15237/gida.GD22042

Dağ, Ç., Göçenler, O., Tozkoparan, C.D. (2022). Türkiye'de üç bölgeden toplanan geleneksel sütlerin metabolik içeriğinin NMR spektroskopisi ile analizi. GIDA 47 (5) 765-775 doi: 10.15237/gida.GD22042

ABSTRACT

Milk is one of the primary animal-based foods in a healthy diet which provides vitamins, fats and particularly calcium to meet the daily requirements. Currently, there are a limited number of metabolomics studies on milk and more studies are required to establish reliable international standards and databases for milk metabolite profiles. In this study, metabolite analysis of three types of UHT milk which are whole-milk, semi-skimmed and lactose-free from Türkiye was investigated by NMR, with emphasis on the differences in metabolite concentrations related to lactose and energy metabolism. In all, 31 different metabolites were successfully identified and quantified with a single NMR experiment. Most of these metabolites are involved in energy and amino acid metabolism, and these findings show that NMR can easily detect perturbations of metabolites in these relevant pathways. In this study, the lactose levels of lactose-free labelled products also were analysed and compared with international threshold levels.

Keywords: Milk, NMR, metabolomic, lactose

**TÜRKİYE'DE ÜÇ BÖLGEDEN TOPLANAN GELENEKSEL SÜTLERİN
METABOLİK İÇERİĞİNİN NMR SPEKTROSKOPİSİ İLE ANALİZİ**

ÖZ

Süt, insan beslenmesinin günlük ihtiyacını karşılamak için vitaminler, yağlar ve özellikle kalsiyum sağlayan sağlıklı bir diyetteki başlıca hayvansal gıdalardan biridir. Sütte bulunan metabolitler, sütün kimyasal özelliklerini ortaya çıkarmak, sütün kalitesini veya yabancı maddelerin tespitini belirlemek için çok önemlidir. Halihazırda, süt üzerinde sınırlı sayıda NMR bazlı metabolit profili çalışması bulunmaktadır ve NMR bazlı süt metabolit profilleri için güvenilir uluslararası standartlar ve veri tabanları oluşturmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışmada, laktoz ve enerji metabolizması ile ilgili metabolit konsantrasyonlarındaki farklılıklar vurgulanarak, Türkiye'de satılan

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: cdag@ku.edu.tr

☎: (+90) 212 338 1000

☎: (+90) 212 338 1000

Çağdaş Dağ; ORCID no: 0000-0003-1595-431X

Oktay Göçenler; ORCID no: 0000-0003-4310-0928

Cansu Deniz Tozkoparan; ORCID no: 0000-0001-9326-0642

konvansiyonel sütlerin metabolit analizi NMR spektroskopisi ile incelenmiştir. Toplamda, 31 farklı metabolit tek bir NMR deneyi ile tanımlandı ve nicel analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu metabolitlerin çoğu, enerji ve amino asit metabolizmasında yer almaktadır. Elde edilen bulgular, NMR spektroskopinin bu ilgili yollardaki metabolitlerin bozulmalarını kolayca tespit edebildiğini göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca, laktoz içermeyen etiketli ürünlerin laktoz seviyelerinin analizi ve uluslararası kabul görmüş seviyeler ile karşılaştırılmıştır.

Anahtar kelimeler: Laktoz, süt, NMR, metabolomiks

INTRODUCTION

Milk is a chemically complex colloidal bio-fluid secreted from the mammary glands of female mammals for feeding their infants. Milk is also a valuable animal-source food for humans that provides a high level of nutrients including fats, vitamins and minerals. Additionally, milk contains many bioactive compounds such as glycoproteins, antibodies, oligosaccharides, organic acids, biogenic amines, nucleotides, immunoglobulins, various vitamins and minerals iron, zinc, and iodine (Dror and Allen, 2011). Consequently, milk and milk-based products are commonly consumed all around the world, in a variety of forms such as cheese, butter, yoghurt, casein powder and ice cream. 83 % milk of dairy products is obtained from cows, 13% from buffaloes, 2% goats, 1% sheep, and 0.4% camels. (Foroutan et al., 2019).

Cow milk is rich in calcium and phosphorus, with an average content of 85-87% water, 3.8-5.5% fats, 2.9-3.5% protein, 4.6-5.0 % carbohydrates (mostly lactose), vitamins (riboflavin B2), 0.69% ash, and mineral substances (Erarslan, 2012; Kaskous, 2020). The content of milk varies depending on the environment, age, lactation stage, seasonal variation, diet, breed, and genetics thereby affecting the nutritive value and taste of milk on account of milk metabolites. Milk metabolites are intermediates and end products resulting from the metabolism of mammalian epithelial cells and peripheral blood (Kaskous, 2020 ; Dror and Allen, 2011).

Metabolomics technology allows rapid and efficient evaluation of metabolites in biological samples such as serum, plasma, and milk (Gowda et al., 2008). NMR spectroscopy, gas chromatography-mass spectroscopy, (GC-MS), liquid chromatography-mass spectroscopy (LC-MS) and ultra-performance liquid

chromatography–quadrupole time of flight mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS) are examples of advanced technologies used for metabolomics (Yang et al., 2016). The detection of milk metabolites is one of the most effective ways of controlling the quality and safety of milk and its products (Sen et al., 2020). Metabolomic biomarkers are important molecules and can be used for identifying differences between milk varieties (Sen et al., 2020). Milk adulteration has been detected by using metabolomic biomarkers by Yang et al. (2016) who investigated the metabolomics profile of Chinese Holstein, Jersey, Buffalo, Goat, Camel, Horse, Yak (*Bos mutus*) milk samples by NMR spectroscopy and liquid chromatography-mass spectroscopy (LC-MS) using non-targeted metabolomics approaches (Yang et al., 2016). Sundekilde et al. (2011) showed that several metabolites like carnitine, choline, and citrate can be used as biomarkers for determining the differences between Danish Holstein cow and Jersey cow by NMR-based metabolomics (Sundekilde et al., 2011). Ozrenk and Selcuk Inci (2008) investigated the effects of the seasonal variation on milk components and yield. They have demonstrated the seasonal variation has an effect on the milk composition and lactation periods. Milk yield and composition are affected depending on seasonal nighttime length of the habitat where the dairy animal lives. The amount of fat and protein in milk in the areas with shorter nighttime is less than the regions with longer nighttime. The composition and yield of milk are so important that it also affects the processing ability of milk (Ozrenk and Inci, 2008).

NMR is a robust analytical technique used to investigate the biochemical properties of many substances. There are different uses of NMR in the dairy industry. This technology does not only provide information about milk and the dairy animal, but it is also used to facilitate the

monitoring of processes during the conversion of milk into other dairy products in the industry (Maher and Rochfort, 2014). The quality of the data to be analysed by NMR is directly related to the extraction protocols used in the preparation of milk samples to be used in metabolomics studies. Yanibada et al. (2018) compared eight different preparation protocols for cow milk samples. Among the protocols used, the most effective preparation methods have been methanol extraction and ultrafiltration. (Yanibada et al., 2018).

Diluting or changing the content of high unit price or high demand products by adding low-cost foreign substances is a common fraud method known as adulteration in the food industry. Milk can be adulterated by addition of tap water, hydrogen peroxide, urea, detergents, sugars, melamine in order to increase the profitability of the original product (Francis et al., 2020). In another study, Northern Italian Friesian cows and other native breeds were fed the same diet on the same farm and the lactation stage was analysed by NMR (Tomassini et al., 2019). O'Callaghan et al (2018) investigated the metabolites contained in bovine milk by NMR spectroscopy (O'Callaghan et al., 2018). Klein et al (2013) used the combination of NMR and GC-MS techniques to specify bovine milk content at early and late lactation stages. They showed that milk metabolite composition changes with metabolic stress depending on lactation stages (Klein et al., 2013). Pregnancy and calving are preconditions for lactation. Lactation causes certain hormonal and metabolic changes in dairy cows, such as feeding behaviour that varies from one stage of lactation to another. In early lactation, which is called period 1, the dairy cows use a large proportion of their energy to produce milk. In this period, animal feed consumption should be increased to prevent nutrient deficiency (DeVries et al., 2003; Jorritsma et al., 2003). Between lactations, the period of time dairy cows has rested and have prepared for the next lactation is called the dry period. Cows are taken for a dry period 2 months before birth to preserve their milk yield (Madsen et al., 2008).

Lactose, which is a disaccharide composed of glucose and galactose and it's the most abundant carbohydrate in milk. Gastrointestinal problems are observed with milk consumption in individuals deficient in lactase, an enzyme which helps digest lactose. Lactose intolerance is observed in 70% of adults at some range worldwide. As a result, the demand for lactose-free dairy products is increasing as more adults become aware of the physiological discomfort of lactose consumption. Cunha et al. (2020) determined the quantification of lactose in milk samples by ^1H NMR without the use of deuterated solvent (Cunha et al., 2020). Monakhova et al. (2012) investigated the labelling accuracy of milk, lactose-free milk, and other milk derivatives (soy, oat, rice) in the markets by ^1H NMR spectroscopy (Monakhova et al., 2012). Söyler et al. (2021) investigated the advantages of bench-top NMR spectroscopy as a quality-control tool at different stages of milk production. First, bench-top NMR was used to monitor lactose hydrolysis. The artificial neural network model has been developed to classify the different components of milk samples by supporting benchtop NMR spectroscopy (Söyler et al., 2021). Laref (2020) has suggested that using the bioinformatics software following ^1H NMR is more advantageous for metabolite identification (Laref, 2020).

In this study, metabolite analysis of conventional milk from Türkiye was performed, with particular focus on the differences in lactose levels investigated by NMR spectroscopy.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

In this study, all UHT milk samples were chosen and collected from markets in Istanbul, Adana and Mersin regions. In order to be a homogenized sampling, samples were obtained from different provinces. In total, 18 different milk samples belonging to different characteristics and brands constitute the data set in the analysis. Three different types of UHT milk are used, which are reduced fat, full-fat and lactose-free. After the milk samples were brought to the laboratory in packages, they were divided into 6 tubes of 1.5

mL each in a sterile environment. 5 tubes were stored at -80°C for steps that may require repetition or control.

Sample preparation

Ultrafiltration method was used to remove proteins and fats from metabolites and thus to extract metabolites (Yanibada et al., 2018). Since there is no protein smaller than 3 kDa, ultrafiltration tubes with a cut-off size of 3 kDa were preferred. Marketed Ultrafiltration tubes are manufactured by impregnating with glycerol to ensure long-term durability before use. Glycerol is a molecule that gives a high intensity peak in 1-D NMR analysis. All ultrafiltration membranes were centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes by adding 2 mL of distilled water to the sample chamber to remove glycerol from the membrane before the extraction process. This process was repeated 4 times to ensure complete removal of glycerol. After this process, the remaining water in the ultrafiltration tubes was removed and 1.5 mL of milk sample was added in the sample chamber of each ultrafiltration membrane.

Membrane units, to which milk samples were added, were centrifuged at 3000 rpm for 60 minutes at 4°C . At the end of this period, the condensed milk samples remaining in the sample chamber were mixed and homogenised with the help of an automatic pipette. After this process, the membranes were centrifuged again at 3000 rpm for 60 minutes. After the centrifugation process, which was carried out for a total of 120 minutes. Ultrafiltration devices are generally used in the concentration of proteins. Proteins are concentrated and remain in the upper part of the membrane. On the other hand, in metabolomics studies, since metabolites have smaller dimensions than the membrane size, they pass down the membrane. Therefore, the fraction that passes under the membrane is collected for further steps. For each sample, 500 microliters of the metabolite fraction were taken and transferred to another 1.5 mL volumetric tube. On top of it, a mixture containing 100 mM PBS and 5 mM trimethylsilylpropanesulfonic acid (DSS) dissolved in 55 microliters of deuterium was added. The final concentration in the NMR

samples was 10 mM PBS 0.5 mM DSS. The sample mixture was added to a standard 5 mm NMR tube.

Data Collection

1D ^1H NMR data acquisition was carried out at the Koç University central research infrastructure directorate on a Bruker Avance Neo Ascend NMR spectrometer operating at 500.13 MHz equipped with a 5 mm BBO double-resonance probe and a SampleXpress sample changer. Topspin 4.0.9 (Bruker) and iconNMR were used to automate the data collection process. WATER pulse sequence was applied to suppress the residual water signal (Kim et al. 2011). Each spectrum consisted of 4096 scans of 32,768 complex data points with a spectral width of 9615.4 Hz. The 1D ^1H spectra were phased, baseline corrected, referenced to DSS automatically by iconNMR.

Data Analysis

For the NMR data analysis, DSS molecule was used both as a standard 0 for the calibration of ppm values and as an internal standard for the quantitative analysis of the metabolites. Chenomx 8.6 (Chenomx Inc, Canada) software used for all metabolite assignments and quantitative analysis. In all analyses, the different peaks of the molecules appearing in the spectrum were examined separately, and then the assignment of the molecule was carried out. Manual corrections were made for the assigned peaks in all spectra after the preliminary analysis performed with the automatic fit mode in the quantifications.

RESULTS AND DISCUSSION

NMR spectroscopy is a technique that is being used more and more in many fields day by day, since it has the ability to directly measure the amounts of components using atomic properties. 90% of the approximately 60 NMR spectrometers in Türkiye consist of 400 MHz and 500 MHz spectrometers. Although there are studies carried out with NMR spectrometers with different properties in different studies, it was not known how much success could be achieved from NMR analyzes at the level of spectrometers, which constitute the vast majority in Türkiye. In this

study, 31 different metabolites in milk were detected and quantified via a single NMR experiment without additional external calibration. Metabolites detected and quantified by NMR spectroscopy are given in Table 1. 31 metabolite assignments, there were 9 metabolites associated with amino acid metabolism and 6 metabolites from energy metabolism identified and their concentrations were calculated. Furthermore, 4 different types of sugar and 12

other important metabolite signals were detected in the NMR spectrum and quantitatively assigned. In Figure 1, the regions and peak heights of the metabolites detected are shown on one of the NMR spectra collected in this study. As can be seen from the spectrum, many metabolites can be detected with a single NMR analysis. One of the biggest advantages is that the signals of the metabolites are well dispersed over the spectrum.

Table 1. List of milk metabolites detected by NMR spectroscopy, calculated metabolite concentration (mM) with standard deviation and literature values (mM) (Foroutan et al., 2019)

	Whole Milk	Semi-Skimmed Milk	Lactose Free Milk	Literature Values
Energy Metabolism				
Lactate	0.0730 ±0.0660	0.0910 ±0.0870	0.0970 ±0.084	0-0.1670
Pyruvate	0.0340 ±0.0170	0.0280 ±0.0190	0.0350 ±0.0100	0-0.0540
Citrate	7.8160 ±0.9280	7.9030 ±1.4090	8.1240 ±0.1720	3.6920-7.4350
Succinate	0.0860 ±0.0370	0.0830 ±0.0410	0.0610 ±0.0440	0.0160-0.0300
Fumarate	0.0080 ±0.0040	0.0120 ±0.0050	0.0050 ±0.0040	0.0060-0.0230
Acetate	0.3130 ±0.2160	0.3560 ±0.2700	0.3500 ±0.2200	0.0130-0.1130
Amino acid Metabolism				
Alanine	0.0530 ±0.0080	0.0530 ±0.019	0.0560 ±0.0030	0.0180-0.0780
Glutamate	0.4240 ±0.3000	0.3280 ±0.1450	0.3270 ±0.0180	0.1110-0.7400
Glycine	0.2460 ±0.9600	0.1900 ±0.1060	0.1200 ±0.0540	0.0620-0.0800
Valine	0.0210 ±0.0140	0.0200 ±0.0150	0.0240 ±0.0120	0.0060-0.0150
Isoleucine	0.0010 ±0.0010	0.0090 ±0.0020	0.0010 ±0.0009	0.0020- 0.0070
Leucine	0.0058 ±0.0035	0.0042 ±0.0043	0.0051 ±0.0028	0.0020-0.0060
Formate	0.0250 ±0.0200	0.0710 ±0.0890	0.0300 ±0.0020	0.0033-0.0460
Urea	3.6740 ±1.1710	4.9820 ±3.4030	2.8620 ±1.7260	0.1190-7.7000
Hippurate	0.0640 ±0.0190	0.0820 ±0.0280	0.0660 ±0.0130	0.0790-0.2670

Table 1. continue

	Whole Milk	Semi-Skimmed Milk	Lactose Free Milk	Literature Values
Saccharides				
Lactose	138.6760 ±17.8960	137.7600 ±40.2910	4.5250 ±4.1210	98.3570-153.2160
Glucose	1.2740 ±0.8170	1.7170 ±1.4680	116.6270 ±19.6550	0.2460-0.4780
Fucose	0.0390 ±0.0120	0.0230 ±0.0110	0.0330 ±0.0040	0.0060-0.0410
Galactose	1.0890 ±0.4000	1.5770 ±1.4120	109.1840 ±12.2770	0.0860-1.9600
Other Metabolites				
Creatine	0.2990 ±0.1710	0.3000 ±0.1980	0.3090 ±0.2670	0.3120-0.5430
Creatinine	0.1410 ±0.0770	0.1400 ±0.0520	0.1170 ±0.0250	0.0360-0.1250
Creatine-1-phosphate	0.0260 ±0.0210	0.0340 ±0.0190	0.0260 ±0.0260	0-0.1020
Choline	0.3630 ±0.1570	0.7220 ±0.7450	0.2660 ±0.2250	0.1520-0.4790
Betaine	0.0180 ±0.0110	0.0140 ±0.0030	0.0230 ±0.0060	0.0330-0.1150
O-phosphocholine	0.1090 ±0.0800	0.1730 ±0.1250	0.1590 ±0.0820	0-0.9410
sn-Glycero-3-phosphocholine	0.8170 ±0.2770	0.7870 ±0.2680	0.9230 ±0.3060	0.2910-1.2170
Dimethylamine	0.0220 ±0.0110	0.0060 ±0.0070	0.0230 ±0.0080	0.0070-0.0170
Isopropanol	0.0015 ±0.0007	0.0011 ±0.0007	0.0009 ±0.0001	0.0016-0.0022
Acetone	0.0290 ±0.0080	0.0290 ±0.0110	0.0120 ±0.0010	0.0090-0.4970
3-hydroxybutyrate	0.1060 ±0.1990	0.2140 ±0.4230	0.0440 ±0.0100	0.0120-0.1210
Dimethyl sulfone	0.0430 ±0.0140	0.0470 ±0.0270	0.0370 ±0.0090	0.0100-0.0590

Energy Metabolism

In all 3 different types of milk, we detected 6 main metabolites of the energy metabolism (Table 1). All detected metabolites were also quantitatively analysed using Chenomx software 9.0.1. Most of the detected metabolites were within the limits of the literature or close to the values stated in the literature but citrate (8.1240 mM) and acetate (0.3500 mM) levels were noticeably different from existing studies. Metabolites that their concentrations were above the literature levels, are especially associated with the lactation level. Citrate, which takes place in the Tricarboxylic acid (TCA) cycle in energy metabolism, has an important place in the energy cycle (Figure 2). However, in milk, citrate is an indicator of the

mammary gland activity (Garnsworthy et al., 2006). All the samples used within the scope of the study consist of samples produced and packaged in the months of April and May. The high citrate concentration can be explained by the fact that milk obtained from cows in these months is milk produced at early lactation stage.

Lactose level

Lactose is a metabolite that shows wide variation according to seasons and lactation period. In our study, we determine the lactose level at commercial milk is between 96-207 mM. These results were in accordance with the literature (Foroutan et al., 2019). In a study conducted with commercial milk in the literature, the determined

lactose level is between 98-153 mM. In another NMR-based study, the lactose level of milk from the USA market was found in between 110-130 mM (Foroutan et al., 2019). Wu et al. (2016) investigated the lactose levels in the early and late

periods of lactation in their study, they determined the lactose level as 220 mM in the early lactation period and 246 mM in the late lactation period (Wu et al., 2016).

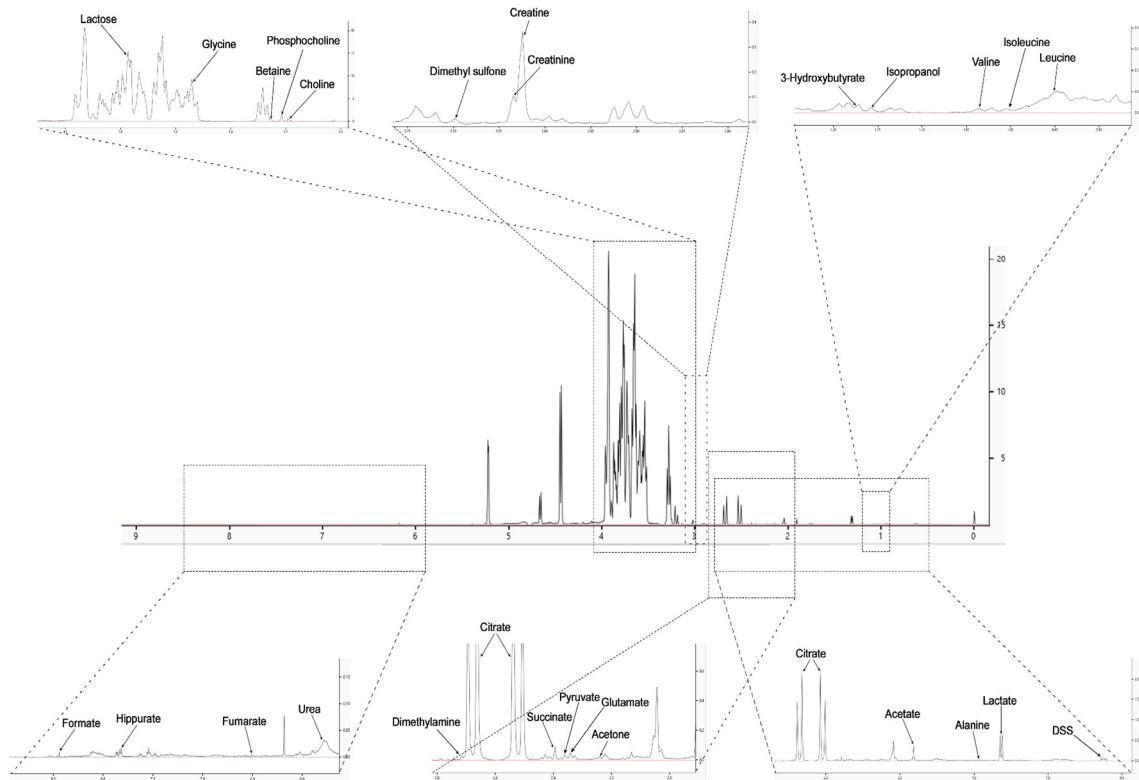


Figure 1. 1D ^1H NMR spectrum of the milk and detailed assignment regions on spectrum

One of the biggest concerns of whole milk is its adverse effects on lactose intolerant individuals. In recent years, lactose-reduced milks have been introduced to the market to make milk available to lactose intolerant consumers. For this reason, we also comparatively investigated the milk products labelled as reduced lactose and/or lactose free. The regulation of lactose-free and lactose-reduced products differ between regions or countries according to their food laws and regulations. In this regard, most of the countries consider the upper and lower limits of lactose in milk to be respectively, 0.5% and 0.01%, to qualify the product as lactose free (Dekker et al., 2019). In accordance with regulations issued by authorities, the German dairy industry offers

$\leq 0.1\%$ lactose content into line with EU regulations (Morlock et al., 2014). The Spanish Agency of Food Safety and Nutrition (AESAN) has issued that a product labelled lactose-free is required to contain less than 0.01% lactose (0.299 mM) (Martínez Rodríguez et al., 2021). The Ministry of Agriculture and Forestry in Türkiye, has declared that lactose-free labelled milk must have a lactose content of less than 0.1% (2.99 mM) (Guide for Turkish Food Codex Notification on milk, 2019/12). In this study, we determined the range of the lactose content of commercial lactose-free labeled milk products from Türkiye between 2.15-9.28 mM.

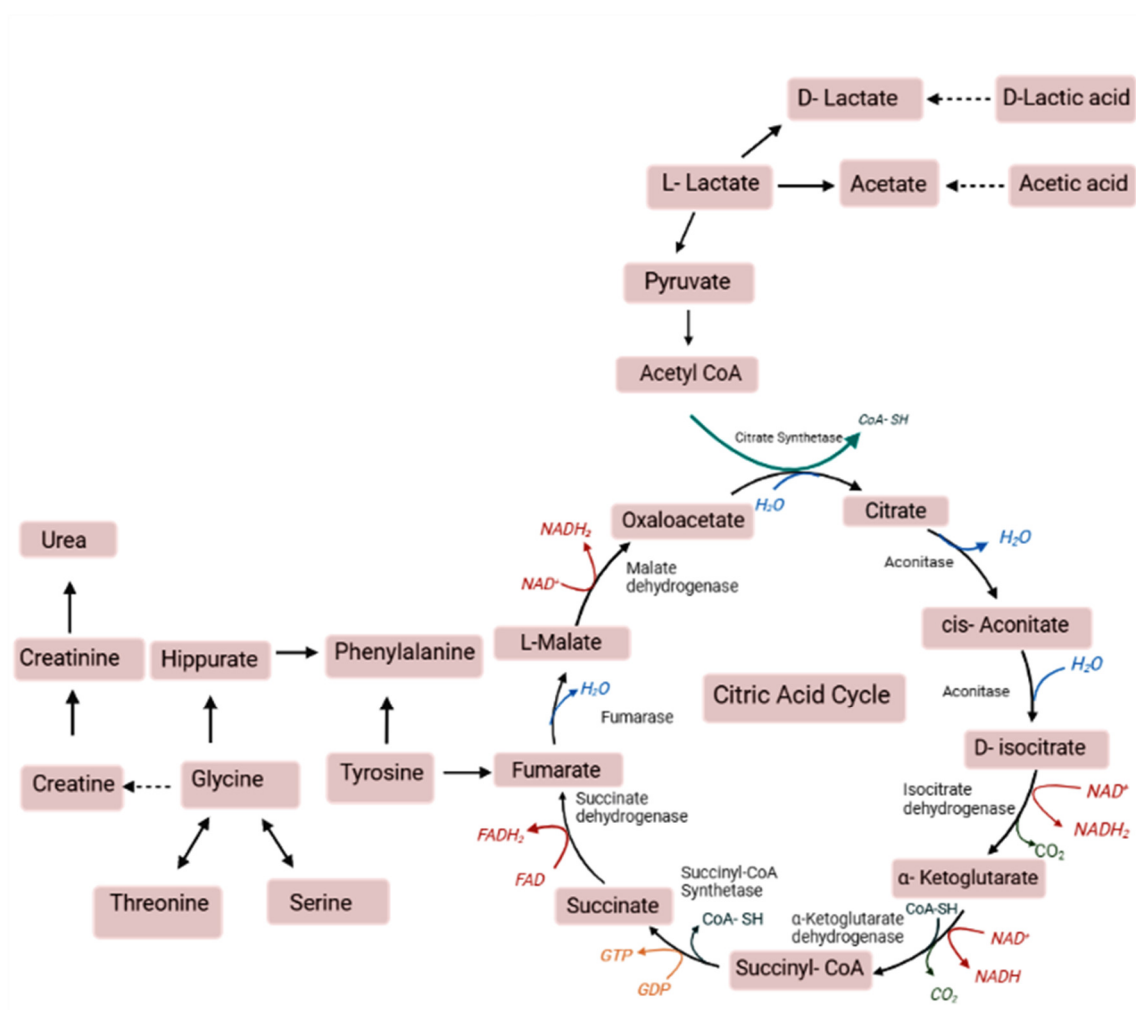


Figure 2. Illustration of combined energy and amino acid metabolisms

Amino acid Metabolism

Milk contains important essential amino acids. The concentration ranges of 9 amino acids have been determined through NMR spectroscopy among milk types such as whole, semi-skimmed and lactose-free milk. While it is very difficult to measure the amount of free amino acids in measurements performed with other techniques, another advantage of NMR spectroscopy is that it can directly measure the free amino acids remaining in the environment outside the proteins, without breaking down the proteins. The average concentration of alanine was measured 5.6 μM and 24 μM for valine in lactose-free milk. Concentration of amino acids 424 μM glutamate, 246 μM glycine and 5.8 μM leucine are

detected more than average in whole milk. On the contrary, 9 μM isoleucine, 71 μM formate, 4.982 mM urea, 8.2 μM hippurate are detected more than average in semi-skimmed milk. The majority of the data obtained is consistent with the literature values for alanine, glutamate, urea and hippurate (Foroutan et al., 2019). However, the literature values for glycine, valine, leucine, isoleucine, and formate significantly different. The reason for this could be the selection of commercial milk, the nutrition of the animal from which the milk is obtained, its age, lactation stage or could be caused by differences in the experiment.

CONCLUSION

In this study single NMR experiment is used to determine metabolic content of milk with regard to its metabolite and lactose content for comparative analysis with the existing literature values. Based on our findings, concentrations of some of the metabolites in commercially sold milk in Türkiye, diverged from their literature values particularly amino acids citarate and lactose. It is concluded that the differences could be caused due to alterations of the lactation levels depending on seasonal nighttime/daytime length or conditions of the dairy cows in milk producing facilities. Lactose levels of milk labelled as lactose-free milk are also determined and lactose level in some lactose-free labelled products were also above the Turkish regulations. Although the maximum lactose levels for lactose free labeled products vary from country to country, the allowed level in Türkiye is 10 times higher than that of many countries. It is important that these levels are determined by international regulations.

In addition to experimental findings from NMR experiments, the utility of NMR is discovered for quality control and metabolomics analysis of milk. We believe that the data obtained within the scope of the study will contribute to the expansion of the Milk Composition Database (MCDB), thus increasing the controllability of milk. Accordingly, NMR-based metabolomics analyses have a very high reproducibility rate without requiring rapid sample preparation methods and detailed calibrations. With this study, we have shown that NMR is a very powerful and rapid technique for investigating milk metabolism. We believe that the use of NMR will be a preferred technique in the near future, especially in the analysis of routine lactose levels in the industry and in the measurement of the remaining lactose amount after lactose degradation.

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest was reported by the author.

AUTHORS CONTRIBUTIONS

CD design the experiments, OG performed the wetlab experiments; CD performed the NMR

data collection and analyses; CD, OG and CDT contributed to the writing of the paper. All authors read and approved the manuscript.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors gratefully acknowledge use of the services and facilities of the Koç University Is Bank Infectious Disease Center (KUIS-CID). CD acknowledges support from TÜBİTAK (Project No: 120Z594). The authors gratefully acknowledge use of the services and facilities of the Koç University Research Center for Translational Medicine (KUTTAM), funded by the Presidency of Türkiye, Presidency of Strategy and Budget. The content is solely the responsibility of the authors and does not necessarily represent the official views of the Presidency of Strategy and Budget. The authors acknowledge the use of the services and facilities of Koç University Nanofabrication and Nano characterization Center for Scientific and Technological Advanced Research (n²STAR).

REFERENCES

- Cunha, D. A., Valim T. C., Filgueiras P. R., Júnior V. L., Neto A.C. (2020). Lactose quantification in bovine milk by nuclear magnetic resonance without deuterated solvent (No-D qNMR). *Analytical methods: advancing methods and applications*, 12 (40): 4892-4898.
- Dekker, P.J.T., Koenders, D., Bruins, M.J. (2019) Lactose-Free Dairy Products: Market Developments, Production, Nutrition and Health Benefits. *Nutrients*, 11: 551.
- DeVries, T. J., von Keyserlingk, M. A. G., Weary, D. M., Beauchemin, K. A. (2003). Measuring the Feeding Behavior of Lactating Dairy Cows in Early to Peak Lactation. *Journal of Dairy Science*, 86 (10): 3354-3361.
- Dror, D. K., Allen, L. H. (2011). The importance of milk and other animal-source foods for children in low-income countries. *Food Nutrition Bulletin*, 32(3): 227-43.
- Erarslan, A. (2012). A1 Tıp İnek Sütü ve Süt Ürünlerinde Beta-Kazomorfin-7 İçin HPLC'ye Dayalı Tayin Yönteminin Geliştirilmesi, *Erciyes Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi*. 122 sayfa.

- Foroutan, A., Guo, A. C., Vazquez-Fresno, R., Lipfert, M., Zhang, L., Zheng, J., Badran H., Budinski, Z., Mandal, R., Ametaj, B. N., Wishart, D. S. (2019). Chemical Composition of Commercial Cow's Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67 (17): 4897-4914.
- Francis, A., Dhiman, T., Mounya, K.S. (2020). Adulteration of Milk: A Review, *Journal of Science and Technology*, 5 (6): 37-41.
- Garnsworthy, P. C., Masson, L. L., Lock, A. L., Mottram, T.T. (2006). Variation of milk citrate with stage of lactation and de novo fatty acid synthesis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89 (5): 1604-12.
- Gowda, G. A., Zhang, S., Gu, H., Asiago, V., Shanaiah, N., & Raftery, D. (2008). Metabolomics-based methods for early disease diagnostics. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 8(5): 617-633.
- Guide for Turkish Food Codex Food Labelling and Consumer Information Regulation, *Turkish Food Codex Notification on Milk*, No. 2019/12.
- Jorritsma, R., Wensing, T., Kruij, T.A., Vos, P.L., Noordhuizen, J.P. (2003). Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Veterinary Research*, 34 (1): 11-26.
- Kaskous, S. (2020). A1- and A2-Milk and Their Effect on Human Health. *Journal of Food Engineering and Technology*, 9 (1): 15-21.
- Klein, M. S., Almstetter, M. F., Nürnberger, N., Sigl, G., Gronwald, W., Wiedemann, S., Dettmer, K., Oefner, P. J. (2013) Correlations between milk and plasma levels of amino and carboxylic acids in dairy cows. *Journal of Proteome Research*, 12 (11): 5223-5232.
- Laref, N. (2020). Efficiency of different bioinformatics tools in metabolite profiling of whole cow's milk using synthetically water-removed ¹H NMR spectra: a comparative study. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 10 (2): 241-244.
- Martínez-Rodríguez, M., Samaniego-Vaesken, M. d. L., Alonso-Aperte, E. (2021). A New Food Composition Database of Lactose-Free Products Commercialized in Spain: Differences in Nutritional Composition as Compared to Traditional Products. *Foods*, 10: 851.
- Madsen, T.G., Nielsen, M.O., Andersen, J.B., Ingvarsen, K.L. (2008) Continuous lactation in dairy cows: effect on milk production and mammary nutrient supply and extraction. *Journal of Dairy Science* 91 (5): 1791-801.
- Maher, A.D., Rochfort, S.J. (2014). Applications of NMR in dairy research. *Metabolites*, 4 (1): 131-41.
- Monakhova, Y., Kuballa, T., Leitz, J., Andlauer, C., Lachenmeier, D. (2012). NMR spectroscopy as a screening tool to validate nutrition labeling of milk, lactose-free milk, and milk substitutes based on soy and grains. *Dairy Science & Technology*, 92: 109-120.
- Morlock, G.E., Morlock, L.P., Lemo, C. (2014). Streamlined analysis of lactose-free dairy products. *Journal of Chromatography A*, 1324: 215-223.
- Ozrenk, E., Selcuk Inci, S. (2008). The Effect of Seasonal Variation on the Composition of Cow Milk in Van Province. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7: 161-164.
- O'Callaghan, T. F., Vazquez-Fresno, R., Serra-Cayuela, A., Dong, E., Mandal, R., Hennessy, D., McAuliffe, S., Dillon, P., Wishart, D. S., Stanton, C., Ross, R. P. (2018). Pasture feeding changes the bovine rumen and milk metabolome. *Metabolites*, 8 (2): 27.
- Sen, C., Ray, P.R., Bhattacharyya, M. (2020). A critical review on metabolomic analysis of milk and milk products. *International Journal of Dairy Technology*, 74 (1): 17-31
- Söyler, A., Cikrikci, S., Cavdaroglu, C., Bouillaud, D., Farjon, J., Giraudeau, P., Oztop, M.C. (2021). Multi-scale benchtop ¹H NMR spectroscopy for milk analysis. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 139: 110557.
- Sundekilde, U.K., Frederiksen, P.D., Clausen, M.R., Larsen, L.B., Bertram, H.C. (2011). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (13): 7360-7367.

- Tomassini, A., Curone, G., Solè, M., Capuani, G., Sciubba, F., Conta, G., Miccheli, A., Vigo, D. (2019). NMR-based metabolomics to evaluate the milk composition from Friesian and autochthonous cows of Northern Italy at different lactation times. *Natural Product Research*, 33 (8): 1085-1091.
- Wu, J., Domellöf, M., Zivkovic, A. M., Larsson, G., Öhman, A., Nording, M. L. (2016). NMR-based metabolite profiling of human milk: A pilot study of methods for investigating compositional changes during lactation, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 469 (3): 626-632.
- Yanibada, B., Boudra, H., Debrauwer, L., Martin, C., Morgavi, D.P., Canlet, C. (2018). Evaluation of sample preparation methods for NMR-based metabolomics of cow milk, *Heliyon*, 4 (10): e00856.
- Yang, Y., Zheng, N., Zhao, X., Zhang, Y., Han, R., Yang, J., Zhao, S., Li, S., Guo, T., Zang, C., Wang, J. (2016). Metabolomic biomarkers identify differences in milk produced by Holstein cows and other minor dairy animals. *Journal of Proteomics*, 136: 174-82.



**INVESTIGATION OF CHANGES IN ANTIOXIDANT ACTIVITY AND
PROTEIN DIGESTIBILITY OF WHEAT BREADS INCLUDING *SPIRULINA
PLATENSIS* AND PROTEIN EXTRACTS FROM *SPIRULINA PLATENSIS*
DURING IN VITRO DIGESTION**

Meltem Yılmaz, Aysun Yucetepe*

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Aksaray University, Aksaray, Türkiye

Received / Geliş: 23.05.2022; Accepted / Kabul: 30.08.2022; Published online / Online baskı: 10.09.2022

Yılmaz, M., Yucetepe, A. (2022). Investigation of changes in antioxidant activity and protein digestibility of wheat breads including *Spirulina platensis* and protein extracts from *Spirulina platensis* during in vitro digestion. GIDA 47 (5) 776-789 doi: 10.15237/gida.GD22053

Yılmaz, M., Yucetepe, A. (2022). *Spirulina platensis* ve *Spirulina platensis*'den protein ekstraktları içeren buğday ekmeğinin in vitro sindirim sırasında antioksidan aktivite ve protein sindirilebilirliğindeki değişimin araştırılması. GIDA 47 (5) 776-789 doi: 10.15237/gida.GD22053

ABSTRACT

In this study, wheat breads including *Spirulina platensis* (SP) and protein extracts from *Spirulina platensis* (SPE) at levels of 0.125%, 0.25% and 0.50% were prepared and textural, volume, color and sensory properties were determined. Moreover, changes in total phenolic content (TPC), antioxidant activity (AOA) and in vitro protein digestibility (PD) of breads were investigated during in vitro digestion. The sample with the highest firmness value was control (919.4 g, $p \leq 0.05$). Breads with SP and SPE had higher volume than control ($p \leq 0.05$). The L^* (52.2 ± 1.0) and b^* (18.9 ± 0.2) values were the lowest for bread with SPE-0.25 ($p \leq 0.05$). The AOA of breads (SP-0.125, SP-0.5 and SPE-0.25) increased after in vitro gastric digestion ($p \leq 0.05$). The SPE-0.50 was the most preferable in terms of sensory properties. The SPE-0.125 had the highest TPC and breads including SPE at all levels had higher AOA than control and breads with SP after in vitro intestinal digestion ($p > 0.05$).

Keywords: *Spirulina platensis*, bread, enrichment, textural characteristics, phenolic content, sensory properties.

***SPIRULINA PLATENSIS* VE *SPIRULINA PLATENSIS* PROTEİN
EKSTRAKT LARI İÇEREN BUĞDAY EKMEKLERİNİN IN VITRO SİNDİRİM
SIRASINDA ANTİOKSİDAN AKTİVİTE VE PROTEİN
SİNDİRİLEBİLİRLİĞİNDEKİ DEĞİŞİMİN ARAŞTIRILMASI**

ÖZ

Bu çalışmada, %0.125, %0.25 ve %0.50 oranlarında *Spirulina platensis* (SP) ve *Spirulina platensis* (SPE)'den elde edilen protein ekstraktı içeren buğday ekmeğleri hazırlanmış ve ekmeğlerin tekstürel, hacim, renk ve duyuşal özellikleri araştırılmıştır. Ayrıca, ekmeğlerin in vitro mide-bağırsak sindirim sırasında toplam fenolik madde içeriği (TFM), antioksidan aktivite (AOA) ve protein sindirilebilirliğindeki (PS) değişim belirlenmiştir. En yüksek sıklık değerine sahip örnek kontrol

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: aysunyucetepe@gmail.com

☎: (+90) 382 288 35 02

Meltem Yılmaz; ORCID no: 0000-0003-2543-4166

Aysun Yucetepe; ORCID no: 0000-0002-3800-4774

örneğiydi (919.4 g, $p \leq 0.05$). SP ve SPE ilaveli ekmekler kontrol örneğinden daha yüksek hacim değerlerine sahipti ($p \leq 0.05$). SPE-0.25 örneği en düşük L^* (52.2 ± 1.0) ve b^* (18.9 ± 0.2) değerlerine sahipti ($p \leq 0.05$). Ekmeklerin AOA'leri (SP-0.125, SP-0.5 ve SPE-0.25) in vitro mide sindiriminden sonra artmıştır ($p \leq 0.05$). SPE-0.50 duyusal özellikler açısından en çok tercih edilen ekmek olmuştur. Ayrıca, SPE-0.125 ilaveli ekmek, en yüksek TFM içermiştir ve in vitro bağırsak sindirimi sonrası, tüm oranlarda SPE içeren ekmekler kontrol ve SP ilaveli ekmeklerden daha yüksek AOA'ye sahip olmuştur ($p > 0.05$).

Anahtar kelimeler: *Spirulina platensis*, ekmek, zenginleştirme, tektürel özellikler, fenolik madde, duyusal özellikler.

INTRODUCTION

Spirulina platensis is a multicellular, symbiotic and filamentous blue-green microalgae belonging to the Oscillatoriaceae family (Estrada et al., 2001). It shows greater growth in salty waters (>30 g/L) with high pH values (8.5-11.0) and in areas with high solar radiation levels. In addition to being an important natural protein source with a protein content of 60-70% in dry weight (dw), *Spirulina platensis* also contains omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids, essential amino acids, minerals, vitamins, pigments having antioxidative activity, and polysaccharides (Wang et al., 2007; Bermejo et al., 2008; Chamorro-Cevallos et al., 2008; Gad et al., 2011; El-Tantawy, 2015; Pelizer et al., 2015; Vo et al., 2016). In addition, it contains vitamins B1 (thiamine), B2 (riboflavin), B3 (nicotinamide), B6 (pyridoxine), B9 (folic acid), B12 (cyanocobalamin), C, D and E, as well as minerals such as potassium, calcium, chromium, copper, iron magnesium, manganese, phosphorus, selenium, sodium and zinc (Ghaeni and Roomiani, 2016).

Food fortification is accomplished by adding functional food components such as protein or micronutrients to food products in order to improve their nutritional properties. At this point, it is known that *Spirulina platensis* can be used for the enrichment of various food products due to its high protein content (Lee et al., 2011; Ak et al., 2016). For instance, Lee et al. (2011) used *Spirulina platensis* to produce functional bread. In the study of Lee et al. (2011), bread samples enriched with 0.8% *Spirulina platensis* were evaluated as better than the control group. In a study of Abd El Baky et al. (2015), biscuit products were enriched with purified phycocyanin obtained from *Spirulina platensis*. In the work of Gün et al. (2022), incorporation of 4% *Spirulina platensis* to biscuit

resulted in an enhancement of protein. Furthermore, the best sensory color scores observed in biscuit containing 4% *Spirulina platensis*. Raczky et al. (2022) prepared pasta by mixing semolina flour with an addition of 3, 5, 7, and 10% (w/w) of *Spirulina platensis* powder. According to results of their study, supplemented pastas had a significantly better amino acid profile and higher total fiber content than the control sample. Shahbazizadeh et al. (2015) investigated the effect of antioxidant and organoleptic properties of cookies fortified with *Spirulina platensis* biomass at 0, 0.5, 1 and 1.5% w/w. They found that iron, protein and γ -linolenic acid content of fortified cookies increased as a result of *Spirulina platensis* incorporation, coupled antioxidant properties and organoleptic properties of the cookies containing 1-1.5% *S. platensis* received highest scores (Shahbazizadeh et al., 2015).

Bread which is widely consumed all over the world, and other bakery products are the leading products food enrichment studies using natural nutrients with high nutritional properties such as *Spirulina platensis* (Ak et al., 2016; Nicolai et al., 2019; Montevecchi et al., 2022). Therefore, the aims of the present study were to investigate the textural, volume, color and sensory properties of wheat bread with *Spirulina platensis* (SP) and *Spirulina platensis* protein extracts (SPE) at levels (0.125, 0.25 and 0.50%) and determine changes in total phenolic content, antioxidant activity and % protein digestibility during in vitro gastrointestinal digestion.

MATERIAL AND METHODS

Materials

Spirulina platensis was obtained from Akuatik Fisheries and Cosmetics Products Ltd. (Adana,

Turkey). Folin Ciocalteu's reagent, hydrochloric acid, sodium hydroxide, ethanol, acetic acid, chloroform, *n*-hexane, sodium carbonate, (\pm)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox), copper (II) chloride solution, neocuprine, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, α -amylase, pepsin and pancreatin were obtained from Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Germany). In this study, Type 2 bread wheat flour produced in accordance with the Turkish Food Codex Wheat Flour Communiqué to be used in bread making was obtained from Çandarogulları Derya Flour and Feed Industry Trade Limited Company (Manisa, Turkey). The iodized table salt was purchased from Billur Salt Industry Joint Stock Company (İzmir, Turkey) and fresh yeast from Pak Food Production and Marketing Joint Stock Company (Kocaeli, Turkey).

Methods

Chemical composition

The moisture, ash, protein and lipid content of wheat flour (control), *Spirulina platensis*, *Spirulina platensis* protein extracts and wheat flours with *Spirulina platensis* and *Spirulina platensis* protein extracts were determined using the relevant AOAC (Association of Official Analytical Chemists) methods (AOAC, 1990). Carbohydrate content of the samples was calculated by subtracting 100 from the sum of protein, lipid, ash and moisture values. All measurements were performed in 3 repetitions.

Production of bread samples

Protein extracts from *Spirulina platensis* were obtained in our previous study (Yilmaz and Yucetepe, 2021). The formulations of control bread (without SP and SPE) and breads with SP and SPE are given in Table 1. *Spirulina platensis* and protein extracts obtained from *Spirulina platensis* were added to wheat flour at three different levels (0.125%, 0.25 and 0.50%) based in our previous study (Yilmaz and Yucetepe, 2021). Based on dough weight, SP and SPE ratios were 0.08%, 0.15% and 0.3%, when based on flour weight SP and SPE ratios 0.125%, 0.25% and 0.50% (Table 1). A flour-based bread formulation was formed with 59.9% water (v/w), 1.3% salt (w/w) and 2.96% yeast (w/w). According to the results of farinograph analysis in our previous study (Yilmaz and Yucetepe, 2021), ideal water absorption of the flour varied between 56.5 and 57.1% and it was close to the value of 59.9% water used in bread formulation. The water absorption amount of the flour increased from the water absorption value of the flour obtained by farinograph analysis, which ranged from 56.5-57.1%, to 59.9% due to salt and yeast in the bread formulations. This value was very close to the flour-based water ratio of 60% (v/w) in the bread formulation with *Spirulina platensis* in study conducted by İlhan et al. (2020).

Table 1: Formulations of control bread and breads with *Spirulina platensis* and *Spirulina platensis* protein extracts.

Ingredients	Breads						
	Control (%)	The breads with SP and SPE					
		SP-0.125 (%)	SP-0.25 (%)	SP-0.50 (%)	SPE-0.125 (%)	SPE-0.25 (%)	SPE-0.50 (%)
Wheat flour	60.9	60.8	60.7	60.6	60.8	60.7	60.6
SP	-	0.08	0.15	0.3	-	-	-
SPE	-	-	-	-	~0.1	~0.2	0.3
Water	36.5	36.5	36.5	36.5	36.5	36.5	36.5
Salt	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Yeast	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8

SP: *Spirulina platensis*, SPE: *Spirulina platensis* protein extract. SP-0.125, SP-0.25 and SP-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SP, respectively. SPE-0.125, SPE-0.25 and SPE-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SPE, respectively.

In the present study, the bread production method of İlhan et al. (2020) was used with slightly modifications. The breads were manufactured in factory of Erke Adk Industry Trade Ltd. in Istanbul, Turkey. All ingredients were mixed in accordance with the ratios given in Table 1 and dough was formed. The mixture was kneaded until it had a smooth surface. After the kneading process, 15 min of resting was applied for mass fermentation, and at the end of the time, the dough was cut into 270 g pieces and rolled by hand to obtain small pieces of dough. After the rounded dough pieces were rested for another 15 min, covered with a damp cloth, they were shaped in a shaping machine and fermented for 70 min at 30 °C and 80% relative humidity. The fermented doughs were baked at 230 °C for 14 min. The bread samples, which were cooled to room temperature after baking, were packed with aluminum foil and stored at -20 °C until analysis.

Determination of texture, volume and color characteristics

Textural analysis

Textural properties including firmness and elasticity of the breads samples were investigated using a TA.XTplusC Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., London, United Kingdom) with 25 mm aluminum cylindrical probe according to AACC method 74-09 (AACC, 1986). Briefly, 2 cm thick slices from the bread samples were compressed to 50% of their original height. The highest compression force obtained was expressed in gram as bread firmness. Measurements were carried out in 3 repetitions.

Volume analysis

The volume of the bread samples was determined by the Stable Micro Systems (Stable Micro Systems Ltd., London, United Kingdom) according to the rapeseed displacement principle according to AACC method no:10-05 (AACC, 2008). Specific volume of the bread samples was expressed as mL/g.

Color analysis

The color analysis of the bread samples was performed using a colorimeter (CR 400, Minolta, Japan). Color parameters are described as L*

(brightness), a* (redness-greenness), b* (yellow-blueness).

In vitro gastrointestinal digestion

In vitro gastro-intestinal digestion of the control sample and the breads prepared with SP and SPE was carried out according to the Infogest method (Minekus et al., 2014). The digested samples obtained after stomach and intestinal digestion were stored at -80 °C until analysis. Total phenolic content (TPC), antioxidant activity (AOA) and in vitro protein digestibility (PD) of the samples were determined after in vitro digestion process.

Determination of the total phenolic content

The TPC of the control sample and the bread samples before and after in vitro digestion was determined by the Folin-Ciocalteu method (Toor and Savage, 2006). In a summary, 200 µL of the sample was mixed with 1.5 mL of 10-fold diluted Folin-Ciocalteu reagent and 1.2 mL of 7.5% Na₂CO₃ solution, and its absorbance at 765 nm was read after 90 min of incubation. Results were expressed as mg gallic acid equivalents (GAE)/100 g dry weight (dw) (Toor and Savage, 2006).

Determination of antioxidant activity

Antioxidant activity of the samples were determined by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil radical (DPPH) radical scavenging and copper (II) ion reduction antioxidant capacity (CUPRAC) methods before and after in vitro digestion. In the DPPH method, 2 mL of 0.1 mM DPPH (in methanol) was added to 100 µL of the sample (Kumaran et al., 2006). In the CUPRAC method, 1 mL of copper (II) chloride solution, 1 mL of neocuprine solution (in ethanol), 1 mL of ammonium acetate buffer solution (pH 7.0) and 1 mL of distilled water were added on 100 µL sample. The results obtained with the DPPH and CUPRAC methods were expressed as mg Trolox equivalents (TE)/100 g dw (Apak et al., 2004).

Determination of in vitro protein digestibility (%)

Protein content of the bread samples was determined spectrophotometrically by Lowry method (Lowry et al., 1951) after in vitro

digestion. Bovine serum albumin was used as a standard. The in vitro protein digestibility (%) of the digested samples was calculated using the following equation:

$$PD (\%) = \frac{P_r}{P_t} \times 100$$

PD: Protein digestibility, P_t : Total protein content and P_r : Protein content after in vitro digestion.

Sensory analysis

Sensory analysis of the bread samples were carried out by 11 trained panelists at Erke Adk Industry Trade Ltd. The samples were scored using a hedonic scale between 1-5 (5: very good, 4: good, 3: acceptable, 2: acceptable with difficulty, and 1: unacceptable) in terms of odor, crust color, crumb color, crumb pore size, bread pore homogeneity, shape, volume, acceptability and preferability. Analysis were performed in triplicate.

Statistical analysis

The experimental results were analyzed using the Minitab Statistics Program (Minitab, Version 17,

Minitab Inc., State College, Pennsylvania, USA). The differences between mean values were compared using Tukey test. Differences at $p \leq 0.05$ were considered to be significant.

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical composition

Chemical compositions of wheat flour (control), *Spirulina platensis*, *Spirulina platensis* protein extracts and wheat flours with *Spirulina platensis* and *Spirulina platensis* protein extracts were given in Table 2. Moisture, protein, lipid, ash and carbohydrate content of wheat flour used in this work were calculated as $11.60 \pm 0.0\%$, $11.80 \pm 0.10\%$, $1.29 \pm 0.0\%$, $0.71 \pm 0.0\%$ and $74.60 \pm 0.10\%$, respectively (Table 2). Similarly, Cansız (2020) found moisture, ash and protein content of wheat flour used in bread manufacture as 13.0%, 0.92% and 11.30%, respectively. Keskin and Evlice (2015) determined protein, ash, lipid and carbohydrate content of wheat flour as 10.5%, 1.8%, 2.6% and 78.6%, respectively.

Table 2: Chemical compositions of wheat flour (control), *Spirulina platensis*, *Spirulina platensis* protein extracts and wheat flours with *Spirulina platensis* and *Spirulina platensis* protein extracts.

Sample	Moisture (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Ash (%)	Carbohydrate (%)
Control	11.60 ± 0.0^b	11.80 ± 0.10^b	1.29 ± 0.0^b	0.71 ± 0.0^b	74.60 ± 0.10^a
SP	8.95 ± 1.15^c	53.10 ± 0.20^a	2.73 ± 0.0^a	0.82 ± 0.0^a	34.40 ± 1.34^b
SPE	17.30 ± 0.20^a	53.40 ± 0.40^a	0.89 ± 0.0^c	0.42 ± 0.0^c	27.99 ± 0.60^c
SP-0.125	12.30 ± 0.20^b	12.10 ± 0.50^b	1.30 ± 0.0^b	0.71 ± 0.0^b	73.59 ± 0.70^a
SP-0.25	11.80 ± 0.40^b	12.20 ± 0.40^b	1.33 ± 0.0^b	0.70 ± 0.0^b	73.97 ± 0.80^a
SP-0.50	12.00 ± 0.0^b	12.00 ± 0.0^b	1.34 ± 0.0^b	0.71 ± 0.0^b	74.75 ± 0.00^a
SPE-0.125	11.20 ± 0.0^{bc}	11.90 ± 0.0^b	1.30 ± 0.0^b	0.71 ± 0.0^b	74.89 ± 0.00^a
SPE-0.25	11.70 ± 0.2^b	12.20 ± 0.0^b	1.31 ± 0.0^b	0.71 ± 0.0^b	74.28 ± 0.00^a
SPE-0.50	11.10 ± 0.4^{bc}	12.00 ± 0.20^b	1.30 ± 0.0^b	0.71 ± 0.0^b	74.89 ± 0.60^a

Control: Wheat flour without SP or SPE. SP: *Spirulina platensis*, SPE: *Spirulina platensis* protein extract. SP-0.125, SP-0.25 and SP-0.50: Wheat flour including 0.125%, 0.25% and 0.50% SP, respectively. SPE-0.125, SPE-0.25 and SPE-0.50: Wheat flour including 0.125%, 0.25% and 0.50% SPE, respectively. Each value is given as mean \pm standard deviation (n=3). Different letters in the column indicate statistically ($p \leq 0.05$) difference by Tukey test.

In the present study, protein, carbohydrate, lipid and ash content of SP were $53.10 \pm 0.20\%$, $34.40 \pm 1.34\%$, $2.73 \pm 0.0\%$ and $0.82 \pm 0.0\%$, respectively. Similarly, in the study conducted by Kargın-Yılmaz and Duru (2011), protein, carbohydrate, lipid, ash, and moisture content of SP were found 55-70%, 15-25%, 6-8%, 7-13%

and 3-7%, respectively. In the present study, protein content of SP and SPE was found to be statistically higher than the protein content of other samples ($p \leq 0.05$). On the other hand, moisture content of SPE was higher than those of the other samples (17.3%, $p \leq 0.05$) because of water used as a solvent in the applied extraction

process. The sample with the highest lipid content (2.73%) was SP ($p \leq 0.05$). The ash content of the samples varied between 0.42% and 0.82%, and SP had higher ash content than the other samples (Table 2, $p \leq 0.05$).

Textural properties

The firmness and elasticity properties of the bread samples given in Table 3. The firmness values of the samples varied between 676.2 and 919.4 g ($p \leq 0.05$). The sample with the highest firmness value was the control sample (919.4 g, $p \leq 0.05$), while the samples with the lowest were SP-0.25 (676.2 g), SP-0.5 (696.2 g) and SPE-0.25 (714.0 g) ($p \leq 0.05$). It was observed that the bread samples to which SP and SPE were added had a less firm structure than the control samples ($p \leq 0.05$). Similar to these findings, Rózyło et al. (2017) also

found that as the amount of brown algae added to the breads increased, the firmness value of the breads decreased. On the other hand, the control sample had the highest elasticity value ($49.6 \pm 0.0\%$), whereas the bread including 0.5% SP was the sample with lowest elasticity ($47.7 \pm 0.1\%$) ($p > 0.05$). Likewise, in the study of Sanjari et al. (2018), elasticity property decreased significantly in samples with *Spirulina* compared to the control sample. However, in the study conducted by Rózyło et al. (2017), compared with the control bread (0% algae), a larger elasticity was obtained while even using 2%, 4%, and 6% of brown algae. In our study, the effect of SP and SPE on the elasticity of the bread samples was not statistically significant ($p > 0.05$).

Table 3: The firmness, elasticity, volume and color values of the control and the bread samples with *Spirulina platensis* and *Spirulina platensis* protein extracts at levels of 0.125%, 0.25% and 0.50%.

Sample	Firmness (g)	Elasticity (%)	Volume (mL/g)	Color		
				L*	a*	b*
Control	919.4±34.7 ^a	49.6±0.0 ^a	5.2±0.1 ^g	60.8±0.4 ^a	4.4±0.5 ^f	20.8±0.2 ^a
SP-0.125	836.3±4.6 ^{ab}	48.1±0.3 ^a	5.3±0.0 ^f	57.5±1.4 ^{abc}	6.2±0.7 ^b	20.8±0.0 ^a
SP-0.25	676.2±33.4 ^b	47.9±1.5 ^a	5.7±0.1 ^c	60.5±1.7 ^{ab}	3.9±1.5 ^g	20.0±0.7 ^{ab}
SP-0.50	696.2±1.9 ^b	47.7±0.1 ^a	5.5±0.0 ^e	53.3±0.1 ^{bc}	4.5±0.3 ^e	19.0±0.0 ^{ab}
SPE-0.125	782.4±44.9 ^{ab}	47.8±0.2 ^a	5.8±0.0 ^b	55.3±3.1 ^{abc}	7.1±1.8 ^a	20.7±0.3 ^{ab}
SPE-0.25	714.0±51.1 ^b	47.8±0.4 ^a	5.5±0.1 ^d	52.2±1.0 ^c	5.2±0.4 ^c	18.9±0.2 ^b
SPE-0.50	764.6±36.7 ^{ab}	48.2±0.1 ^a	5.9±0.1 ^a	52.2±1.8 ^{abc}	5.1±1.2 ^d	19.1±0.0 ^{ab}

SP: *Spirulina platensis*, SPE: *Spirulina platensis* protein extract. SP-0.125, SP-0.25 and SP-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SP, respectively. SPE-0.125, SPE-0.25 and SPE-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SPE, respectively. Each value is given as mean±standard deviation (n=3). Different letters in the column indicate statistically ($p \leq 0.05$) difference by Tukey test.

Volume characteristics

As seen in Table 3, volume values of control and SP and SPE added breads samples varied between 5.2-5.9 g/mL. The breads with SP and SPE had higher volume values than the control samples (Table 2, $p \leq 0.05$). When the density and volume properties of the samples were evaluated together, it was seen that the samples with a firmer structure had a lower volume. For example, it was determined that the firmer control samples also had the lowest volume value among all samples (Table 3). Based on in our previous study (Yılmaz

and Yucetepe, 2021), it can be said that the water holding capacity of the samples generally increased with the addition of SP and SPE, therefore the enriched bread samples had higher volume values. Similarly, compared to the control bread, a larger volume was obtained using 4% of brown algae *Ascophyllum nodosum* powder in gluten-free bread (Rózyło et al., 2017). Unlike our study, Mamat et al. (2014) determined that bread volume decreased as the amount of added macroalgae increased in bread samples with macroalgae.

Color characteristics

As seen in Table 3, L^* , a^* and b^* values of the samples differed with the addition of SP and SPE ($p \leq 0.05$). It was seen that L^* values of the samples varied between 52.2 and 60.8 ($p \leq 0.05$). "Brightness" feature expressed by the L^* value decreased with the addition of SP and SPE ($p \leq 0.05$). Similarly, Mamat et al. (2014) and Rózyło et al. (2017) also found that the brightness value decreased with the addition of macroalgae to breads. The b^* (yellow-blueness) value of the samples varied between 18.9-20.8 (Table 3). The L^* (52.2 ± 1.0) and b^* (18.9 ± 0.2) values were the lowest for the bread with SPE-0.25 ($p \leq 0.05$). The a^* value of the samples, "redness-greenness", increased with the addition of SP and SPE, as expected, except for one sample (SP-0.25), due to the addition of green-colored SP and SPE ($p \leq 0.05$). Rózyło et al. (2017) also reported an increase in a^* value as the amount of brown algae added to the breads increased.

In vitro gastro-intestinal digestion of the breads

Changes in total phenolic content

The TPC of the samples before in vitro digestion ranged from 26.06 ± 1.29 mg GAE/100 g dw

(SPE-0.50) to 31.69 ± 0.09 mg GAE/100 g dw (SP-0.25) ($p > 0.05$, Table 4). The difference between TPC values of the bread samples with SP and SPE was insignificant ($p > 0.05$). Conversely, in the work of Egea et al. (2014), cookies enriched with *Spirulina platensis* had an increase of 64% of phenolic compounds in relation to the control. In the study of Fradinho et al. (2020), *S. platensis* provided a significant supplementation of phenolic compounds to the gluten-free pastas when compared to control (without *Spirulina platensis*). Furthermore, pasta with *Spirulina* exhibited high phenolic compounds content compared to control pasta without *Spirulina* (De Marco et al., 2014). In the study of Saharan and Jood (2017), the fortified breads with *Spirulina* powder at 6% had higher total phenolic contents. In our study, the differences in TPC between the control sample and the breads with SP and SPE were insignificant ($p > 0.05$) because SP and SPE were used at lower amount (0.125%, 0.25% and 0.50%) in bread formula compared to these studies in the literature (De Marco et al., 2014; Saharan and Jood, 2017).

Table 4: Changes in total phenolic content and antioxidant activity during in vitro gastrointestinal digestion of the control and the breads including *Spirulina platensis* and *Spirulina platensis* protein extracts at levels of 0.125%, 0.25% and 0.5%.

Sample	Total phenolic content (mg GAE/100 g dw)			CUPRAC (mg TE/100 g dw)		
	In vitro pre-digestion	Stomach phase	Intestinal phase	In vitro pre-digestion	Stomach phase	Intestinal phase
Control	$30.96 \pm 0.65^{b,x*}$	$457.27 \pm 13.98^{a,x}$	$480.51 \pm 10.15^{a,x}$	$51.78 \pm 7.95^{a,x}$	$94.94 \pm 6.16^{a,x,y}$	$110.75 \pm 14.30^{a,x}$
SP-0.125	$30.03 \pm 1.57^{b,x}$	$466.96 \pm 16.75^{a,x}$	$433.47 \pm 79.11^{a,x}$	$41.92 \pm 6.30^{c,x}$	$82.20 \pm 0.00^{b,y}$	$110.25 \pm 3.95^{a,x}$
SP-0.25	$31.69 \pm 0.09^{b,x}$	$493.95 \pm 44.85^{a,x}$	$445.33 \pm 45.15^{a,x}$	$43.84 \pm 0.00^{b,x}$	$114.25 \pm 5.75^{a,x}$	$73.51 \pm 7.81^{b,x}$
SP-0.50	$30.40 \pm 1.75^{b,x}$	$490.91 \pm 39.87^{a,x}$	$449.45 \pm 27.08^{a,x}$	$45.76 \pm 0.27^{b,x}$	$102.75 \pm 5.75^{a,x,y}$	$90.53 \pm 2.80^{a,x}$
SPE-0.125	$29.20 \pm 1.11^{b,x}$	$438.99 \pm 11.77^{a,x}$	$551.11 \pm 71.89^{a,x}$	$36.17 \pm 2.19^{b,x}$	$114.25 \pm 0.82^{a,x}$	$114.47 \pm 10.82^{a,x}$
SPE-0.25	$29.02 \pm 1.48^{b,x}$	$409.92 \pm 53.58^{a,x}$	$505.43 \pm 59.93^{a,x}$	$40.00 \pm 0.55^{b,x}$	$101.92 \pm 6.58^{a,x,y}$	$128.99 \pm 38.76^{a,x}$
SPE-0.50	$26.06 \pm 1.29^{b,x}$	$483.02 \pm 15.37^{a,x}$	$488.60 \pm 8.45^{a,x}$	$37.81 \pm 0.82^{b,x}$	$116.72 \pm 4.80^{a,x}$	$128.01 \pm 17.21^{a,x}$

SP: *Spirulina platensis*, SPE: *Spirulina platensis* protein extract. SP-0.125, SP-0.25 and SP-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SP, respectively. SPE-0.125, SPE-0.25 and SPE-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SPE, respectively. Each value is given as mean \pm standard deviation ($n=3$). *: Means with the same letter within a line (a,b,c) and column (x,y,z) are significantly different by Tukey test ($p \leq 0.05$).

In the present study, TPC of all samples was significantly higher after in vitro gastric and intestinal digestions than pre-digestion samples ($p \leq 0.05$). Similar to our study, in a study of Chen

et al. (2014), while TPC and antioxidant activity of some of 33 different fruits decreased after in vitro digestion, some increased. Moreover, SPE-0.125 had the highest TPC (551.11 ± 71.89 mg

GAE/100 g dw), whereas SP-0.125 was the bread sample including the lowest TPC (433.47 ± 79.11 mg GAE/100 g dw). Many literature data (e.g. Abdelhamid et al., 2018, Drevelegka and Goula, 2020; Rebollo-Hernanz et al., 2021) on food polyphenols relate only to compounds soluble in aqueous organic extracts, but especially polyphenols with a high degree of polymerization and associated with high molecular weight compounds can not be extracted with the standard extraction methods and solvents used. Therefore, this may be the reason why the total phenolic content was low in vitro pre-digestion. In the present study, TPC increased during in vitro digestion because these polyphenolic fractions may become bioactive after release from the food matrix by digestive enzymes in the small intestine and degradation in the large intestine (Jenner et al., 2005).

Changes in antioxidant activity

Before in vitro digestion, AOA of the samples by CUPRAC method changed from 36.17 ± 2.19 TE/100 g dw (SPE-0.125) to 51.78 ± 7.95 mg TE/100 g dw (control) and addition of SP and SPE to breads did not cause a significant change in antioxidant activity of the bread samples because of the use of SP and SPE at low concentrations in bread formulations ($p > 0.05$, Table 4). On the other hand, in the work of Zlateva et al. (2020), with an increased *S. platensis* concentration in wheat bread, significant changes were noted in antioxidant activity. In the present study, after in vitro gastric digestion, AOA of SP-0.25 (114.25 ± 5.75 mg TE/100 g), SPE-0.125 (114.25 ± 0.82 mg TE/100 g) and SPE-0.50 (116.72 ± 4.80) was higher than other samples ($p \leq 0.05$). Moreover, antioxidant activity of all bread samples with SP and SPE, except control sample, increased after in vitro gastric digestion ($p \leq 0.05$). The breads including SPE at all levels had higher AOA than the control and the bread with SP after in vitro intestinal digestion ($p > 0.05$). On the other hand, compared to undigested samples, AOA of the bread samples, except bread with SP-0.125 and the control sample, increased after in vitro intestinal digestion ($p \leq 0.05$). Similarly, Chen et al. (2014 and 2015) also

reported an increase in the antioxidant activity of some fruits after in vitro digestion.

In the present study, AOA of the samples by DPPH method could not be determined because the samples did not respond to DPPH radical. According Apak et al. (2007) and Çekiç et al. (2009), DPPH is more suitable for lipophilic antioxidants in organic solvent media. Moreover, in the study of Chen et al. (2015) and Puangkam et al. (2017), DPPH value of some vegetables decreased after in vitro gastrointestinal digestion, and it was stated that the reason for this decrease was the decrease in the biological reactivity of compounds with antioxidant activity under the intestinal digestive conditions where the pH value is approximately 7.4.

Change in protein digestibility (%)

The amount of protein before in vitro gastrointestinal digestion of the samples was changed between 1.81 mg/g dw and 2.19 mg/g dw ($p > 0.05$, Figure 1). After in vitro gastro-intestinal digestion, protein amounts of the samples varied between 11.86 mg/g dw and 12.30 mg/g dw ($p > 0.05$, Figure 1). Similar to the findings obtained in the study, S'wieca et al. (2013) revealed that in vitro pre-digestion protein content of bread samples enriched with onion skin was found to be 13.30 mg/g in the lowest for control sample. In the same study, the lowest protein content in the bread samples after in vitro digestion was determined as 2.88 mg/g protein (S'wieca et al., 2013). In our study, protein digestibility (%) of the samples varied between 81.86% and 85.02% ($p > 0.05$, Figure 1). On the other hand, these values were higher than protein digestibility (%) values (55.00-78.35%) of the bread samples enriched with onion skin investigated by S'wieca et al. (2013). Conversely, in the study of Saharan and Jood (2017), the fortified breads with *Spirulina* powder at 6% had higher in vitro protein digestibility. According to De Marco et al. (2014), protein content of bread wheat pasta incorporated with *Spirulina* resulted increased while its protein digestibility was reduced as microalgae content increased.

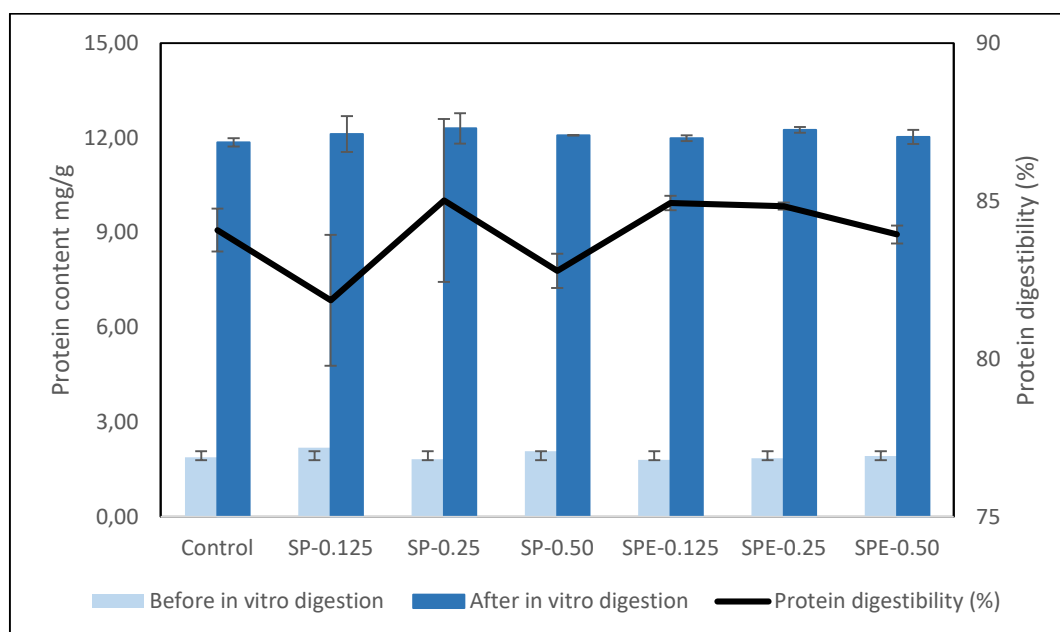


Figure 1: Change in protein content and % protein digestibility during in vitro digestion of the breads in which control and *Spirulina platensis* and *Spirulina platensis* protein extracts.

SP: *Spirulina platensis*, SPE: *Spirulina platensis* protein extract. SP-0.125, SP-0.25 and SP-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SP, respectively. SPE-0.125, SPE-0.25 and SPE-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SPE, respectively. Each value is given as mean \pm standard deviation ($n=3$).

Sensory analysis

The results of sensory analysis of the control and the bread samples including SP and SPE in terms of odour, crust and inner color, crumb pore size and homogeneity, shape, volume, acceptability and preferability characteristics are shown in Table 5. Visual appearances of the bread samples are shown in Figure 2. The SP-0.50 was scored by the panelists with the lowest odour value (2.8 ± 0.2) and the difference between the odour characteristics of the samples was statistically significant ($p \leq 0.05$). The highest odour score among the samples was 3.6 for the control sample, SPE-0.125 and 3.5 for SPE-25 and SP-0.125. The sensory properties and consumption of algae are restricted due to their fishy odor. As an interesting result in this study, all bread samples with SP and SPE, except SP-0.50, were evaluated to have odour characteristics close to the control sample by the panelists. While the difference between the crumb colors of the samples was not significant ($p > 0.05$), SPE-0.50 had a better crust color than the other samples ($p \leq 0.05$). Pore size values of bread crumb ranged from 2.3 to 3.8, and the highest score was given to SPE-0.50 ($p \leq 0.05$). Similarly, crumb pore

homogeneity of SPE-0.50 (3.8), crumb pore homogeneity (3.6), bread shape (4.2), bread volume-swelling (4.4) scores were statistically significantly higher than the other bread samples ($p \leq 0.05$). The acceptability scores of the samples were lowest for SP-0.50 with 2.7, and the highest for SPE-0.50 with 3.9 ($p \leq 0.05$). When the control and the bread samples including SP and SPE were evaluated together with all the sensory properties, the most preferred bread sample by the panelists was SPE-0.50% with a score of 3.6 ± 0.1 . In the study of İlhan et al., (2020), according to the sensory analysis results of the bread samples with *Spirulina platensis* added in the ratios of 0.1%, 0.5%, 1.0%, 3.0%, it was determined that SP-0.1% and 0.5% added samples found to be as acceptable.

The bread sample with SPE-0.50 had higher scores in terms of crust color (3.9 ± 0.1), crumb color (3.4 ± 0.1), crumb pore size (3.8 ± 0.2), crumb pore homogeneity (3.6 ± 0.0), bread shape (4.2 ± 0.2), bread volume (4.4 ± 0.0), acceptability (3.6 ± 0.1) and preferability (3.9 ± 0.1) ($p \leq 0.05$, Table 5). In our study, *Spirulina platensis* and

Breads including *Spirulina platensis* and *S. platensis* protein extract

protein extracts from *Spirulina platensis* did not cause any negative effect on sensory properties of the breads since SP and SPE were used at low concentration compared to the literature (De

Marco et al., 2014; Saharan and Jood, 2017; Sanjari et al., 2018). On the other hand, Sanjari et al. (2018) reported that samples with *Spirulina* powder received the lowest sensory properties.

Table 5: Sensory analysis of control and bread samples with *Spirulina platensis* and *Spirulina platensis* protein extracts in terms of odour, crust and crumb color, crumb pore size and homogeneity, shape, volume, acceptability and preferability.

Sample	Odour	Color		Crumb pore size	Crumb pore homogeneity	Bread shape	Bread volume	Acceptability	Preferability
		Crust	Crumb						
Control	3.6±0.0 ^a	2.5±0.1 ^b	3.1±0.1 ^a	2.3±0.2 ^b	2.4±0.1 ^b	3.1±0.2 ^b	2.3±0.2 ^c	3.1±0.2 ^{ab}	2.5±0.1 ^d
SP-0.125	3.5±0.0 ^a	2.6±0.0 ^b	3.1±0.2 ^a	2.7±0.1 ^b	2.6±0.0 ^b	3.3±0.1 ^b	2.6±0.1 ^c	3.3±0.1 ^{ab}	2.8±0.0 ^{cd}
SP-0.25	3.3±0.2 ^{ab}	3.1±0.2 ^{ab}	3.2±0.3 ^a	2.9±0.1 ^b	2.8±0.2 ^b	3.4±0.0 ^{ab}	2.8±0.1 ^c	3.1±0.2 ^{ab}	2.8±0.1 ^{cd}
SP-0.50	2.8±0.2 ^b	3.4±0.1 ^{ab}	3.0±0.1 ^a	2.7±0.1 ^b	2.7±0.1 ^b	3.1±0.1 ^b	3.0±0.2 ^{bc}	2.7±0.2 ^b	2.4±0.0 ^d
SPE-0.125	3.6±0.1 ^a	3.0±0.2 ^{ab}	3.4±0.1 ^a	2.7±0.1 ^b	2.7±0.2 ^b	3.3±0.1 ^b	2.8±0.0 ^c	3.2±0.0 ^{ab}	3.1±0.1 ^{bc}
SPE-0.25	3.5±0.0 ^a	3.4±0.3 ^{ab}	3.4±0.1 ^a	3.2±0.1 ^{ab}	3.1±0.2 ^{ab}	3.7±0.2 ^{ab}	3.7±0.2 ^{ab}	3.5±0.1 ^{ab}	3.4±0.0 ^{ab}
SPE-0.50	3.4±0.1 ^{ab}	3.9±0.1 ^a	3.4±0.1 ^a	3.8±0.2 ^a	3.6±0.0 ^a	4.2±0.2 ^a	4.4±0.0 ^a	3.9±0.1 ^a	3.6±0.1 ^a

SP: *Spirulina platensis*, SPE: *Spirulina platensis* protein extract. SP-0.125, SP-0.25 and SP-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SP, respectively. SPE-0.125, SPE-0.25 and SPE-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SPE, respectively. Each value is given as mean±standard deviation (n=3). Different letters in the column indicate statistically difference by Tukey test (p≤0.05).



Figure 2: Visual appearances of the breads in which control and *Spirulina platensis* and *Spirulina platensis* protein extracts.

SP: *Spirulina platensis*, SPE: *Spirulina platensis* protein extract. SP-0.125, SP-0.25 and SP-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SP, respectively. SPE-0.125, SPE-0.25 and SPE-0.50: Bread with 0.125%, 0.25% and 0.50% SPE, respectively.

CONCLUSION

Spirulina platensis microalgae is an important food and food ingredients source due to its high protein content. In this study, firstly, the textural, volume, sensory and color properties of the bread samples with *Spirulina platensis* and *Spirulina platensis* protein extracts, as well as the change in total phenolic content, antioxidant activity and % protein digestibility during in vitro digestion were investigated. According to the results of the texture analysis, it was determined that the bread samples with SP and SPE had less firm structure and higher volume value than the control sample. In addition, the bread samples with SPE were found to be more preferable in terms of sensory properties than other bread samples. The L* and b* values were the lowest for the bread with SPE-0.25. Moreover, SPE-0.125 had the highest TPC and the breads including SPE at all levels had higher AOA than the control and the bread with SP after in vitro intestinal digestion. On the other hand, addition of *Spirulina platensis* or protein extracts obtained from *Spirulina platensis* to the bread samples did not statistically cause any change on total phenolic content, antioxidant activity and % protein digestibility of the samples. Therefore, in future studies, it may be aimed to improve the rheological, techno-functional and sensory properties of the bread samples prepared with the addition of *Spirulina platensis* and *Spirulina platensis* protein extracts at different rates, as well as to increase antioxidant activity in particular.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank Erke Adk Industry Trade Ltd. (Istanbul, Turkey) for its support on the manufacture of breads.

CONTRIBUTIONS OF ALL AUTHORS

Aysun Yucetepe designed the study and critically reviewed the manuscript. All analysis were carried out by Meltem Yılmaz. The authors analyzed the data, wrote the manuscript and approved the final manuscript. This study is part of Meltem Yılmaz's master's thesis entitled "*Spirulina platensis* protein ekstraktları ile zenginleştirilmiş buğday unundan üretilen hamur ve ekmeğin reolojik ve bazı biyoaktif özellikleri"

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- Abd El Baky, H.H., El Baroty, G.S., Ibrahim, E.A. (2015). Functional characters evaluation of biscuits sublimated with pure phycocyanin isolated from *Spirulina* and *Spirulina biomass*. *Nutricion Hospitalaria*, 32(1): 231-241.
- Abdelhamid, A., Jouini, M., Amor, H.B.H., Mzoughi, Z., Dridi, M., Said, R.B., Bouraoui, A. (2018). Phytochemical analysis and evaluation of the antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive potential of phlorotannin-rich fractions from three Mediterranean brown seaweeds. *Marine Biotechnology*, 20: 60-74.
- Ak, B., Avsaroglu, E., Isik, O., Özyurt, G., Kafkas, E., Etyemez, M. (2016). Nutritional and physicochemical characteristics of bread enriched with microalgae *Spirulina platensis*. *International Journal of Engineering Research and Applications*, 6(9): 30-38.
- Anonymous (1986). Official Method of Analysis. AACC International (methods 74-09), Eighth Edition, St. Paul, MN, USA.
- Anonymous (2008). Official Method of Analysis. AACC International (methods 10-05), Tenth Edition, St. Paul, MN, USA.
- Anonymous (1990). Official Method of Analysis. AOAC International. Fifteenth Edition, Washington, DC, USA.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26): 7970-7981.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7): 1496-1547.

- Benelhadj, S., Gharsallaoui, A., Degraeve, P., Attia, H., Ghorbel, D. (2016). Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* protein isolate. *Food Chemistry*, 194: 1056-1063.
- Bermejo, P., Pinero, E., Villar, A.M. (2008). Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. *Food Chemistry*, 110(2): 436-445.
- Cansız, Z., Candal Uslu, C., Mutlu, C., Arslan Tontul, S., Ercan, R., Erbaş, M. (2020). Farklı oranlarda peynir altı suyu kullanımının beyaz ve tam buğday unlarından üretilen ekmeklerin bazı özellikleri üzerine etkisi. *GIDA*, 45(1): 125-138.
- Chamorro-Cevallos, G., Garduño-Siciliano, L., Barrón, B.L., Madrigal-Bujaidar, E., Cruz-Vega, D.E. ve Pages, N. (2008). Chemoprotective effect of *Spirulina* (*Arthrospira*) against cyclophosphamide-induced mutagenicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2): 567-574.
- Chen, G.L., Chen, S.G., Zhao, Y.Y., Luo, C.X., Li, J., Gao, Y.Q. (2014). Total phenolic contents of 33 fruits and their antioxidant capacities before and after in vitro digestion. *Industrial Crops and Products*, 57: 150-157.
- Chen, G.L., Chen, S.G., Xie, Y.Q., Chen, F., Zhao, Y.Y., Luo, C.X., Gao, Y.Q. (2015). Total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of 23 edible flowers subjected to in vitro digestion. *Journal of Functional Foods*, 17: 243-259.
- Çekiç, S.D., Başkan, K. S., Tütem, E., Apak, R. (2009). Modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) assay for measuring the antioxidant capacities of thiol-containing proteins in admixture with polyphenols. *Talanta*, 79(2): 344-351.
- De Marco, E. R., Steffolani, M. E., Martínez, C. S., León, A. E. (2014). Effects of *Spirulina* biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. *LWT-Food Science and Technology*, 58(1): 102-108.
- Drevelgka, I., Goula, A. M. (2020). Recovery of grape pomace phenolic compounds through optimized extraction and adsorption processes. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 149: 107845.
- Fradinho, P., Niccolai, A., Soares, R., Rodolfi, L., Biondi, N., Tredici, M. R., Raymundo, A. (2020). Effect of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) incorporation on the rheological and bioactive properties of gluten-free fresh pasta. *Algal Research*, 45: 101743.
- Egea, B. C. B., Campos, A. L. M., De Carvalho-Eliane, J. C. M., Danesi, D. G. (2014). Antioxidant and nutritional potential of cookies enriched with *Spirulina platensis* and sources of fibre. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53(2): 171-9.
- El-Tantawy, W.H. (2015). Antioxidant effects of *Spirulina* supplement against lead acetate-induced hepatic injury in rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6 (4): 327-331.
- Estrada, J.P., Bescós, P.B., Del Fresno, A.V. (2001). Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *II Farmaco*, 56(5-7): 497-500.
- Gad, A.S., Khadrawy, Y.A., El-Nekeety, A. A., Mohamed, S. R., Hassan, N. S., Abdel-Wahhab, M. A. (2011). Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and *Spirulina* in rats. *Nutrition*, 27(5): 582-589.
- Ghaeni, M., Roomiani, L. (2016). Review for application and medicine effects of *Spirulina*, microalgae. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*, 3(2): 114-117.
- Gün, D., Çelekli, A., Bozkurt, H., Kaya, S. (2022). Optimization of biscuit enrichment with the incorporation of *Arthrospira platensis*: nutritional and sensory approach. *Journal of Applied Phycology*, 34(3): 1555-1563.
- İlhan, E., Büyükizgi, A.N., Ermiş, E. (2020). Mavi-yeşil alg *Spirulina platensis*'in buğday ekmeğinde kimyasal, duyuşsal ve antifungal etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 24: 22-29.
- Jenner, A.M., Rafter, J., Halliwell, B. (2005). Human fecal water content of phenolics: the extent of colonic exposure to aromatic compounds. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(6): 763-772.

- Keskin, Ş., Kaplan Evlice, A. (2015). Fırın ürünlerinde kinoa kullanımı. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 24(2):150-156.
- Kargın-Yılmaz, H., Duru, M.D. (2011). Sianobakteri *Spirulina platensis*'in besin kimyası ve mikrobiyolojisi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4(1): 31-43.
- Kumaran, A. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97(1): 109-114.
- Lee, J.Y., Kang, S.H., Kim, M.R. (2011). Changes in the quality characteristics and antioxidant activities of *Spirulina* added bread during storage. *Korean Journal of Food Preservation*, 18(1): 111-118.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275.
- Mamat, H., Matanjun, P., Ibrahim, S., Amin, S.F.M., Hamid, M.A., Rameli, A.S. (2014). The effect of seaweed composite flour on the textural properties of dough and bread. *Journal of Applied Phycology*, 26(2): 1057-1062.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, Brodtkorb A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & Function*, 5(6): 1113-1124.
- Montevecchi, G., Santunione, G., Licciardello, F., Köker, Ö., Masino, F., Antonelli, A. (2022). Enrichment of wheat flour with *Spirulina*. Evaluation of thermal damage to essential amino acids during bread preparation. *Food Research International*, 111357.
- Niccolai, A., Venturi, M., Galli, V., Pini, N., Rodolfi, L., Biondi, N., Tredici, M. R. (2019). Development of new microalgae-based sourdough “crostini”: Functional effects of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) addition. *Scientific Reports*, 9(1): 1-12.
- Pelizer, L.H., de Carvalho, J.C.M., de Oliveira Moraes, I. (2015). Protein production by *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* in solid state cultivation using sugarcane bagasse as support. *Biotechnology Reports*, 5: 70-76.
- Puangkam, K., Muanghorm, W., Konsue, N. (2017). Stability of bioactive compounds and antioxidant activity of *Thai cruciferous* vegetables during in vitro digestion. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 5(2): 100-108.
- Rózyło, R., Hameed Hassoon, W., Gawlik-Dziki, U., Siastala, M., Dziki, D. (2017). Study on the physical and antioxidant properties of gluten-free bread with brown algae. *CyTA-Journal of Food*, 15(2): 196-203.
- Saharan, V., Jood, S. (2017). Vitamins, minerals, protein digestibility and antioxidant activity of bread enriched with *Spirulina platensis* powder. *International Journal of Agriculture Sciences*, 9(9): 3917-3919.
- Shahbazizadeh, S., Khosravi-Darani, K., Sohrabvandi, S. (2015). Fortification of Iranian traditional cookies with *Spirulina platensis*. *Annual Research & Review in Biology*, 144-154.
- Raczyk, M., Polanowska, K., Kruszewski, B., Grygier, A., Michalowska, D. (2022). Effect of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) Supplementation on Physical and Chemical Properties of Semolina (*Triticum durum*) Based Fresh Pasta. *Molecules*, 27(2): 355.
- Rebollo-Hernanz, M., Cañas, S., Taladrid, D., Benítez, V., Bartolomé, B., Aguilera, Y., Martín-Cabrejas, M. A. (2021). Revalorization of coffee husk: Modeling and optimizing the green sustainable extraction of phenolic compounds. *Foods*, 10(3): 653.
- Rózyło, R., Hameed Hassoon, W., Gawlik-Dziki, U., Siastala, M., Dziki, D. (2017). Study on the physical and antioxidant properties of gluten-free bread with brown algae. *CYTA-Journal of Food*, 15(2): 196-203.
- Sanjari, S., Sarhadi, H., Shahdadi, F. (2018). Investigating the effect of *Spirulina platensis* microalgae on textural and sensory properties of baguette bread. *Journal of Nutrition and Food Security*, 3(4): 218-225.
- Świeca, M., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., Baraniak, B., Czyż, J. (2013). The influence of protein-

- flavonoid interactions on protein digestibility in vitro and the antioxidant quality of breads enriched with onion skin. *Food Chemistry*, 141(1): 451-458.
- Stone, A.K., Karalash, A., Tyler, R.T., Warkentin, T.D., Nickerson, M.T. (2015). Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars. *Food Research International*, 76: 31-38.
- Toor, R. K., Savage, G.P. (2006). Changes in major antioxidant components of tomatoes during post-harvest storage. *Food Chemistry*, 99(4): 724-727.
- Vo, T., Ngo, D., Kim, S. (2016). Nutritional and pharmaceutical properties of microalgal *Spirulina*. In: *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*, Kim S. K. (ed.), Elsevier Inc, the UK. pp. 299-308.
- Wang, L., Pan, B., Sheng, J., Xu, J., Hu, Q. (2007). Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food Chemistry*, 105(1): 36-41.
- Yılmaz, M., Yucetepe, A. (2021). *Spirulina platensis* protein ekstraktları ile zenginleştirilmiş buğday unundan üretilen hamurun reolojik ve teknofonksiyonel özelliklerinin araştırılması. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 27: 768-775.
- Yucetepe, A., Saroglu, O., Daskaya-Dikmen, C., Bildik, F., Ozcelik, B. (2018). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of protein from *Spirulina platensis* using RSM. *Czech Journal of Food Sciences*, 36(1): 98-108.
- Zlateva, D., Ivanova, P., Chochkov, R., Stefanova, D. (2020). Effect of *Spirulina platensis* and kelp on the antioxidant activity of wheat bread. *Ukrainian Food Journal*, 9(3).



SOME CHARACTERISTICS OF TURKISH-STYLE FERMENTED GARLIC PICKLES PRODUCED USING FOUR DIFFERENT POTENTIALLY PROBIOTIC STARTER CULTURES

Duygu Alp^{1*}, Hakan Kuleaşan²

¹Ardahan University, School of Tourism and Hospitality Management, Department of Gastronomy and Culinary Arts, Ardahan, Türkiye

²Suleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Isparta, Türkiye

Received /Geliş: 24.03.2022; Accepted /Kabul: 07.08.2022; Published online /Online baskı: 12.09.2022

Alp, D., Kuleaşan, H. (2022). Some characteristics of Turkish-style fermented garlic pickles produced using four different potentially probiotic starter cultures. GIDA 47 (5) 790-803 doi: 10.15237/gida.GD22038

Alp, D., Kuleaşan, H. (2022). Dört farklı potansiyel probiyotik kültür kullanılarak üretilen Türk tipi sarımsak turşularının bazı özellikleri. GIDA 47 (5) 790-803 doi: 10.15237/gida.GD22038

ABSTRACT

Mono-cultured or mixed-cultured fermentations have been preferred to spontaneous fermentation in pickle production. Therefore, five different groups of garlic pickles were produced adopting the Turkish-style fermentation using monocultures or mixed-cultures containing four different probiotic strains. The inhibitory effect of garlic on those strains, the antagonistic activities, the organic acid production abilities of the strains were examined. The chemical properties of the produced pickles, the viability of the strains, their relationship with yeasts in this process were investigated. At the end of the fermentation, there was an approximately 1-logarithmic-decrease in the microbial counts of all the tested strains used for the pickle groups, of which their initial counts was an average of 6.99 Log CFU/ml. All of the strains produced nine different organic acids. This result was associated with the hetero/homo-fermentative properties of the strains. The results showed that the production by probiotic bacteria supported the functional properties of the pickles.

Keywords: Garlic pickle, starter culture fermentation, food quality, antimicrobial property, lactic acid bacteria

DÖRT FARKLI POTANSİYEL PROBİYOTİK KÜLTÜR KULLANILARAK ÜRETİLEN TÜRK TİPİ SARIMSAK TURŞULARININ BAZI ÖZELLİKLERİ

ÖZ

Son zamanlarda turşu üretiminde tek veya karışık kültür fermentasyonları spontane fermentasyonlara tercih edilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda Türk usulü fermente edilmiş, tek ve karışık formda beş farklı grup sarımsak turşusu, dört farklı probiyotik suş kullanılarak üretilmiştir. Sarımsakların bu suşlar üzerindeki inhibitör etkisinin olup olmadığı, suşların antagonistik aktiviteleri ve organik asit üretim yetenekleri belirlenmiş, üretilen turşuların kimyasal özellikleri, kullanılan suşların canlılıkları ve bu süreçte mayalarla olan ilişkileri araştırılmıştır. Fermentasyon sonunda turşu grupları için kullanılan probiyotik suşların canlılıklarında yaklaşık 1 logaritmik azalma olmuş ve ortalama 6.99 Log CFU/ml ile fermentasyonu tamamlamışlardır. Suşların fermentasyon sonunda dokuz farklı organik asit

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: duygualp1@gmail.com

☎: (+90) 478 211 75 75

Duygu Alp; ORCID no: 0000-0003-3268-9677

Hakan Kuleaşan; ORCID no: 0000-0002-0893-0689

ürettikleri belirlenmiş, bunun, suşların hetero/homo-fermentatif özellik göstermeleri ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Elde edilen sonuçlar probiyotik bakteriler tarafından üretilen turşunun fonksiyonel özelliklerinin desteklendiğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Sarımsak turşusu, starter kültür fermantasyonu, gıda kalitesi, antimikrobiyal özellik, laktik asit bakterileri

INTRODUCTION

Fermentation is one of the oldest methods of food preservation and fermented foods generally have beneficial flora for the regularity and health of human digestive system. The flora in fermented foods mainly consists of lactic acid bacteria (LAB) and they produce lactic acid by the utilization of fermentable sugars. Thanks to the lactic acid fermentation, the ingredients of the herbs, and the quality, taste and aroma of the product are well preserved (Bamforth 2005; Çetin 2011; Tokatlı et al., 2015; Chaiyasut et al., 2018). Today, food production methods are preferred in which microorganisms such as LAB with various extra characteristics (Herrerros et al., 2005). Pickles are one of the main fermented foods produced by using such microorganisms and preserving foodstuffs under high acid concentration, enabling their preservation for a long time without any need of refrigeration (Nurul and Asmah 2012; Chaiyasut et al., 2018; Behera et al., 2020). Especially *Lactiplantibacillus* strains have been known as preferred starter cultures for use in fermented pickles. This was associated with the fact that some lactobacilli species are facultative hetero-fermentative and they are able to transform hexoses into lactic acid and, subsequently, to acetic acid, also producing various metabolites with desirable properties. Also, when pickles are fermented by LAB, they will possibly have a distinctive flavor and exert positive health effects (Behera et al., 2020). These positive effects can be related to many compounds such as antimicrobials, lactic acid, acetic acid, hydrogen peroxide, diacetyl, ethanol, and bacteriocins produced by LAB. Those important properties of LAB starter cultures also contribute to the assurance of food safety and technological quality of fermented products (Herrerros et al., 2005; Irkin and Songun 2012; Choi et al., 2018). Release of inhibitory chemical compounds produced by LAB and high salt concentration in fermented foods may suppress growth of pathogenic or spoilage bacteria (Inatsu

et al., 2005). Other than the inhibitory substances of LAB, some vegetables contain various natural substances that have the capacity to inhibit the growth of pathogenic and spoilage microorganisms.

Garlic (*Allium sativum*) is a small bulbous plant belonging to the *Alliaceae* or *Liliaceae* family, and has been known for many years to contribute to various health benefits and cuisine flavor. (Sethi et al., 2014; Sadeghi, 2016). Garlic is also rich in vast amounts of nutritional compounds including protein, calcium, magnesium, iron, potassium, zinc, arginine, saponins, polyphenols, and selenium and commonly contain abundant levels of Vitamin A, Vitamin B6 and B1, and vitamin C (Sethi et al., 2014).

The present study mainly aimed to produce garlic pickles adopting the Turkish-style fermentation using bacterial strains isolated from natural sources, and known to have various probiotic properties. The second aim was determine the effects of the production made with these selected strains on garlic pickles. For this purpose, the study examined the inhibitory effect of garlic on these LAB, and investigated whether this effect was affected by temperature. In addition, the organic acids produced by the strains at the end of fermentation were determined and the relationship between the organic acids produced and the microbiological quality of the pickles was examined.

MATERIAL AND METHODS

Material

Isolation and identification of the lactic acid bacteria

The strains used in the study were isolated from naturally fermented cheeses, pickles, and fresh fruits obtained from farmers' markets and identified (Alp, 2018). In addition, their various cultural and biochemical features (fermentation of carbohydrates, salt tolerance, growth at different

temperatures, gas (CO₂) production from glucose, production of H₂S) were determined by the procedures described by Schillinger and Lücke (1987), and various probiotic properties (Alp, 2018; Alp and Kuleaşan 2020).

Methods

Determination of the inhibitory effect of garlic on lactic acid bacteria

Many reserach demonstrated that garlic has inhibitory/lethal effect on various microorganisms (Abiy and Berhe 2016). For this purpose, in our study, we determined whether it has an inhibitory effect on LAB. Two different groups of fresh garlic were used. The first group was kept in boiling water for 1 minut whereas the second group received no treatment. The aim here was to determine whether the heat application had an effect on this feature. The agar well diffusion method was used to determine the antibacterial activity of garlic on the LAB (Andersson et al., 1988). All LAB were incubated at 30°C for 18h. At the end of the incubation, they were adjusted to 0.5 Mc Farland in phosphate-buffered saline solution (PBS). After they (100 µl) were homogeneously injected into the MRS medium, they were poured into sterilized Petri dishes. For the investigation of the antibacterial activity, 10- mm-diameter wells were cut into the media and then garlic was filled into these wells in the agar plates directly. At the end of the incubation period, inhibition zones formed on the media were evaluated (Herrerros et al., 2005; Strika et al., 2017).

Antagonistic activity

Spot on lawn assay method was used to determine the antagonistic activity. The reference cultures used in the study were *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis and *Escherichia coli* type 1, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*, obtained from culture collections of Süleyman Demirel University, Department of Food Engineering. All microorganisms were incubated under their suitable conditions and media, then the optical density of each culture was adjusted to 0.5 McFarland standard in Phosphate-Buffered Saline (PBS). Then the pathogens were inoculated

(1%) into 15 mL of Tryptic Soy Soft agar (Merck) medium, and the lactic acid bacteria were inoculated (1%) into 15 mL De Man Rogosa Sharpe (MRS). First, MRS agar was poured into the petri dishes, then Tryptic Soy soft agar medium was poured on to the MRS agar medium. After a 24-h incubation, zone diameters were measured (Sumathi and Reetha 2012; Fijan, 2016).

Preparation of garlic pickles

First, garlic bulbs were cleaned, and the cloves were peeled and placed in containers in equal grams under aseptic conditions. A total of 6 different groups of garlic pickles were prepared using 4 different LAB, 5 different groups, and a control group. The names of the groups and the lactic acid bacteria they contain and isolation source are given in Table 1. Each pickle group was inoculated with (0.5 MacFarland) 1.5x10⁸ Log CFU/mL of test bacteria. Also, each pickle group received 5% salt, 1% citric acid, and no preservatives were used in the process.

Determination of viability in garlic pickle of LAB and other microorganisms during fermentation

For the microbiological analysis of garlic pickle, samples were taken randomly during fermentation, and then the number of viable cells was determined by serial plating. For total bacterial counts, Plate Count Agar (PCA) was used while, for LAB counts MRS agar was used, Eosin Methylene Blue (EMB) agar was used for Enterobacteriaceae and Potato Dextrose (PD) agar was used for yeasts. All microbiological analyses were made in triplicate and the mean values and standard deviations were calculated (Beganovic et al., 2011).

Determination of titratable acidity and pH value of garlic pickles during fermentation

The titratable acidity values were determined according to Tyl and Sadler (2017). Titratable acidity analyses were carried out by the titration of brines with 0.1 N NaOH and were expressed as percentile lactic acid (% w/v). The pH was determined by a digital pH meter (InoLab, pH Level 1).

Determination of organic acids produced by LAB

Organic acids were determined at Application and Research Center for Innovative Technologies Center (YETEM) of Süleyman Demirel University by Thermo Scientific Ultimate 3000 HPLC device equipped with Fortis MSMS Dedector.

Statistical analysis

Microbial enumerations were done in triplicates and the results are presented as mean±standard deviation. The Minitab 18 statistical software (Minitab, Inc, State College, PA, USA) was used. The differences were determined by one-way ANOVA with a significance level of $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION**Isolation and identification of the lactic acid bacteria**

Fermented foods provide a healthy effect on our gastrointestinal system they make this generally by beneficial bacteria and their different natural property. Besides, these beneficial bacterias will

improve the vegetable's sour taste that is rich in vitamins through various fermentations (Al-Shawi et al., 2019). Therefore, these starter cultures possess at least one strain-specific and functional property and they are used to improve the quality of the end product (Beganovic et al., 2011).

In the present study, pickles were produced from garlic that is known to be beneficial for health, by using 4 different LAB with various functional properties (Alp, 2018; Alp and Kuleaşan 2019). All isolates were Gram-positive, catalase-negative and non-spore-forming. In addition, various characteristics of isolates such as development in different pH environments, resistance to pepsin, pancreatin enzymes and EPS production were determined in our previous studies (Alp, 2018; Alp and Kuleaşan 2019). Garlic pickle was produced with these four well-known strains (Table 1). The selection of the species to be used in pickle production is based on a previous study (Karovičová and Kohajdová 2003).

Table 1. The names of the groups and the lactic acid bacteria and their isolation source

Group Name	Lactic acid bacteria content	Source
Control	Any strain wasn't added	
Group 1	<i>Lactobacillus plantarum</i> DA100	Pickle
Group 2	<i>Lactobacillus fermentum</i> DA134	White cheese
Group 3	<i>Lactobacillus coryniformis</i> DA256	Rosemary
Group 4	<i>Leuconostoc lactis</i> DA268	Eriobotrya japonica
Group 5	All of the total 4 different strains which is reside in each group were added	

Inhibitory effect of Garlic on lactic acid bacteria

Garlic is an antibacterial agent thanks to its main component, allicin, which is responsible for the pungent smell, and, by this means, has antibacterial activity against various Gram-negative and Gram-positive bacteria (Ankri and Mirelman 1999; Harris et al., 2001; Abiy and Behre 2016). However, the relationship of this effect with the heat applied to the garlic is not fully revealed. Therefore, the viability of the tested strains were tested against boiled and unboiled garlic. The purpose of this process was to determine how efficient the garlic's known

antimicrobial effect is against the tested strains. Garlic which was boiled for 1 minute did not show any inhibition effect on the strains, whereas the fresh garlic showed various inhibition effects on LAB (Table 2).

Untreated garlic showed various inhibitory effects on the tested strains and the difference between the heat-treated and untreated garlic was statistically significant. The highest inhibitory effect was recorded for *Lactobacillus fermentum* DA134 (26.66 ± 1.15 mm). Figure 1 shows that the results of tested strains in terms of the antimicrobial effect of boiled and unboiled garlic.

A study indicated that fresh garlic has bacteriostatic activity against the Gram-positive bacteria (Strika et al., 2017). Also, the reserachers compared the fresh and heat-treated garlic

bacteriostatic activity and the results showed that the fresh garlic has a stronger antimicrobial activity than that of the heat treated.

Table 2. Results of the antimicrobial effects of fresh garlic on lactic acid bacteria

Microorganisms	Zone of inhibition (mm)
<i>Lactobacillus plantarum</i> DA100	24.33 ± 0.57 ^b
<i>Lactobacillus. fermentum</i> DA134	26.66 ± 1.15 ^a
<i>Lactobacillus coryniformis</i> DA256	20.00 ± 1.00 ^d
<i>Leuconostoc. lactis</i> DA268	22.33 ± 0.56 ^c

Values are means of three independent determinations and standard errors. In the same column, the letters from a to d represent the largest to smallest order of numeric values, respectively (p < 0.05)

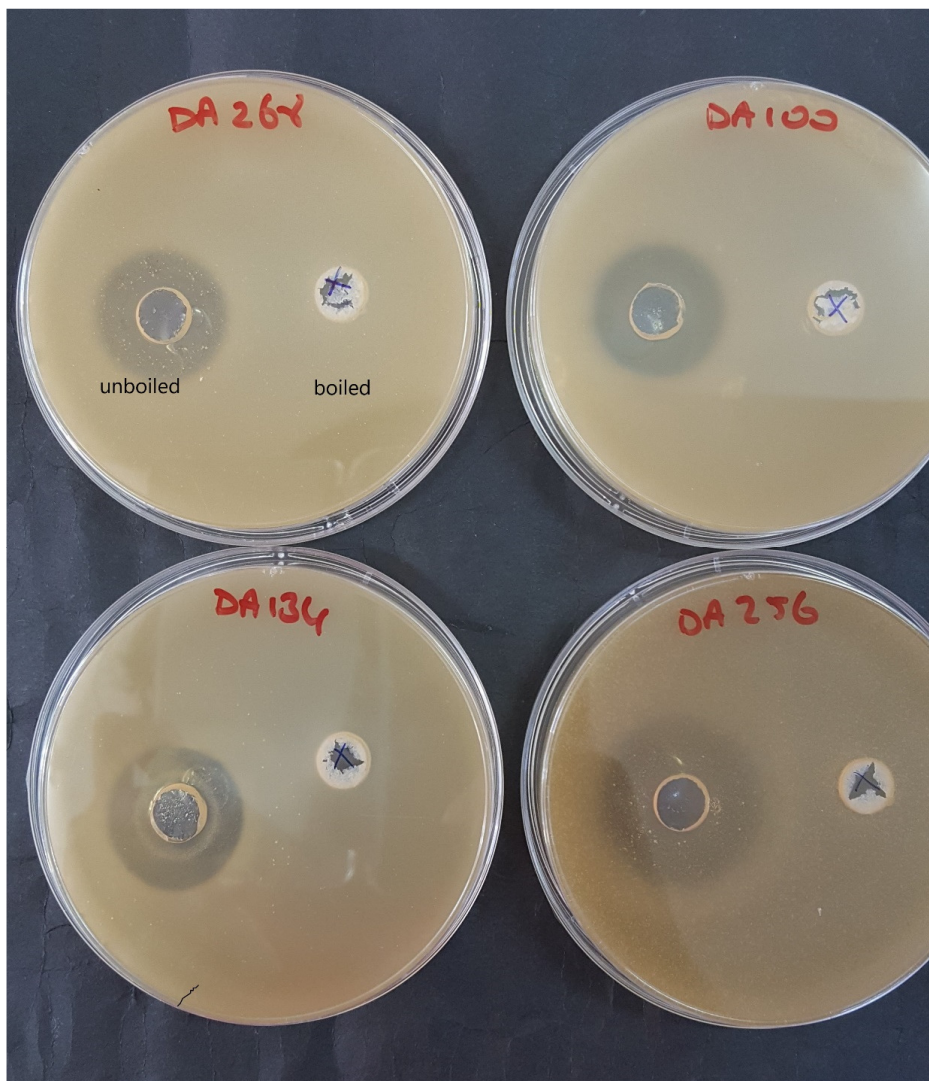


Figure 1. The results of tested strains against the antimicrobial effect of boiled and unboiled garlic

Antagonistic activity

The antagonism between various groups of microorganisms like lactic acid bacteria and

pathogens is widely known in nature and these abilities are based on their organic acids, carbon dioxide, and specific antibiotic substances synthesis (Tsugkiev et al., 2018). Some reserachers indicated that strains of the same species of a microorganism may be widely different from each other in terms of their antagonistic ability (Tsugkiev et al., 2018). Moreover, the reserachers have stated that the antagonistic properties of combinations formed by the correct selection of various strains of the same microorganism species may be more effective.

Table 3. The inhibition zone diameters of lactic acid bacteria against different pathogen bacteria (mm)

Microorganisms	<i>E. coli</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>
<i>L. plantarum</i> DA100	25.66±0.57 ^{cd}	34.00±1.00 ^{cC}	35.66±0.57 ^{cB}	44.00±1.73 ^{aA}
<i>L. fermentum</i> DA134	40.33±0.57 ^{aB}	34.33±1.15 ^{cC}	44.33±0.58 ^{aA}	44.33±1.15 ^{aA}
<i>L. coryniformis</i> DA256	35.00±1.00 ^{bD}	54.66±0.57 ^{aA}	35.33±0.58 ^{cC}	40.33±0.05 ^{bB}
<i>L. lactis</i> DA268	33.00±1.00 ^{bD}	44.66±0.57 ^{bB}	41.00±1.00 ^{bC}	45.00±0.00 ^{aA}

Mean values and standard deviations of three replicates are presented.

*^a Different letters in the same column give results of strains against a single pathogen, between groups significant differences ($p < 0.05$)

** [^] in the same row indicate result of same strain against all pathogens, between groups significant differences ($p < 0.05$).

Our results showed that the same strain may have different antagonistic abilities against different pathogens. For example, *L. corniformis* DA 256 showed the strongest antagonistic property against *S. enteritidis*, contrary to other pathogens. Against *E. coli*, the largest zone (40.33 mm) and the smallest zone (25.66 mm) were observed in *L. fermentum* DA134, and *L. plantarum* DA100, respectively. Compared to other pathogens' zone diameters, *S. aureus* had the largest zone among all tested bacteria, giving the largest zone by *L. lactis* DA268 (45.00 mm).

It was thought that these differences in the antagonistic properties of lactic bacteria may be due to their ability to synthesize various organic acids or antibiotic-like substances. In a study, similar to our results, four different LABs were found to have antagonistic activity against *S. aureus* and *E. coli* (Datta et al., 2013). Strains produced a zone of 14mm against *E. coli*, 13mm against *S. aureus*. Similar results have been reported by numerous studies (Urapian and Hongpattarakere, 2015; Gutiérrez-Cortés et al., 2017; Bisht and Garg, 2019; Reuben et al., 2019).

In the present study, antagonistic activity of selected strains was determined by the Spot on lawn assay method against various pathogenic bacteria and the results are evaluated statistically (Table 3). It was observed that the same strain may have different antagonistic abilities against different pathogens. These differences in the antagonistic properties of lactic bacteria were thought to be due to their ability to synthesize organic acids, carbon dioxide, and certain antimicrobial substances.

The similar results with our study results supports the hypothesis that the isolates may have different antagonistic activity against various pathogens.

Viability of LAB and other microorganisms in garlic pickle during fermentation

Some LAB are used as suitable starter cultures for the improvement of quality of fermentation. Also, it has been stated that the use of starter culture help standardize the fermentation by controlling the microbial flora (Xiong et al., 2014). In the present study, a total of six different pickles were produced, a control group, four test groups fermented by using different strains individually and the final group fermented by mixture of all four strains of LAB. While there were almost 1 logarithmic lactic acid bacteria in the control group at the beginning of fermentation, each experimental pickle group (0.5 Mac Farland) had 1.5×10^8 Log CFU/mL test bacteria initially.

In the control group, LAB were found below the detection limit (<1 Log CFU/g) on days 14 and 21, and no LAB remained at the end of fermentation. In other groups, approximately 1

logarithmic decrease was observed in LAB count at the end of fermentation. Also, no coliform group bacteria and *E. coli* was determined in any of the groups during fermentation. Group 1 and Group 4 completed fermentation with approximately 6.15 logarithms while other groups showed that an average of 1 logarithmic decrease at the end of fermentation, and they completed fermentation with more than 7.00 logarithms. In the control group, the presence of LAB was determined below 2 logarithms at the beginning, and the end of the fermentation (Table 4).

Generally, yeasts are undesirable in fermentation as they facilitate the activities of oxidative and fermentative activities, CO₂-induced degradation and other degradation factors. But they can help the aroma development of the product by producing aroma substances such as diacetyl as a result of their metabolism. In addition, yeast and mold count is also one of the most important factors for the shelf life of pickle. Yeast counts of samples were found to be below the detection limit on day 21 (<1 Log CFU/g) except for the control group and Group 2. In the total microorganism counts, they completed fermentation with an average of approximately 5 logarithms, although there was no mold growth in any of the samples. All results of microorganisms of the pickle groups are shown in Table 4.

It was thought that there might be a few possibilities for the reason of these results. The first is fermentable sugar remained in the environment after the primary fermentation ended and as a result of this condition, the yeasts took part in the secondary fermentation stage by using up these sugars. The second is both positive and negative interactions between yeast and LAB species. Some LAB can secrete galactose, which can help lactose-negative yeasts grow. However, this can also be the opposite. For example, they can be inhibited by compounds such as phenyl-lactic acid, 4-hydroxy-phenyl-lactic produced by LAB (Alvarez-Martin et al., 2008). In a study in which pickled cucumbers were produced using starter cultures, it was determined that there was 6.65 CFU/g yeast in the samples at the end of 6

days (Nilchian et al., 2016). Another study reported similar results (Tokatlı et al., 2019). In addition, the total number of microorganisms obtained in both studies is similar to those of our study.

Titrateable acidity and pH value of garlic pickles during fermentation

It is known that when the pH value falls below 4.5 in fermented products, it provides a limiting factor for the growth of *Enterobacteriaceae* (Özer and Yıldırım, 2018). In our study, *Enterobacteriaceae* were not detected during or at the end of fermentation. We thought that this result may be related to the development of acidity and also the organic acid production.

The titration acidity of the samples on the first day of fermentation was found between average 0.65%, we thought that these results were related to the citric acid added to the brine. Acidity development in the control sample was slower as was the case in pH values. In addition, acidity development was found to be slower in Group 2. Besides these results, pickle samples using starter culture produced acid faster in the first days of fermentation compared to the control sample except for Group 2. The highest titration acidity (0.90%) at the end of fermentation was determined in Group 5. This was attributed to the fact that they contained mixed culture and had good acid producing abilities in pickle fermentation. Also, in our previous studies (Alp, 2018), it was seen that these strains can highly survive in acidic environments. These results we obtained are in line with the results of the various studies (Tokatlı et al., 2019).

Throughout fermentation, the mean pH value of pickle groups fermentations decreased approximately from 5.50 to 3.35 (Fig 2). Pickle group results showed a pH value drop during day 7, and the fastest decrease in pH was observed on day 14. A significant difference ($p < 0.05$) was observed in pH value decreases among pickle groups between the fermentation days. During fermentation, LAB decreased the pH, and this provided a key element for a successful fermentation process. Thanks to the rapid pH

Garlic pickle fermentation by using potentially probiotic cultures

decrease, most Gram (-) bacteria and spore-forming bacteria were inhibited. Figure 2 and Table 4 shows the changes in all samples changed

in terms of pH (b) values and titratable acidity (a) during fermentation.

Table 4. All results of microorganisms and changed titraable acidity values and pH of the pickle groups during fermentation.

		Control	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
Lactic Acid Bacteria (CFU/mL)	0	1.85±0.01 ^{aB}	8.17±0.00 ^{aA}	8.17±0.00 ^{aA}	8.17±0.00 ^{aA}	8.17±0.00 ^{aA}	8.17±0.00 ^{aA}
	7	1.70±0.01 ^{bF}	6.85±0.01 ^{bD}	7.17±0.01 ^{dA}	7.07±0.03 ^{dC}	7.13±0.03 ^{eB}	6.49±0.03 ^{dE}
	14	0.00±0.00 ^{cF}	6.45±0.02 ^{cE}	7.28±0.02 ^{cB}	7.25±0.05 ^{bC}	7.11±0.04 ^{bD}	7.75±0.02 ^{bA}
	21	0.00±0.00 ^{cF}	6.17±0.02 ^{dD}	7.90±0.02 ^{bA}	7.07±0.03 ^{cC}	6.11±0.02 ^{dE}	7.73±0.02 ^{cB}
Yeast (CFU/mL)	0	2.00±0.03 ^{dA}	0.99±0.02 ^{bF}	1.09±0.01 ^{dE}	1.19±0.02 ^{bB}	1.16±0.03 ^{bD}	1.17±0.03 ^{cC}
	7	3.61±0.01 ^{bB}	1.01±0.01 ^{aF}	3.27±0.03 ^{aC}	2.89±0.03 ^{aE}	2.95±0.03 ^{aD}	3.82±0.03 ^{aA}
	14	5.75±0.03 ^{aA}	0.00±0.00 ^{cD}	3.00±0.01 ^{bB}	0.00±0.00 ^{cF}	0.00±0.00 ^{cE}	2.09±0.01 ^{bC}
	21	3.46±0.02 ^{cA}	0.00±0.00 ^{cC}	2.13±0.02 ^{cB}	0.00±0.00 ^{cF}	0.00±0.00 ^{cD}	0.00±0.00 ^{dE}
Total count microorganism (CFU/mL)	0	2.03±0.01 ^{dF}	5.90±0.04 ^{bA}	3.00±0.02 ^{dE}	4.93±0.03 ^{dC}	5.13±0.02 ^{dB}	3.47±0.02 ^{dD}
	7	4.32±0.02 ^{cF}	5.67±0.04 ^{cD}	5.63±0.03 ^{bE}	5.89±0.03 ^{bB}	5.99±0.01 ^{aA}	5.77±0.02 ^{bC}
	14	6.05±0.03 ^{aB}	6.77±0.02 ^{aA}	5.90±0.02 ^{aC}	5.76±0.03 ^{eE}	5.67±0.03 ^{bF}	5.87±0.02 ^{aD}
	21	5.69±0.03 ^{bB}	5.33±0.03 ^{dE}	4.99±0.03 ^{cF}	5.99±0.01 ^{aA}	5.67±0.03 ^{cC}	5.48±0.02 ^{cD}
pH	0	3.50±0.01 ^C	3.61±0.01 ^A	3.48±0.02 ^D	3.57±0.02 ^B	3.38±0.02 ^F	3.46±0.03 ^E
	7	3.57±0.02 ^A	3.44±0.03 ^D	3.38±0.02 ^F	3.48±0.02 ^B	3.45±0.03 ^C	3.40±0.03 ^E
	14	3.50±0.02 ^A	3.41±0.03 ^B	3.37±0.04 ^D	3.40±0.04 ^C	3.40±0.02 ^C	3.36±0.03 ^E
	21	3.45±0.02 ^A	3.37±0.02 ^C	3.35±0.02 ^D	3.32±0.01 ^E	3.38±0.02 ^B	3.30±0.01 ^F
Titratable acidity (%)	0	0.75±0.02 ^B	0.69±0.03 ^C	0.59±0.02 ^E	0.54±0.03 ^F	0.60±0.02 ^D	0.78±0.02 ^A
	7	0.81±0.02 ^A	0.73±0.02 ^C	0.63±0.02 ^E	0.59±0.01 ^F	0.66±0.01 ^D	0.80±0.01 ^B
	14	0.84±0.02 ^C	0.81±0.01 ^D	0.65±0.02 ^F	0.80±0.02 ^E	0.88±0.01 ^A	0.86±0.02 ^B
	21	0.88±0.04 ^B	0.85±0.03 ^C	0.68±0.02 ^E	0.82±0.02 ^D	0.90±0.01 ^A	0.90±0.01 ^A

Values are means of three independent determinations and standard errors. In the same column, the letters from A to F represent the largest to smallest order of numeric values, respectively ($p < 0.05$)

Organic acids produced by lactic acid bacteria

Some LAB strains have antifungal or antimicrobial properties, and what gives them these properties are their organic acids such as lactic, acetic, formic, caproic, propionic, butyric and valeric acids (Zala'n et al., 2010), proteinaceous compounds, fatty acids and bacteriocin-like substances production abilities. Most known antimicrobial activity of LAB is production of organic acids which are associated with the primary metabolism from carbohydrates fermentation (Guimarães et al., 2018). Production

of organic acids can help lower the pH of the media and thus, they prevent the growth of various pathogenic microorganisms in food products or human intestinal microflora (Ammor et al., 2006). Figure 3 shows the organic acid production in pickle groups with lactic acid bacteria. Various studies showed that citric acid and its salts can inhibit the common pathogens growth. These inhibitory mechanisms may be accessing the microbial cell by ionization of undissociated acid molecules and cause the disruption of substrate transport by altering cell

membrane permeability or reduction of proton motive force (Shokri 2011).

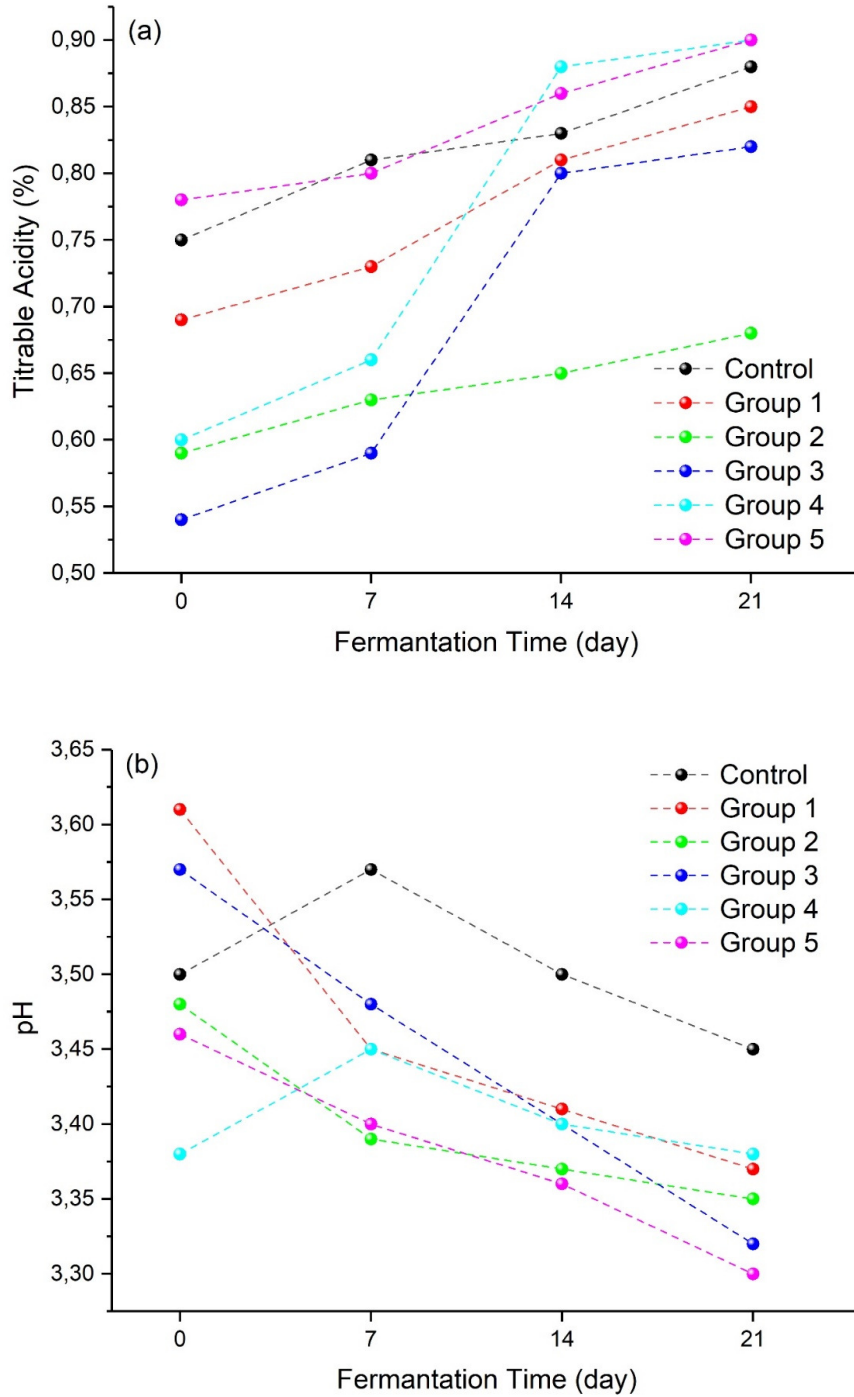


Figure 2. Changes in titratable acidity (a) and pH (b) during fermentation.

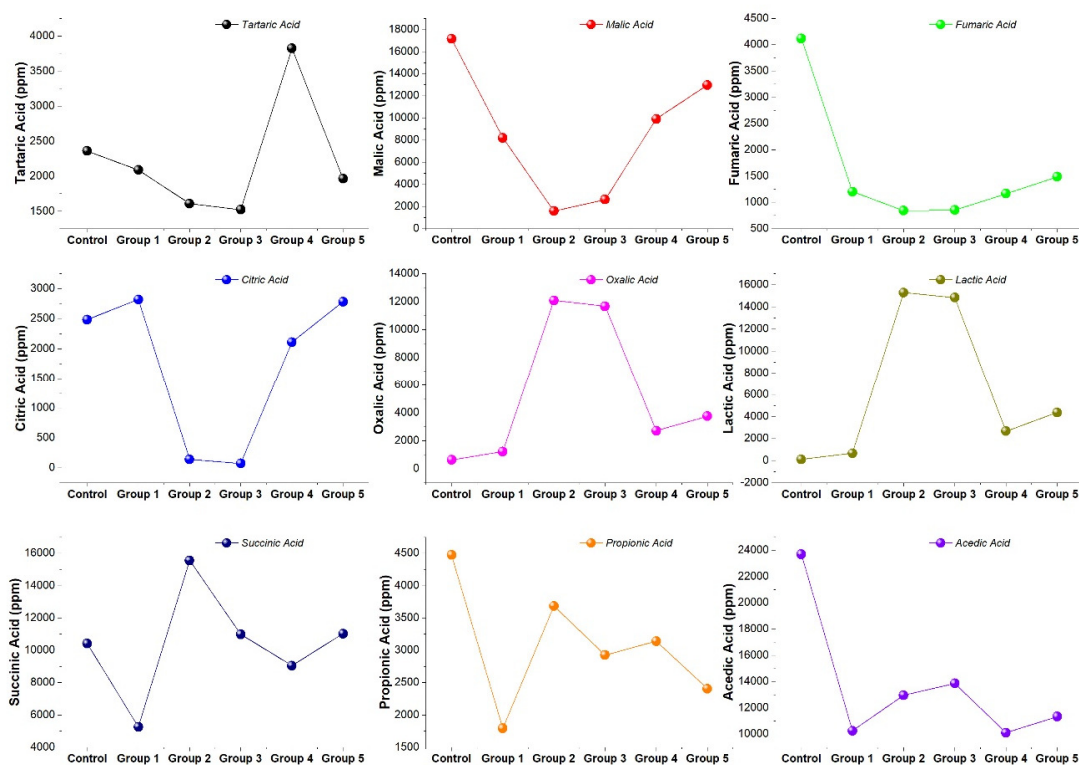


Figure 3. Organic acid production in pickle groups of lactic acid bacteria.

In the present study, a total of 9 in different quantity and variety organic acids were produced in pickle groups. There was a significant difference ($p < 0.05$) between the groups in terms of organic acid production. Besides the lowest was in Group 2, malic acid production was observed in all pickle groups. In the control Group, acetic acid was the maximum. Organic acid production like lactic acid can vary between the different LAB species, as well as between the individual strains within a species (Peev et al., 2017). This variability was also noteworthy in the present study. Lactic acid production was the highest in Groups 2 and 3. It was also noteworthy that there were succinic and oxalic acid productions in the groups. Also, these results may be related to the activities homo- and/or heterofermentative LAB. When the organic acid contents of the pickle groups were examined separately, the most common organic acids were found to be malic acid and succinic acid. While it was determined that there were high levels of lactic acid in pickle Groups 2 and 3, this value was

low in groups 1 and 4. These results suggested that groups 1 and 4 could be heterofermentative whereas groups 2 and 3 could be homofermentative LAB. Besides, group 5 gave an average result of all in terms of organics. Because it contains both types of bacteria. Apart from lactic acid bacteria, it is known that also some yeasts produce various organic acids (Hesham et al., 2020). Although the test strain was not added to the control group, a low amount of lactic acid and different amounts of organic acid were detected.

In general, *Lactobacillus* strains produce acetic acid substantially late in fermentation and their contribution to inhibition is considered secondary as their final amount is low compared to lactic acid (Rosslund et al., 2005). In the present study, contrary to this generalization, high levels of acetic acid was determined at the end of fermentation in the groups. Therefore, it was thought that some organic acid production especially acetic acid may have been produced by

yeasts, LAB, or the yeasts have produced some ethanol and then the acetic acid bacteria may have converted them into acetic acid. Also, it was thought that another reason for the high levels of lactic acid and low levels of citric acid in Groups 2 and 3 was that bacteria produced lactic and / or acetic acid using citric acid. Organic acid consumption and production by yeast, have been linked mostly to central carbon metabolism during fermentation. Mainly, organic acids are intermediates or by-products of glycolysis but they may also be derived from the glyoxylate pathway (Chidi et al., 2015). In the present study, it was thought that some organic acids are produced this way by yeasts. In a study of citric acid production and optimization of various yeast strains, the strains produced an average of 25 g/L citric acid (Hesham et al., 2020). In the present study, it was observed that there was succinic acid production in addition to citric acid.

It was thought that succinic acid might have been produced by yeasts as well as LAB, affected by changes in temperature and pH. Similarly, studies have shown that both yeasts and LAB produce succinic acid (Martinez et al., 2019). The presence of tartaric acid in all groups, albeit in low amounts, suggested the possibility of its natural presence. Based on the results of the study conducted by Ho et al., (2018). Various studies support similar organic acid productions (Martinez et al., 2019; Nuryana et al., 2018; Alp and Öner 2014; Rosslund et al., 2005). The fact that no coliform groups were encountered in the groups at the beginning and end of fermentation it was thought that this may be due to the fact that acetic acid is a better preservative compared to organic acids such as lactic acid due to its higher pKa value.

In conclusion, the results of this research showed that the application of the beneficial isolates positively influenced the fermentations by improving the beneficial properties of the final product. Positive properties of these isolates are considerably affecting the prevention of spoilage and undesirable microorganism growth. The formulated pickles have been evaluated for the organic acids and microbiological quality.

CONFLICT OF INTEREST

Authors declare that they have no conflict of interest. This article does not contain any studies with human or animal subjects.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

DA: Designed study, conducted all analyzes, and prepared pickle samples for HPLC analysis and wrote the publication. HA: Wrote the manuscript, analyzed the data by statistical program.

REFERENCES

- Abiy, E., Berhe, A. (2016). Anti-bacterial effect of garlic (*Allium sativum*) against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* from Patients Attending Hawassa Referral Hospital Ethiopia. *Journal of Infectious Diseases and Treatment*, 2: 2-18 <https://doi.org/10.21767/2472-1093.100023>
- Alp, D., Kuleaşan, H. (2020). Determination of competition and adhesion abilities of lactic acid bacteria against gut pathogens in a whole-tissue model. *Bioscience Microbiota Food Health*. 39: 250–8. <https://doi.org/10.12938/bmfh.2020-033>
- Alp, D., Kuleaşan, H. (2019). Determination of exopolysaccharide production and cholesterol assimilation abilities of lactic acid bacteria isolated from different sources. *The Journal of Food*, 44 (2): 191-201. <https://doi.org/10.15237/gida.GD18059>
- Alp, D., Öner, Z. (2014). Determination of antibiotic resistance and aroma production properties of some lactic acid bacteria. *The Journal of Food*, 39 (6):331-337. <https://doi.org/10.15237/gida.GD14034>
- Alp, D. (2018). Investigation of some probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from natural sources and determination of their ability to prevent pathogenic attachment in intestine model. Ph.D. Dissertation, Suleyman Demirel University, Isparta, Türkiye, 124 p.
- Al-Shawi, S., Swadi, W.A., Hussein, A.A. (2019). Production of probiotic (Turshi) pickled vegetables. *Journal of Pure Applied Microbiology*, 13(4):2287-2293 <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.4.43>

- Alvarez-Martin, P., Florez, A.B., Hernández-Barranco, A., Mayo, B. (2008). Interaction between dairy yeasts and lactic acid bacteria strains during milk fermentation. *Food Control*, 19 (1): 62-70. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.02.003>
- Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., Chevallier, I. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility: 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control* 17 (6): 454-461. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.02.006>
- Ankri, S., Mirelman, D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection* 1 (2): 125-129.
- Bamforth, C.W. (2005). Introduction. Food Fermentation and Microorganisms Blackwell Publishing UK pp. XIVXVI.
- Beganović, J., Pavunc, A.L., Gjurčić, K., Špoljarec, M., Šušković, J., Kos, B. (2011). Improved sauerkraut production with probiotic strain *Lactobacillus plantarum* L4 and *Leuconostoc mesenteroides* LMG 7954. *Journal of Food Science* 76(2):124-129. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02030.x>
- Behera, B.S., Sheikh, A.F., Hammami, R., Kumar, A. (2020). Traditionally fermented pickles: How the microbial diversity associated with their nutritional and health benefits? *Journal of Functional Foods* 70: 103971. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103971>
- Bisht, N., Garg, A.P. (2019). Antagonistic activity of lactic acid bacteria against common enteric pathogens isolated from milk and milk products and evaluation of their probiotic attributes. *Bioscience Biotechnology Research Communications*. 12 (4): 1173-1184 <https://doi.org/10.21786/bbrc/12.4/42>
- Çetin, B. (2011). Production of probiotic mixed pickles (Tursu) and microbiological properties. *African Journal of Biotechnology*, 10 (66): 14926-14931. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2621>
- Chaiyasut, C., Kesika, P., Sirilun, S., Peerajan, S., Sivamaruthi, B.S. (2018). Formulation and evaluation of lactic acid bacteria fermented *Brassica juncea* (Mustard Greens) pickle with cholesterol lowering property. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 80 (4): 033-042 <https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8405>
- Chidi, B.S., Rossouw, D., Buica, A.S., Bauer, F.F. (2015). Determining the impact of industrial wine yeast strains on organic acid production under white and red wine-like fermentation conditions. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 36 (3): 316-327. <https://doi.org/10.21548/36-3-965>
- Choi, A.R., Patra, J.K., Kim, W.J., Kang, S.S. (2018). Antagonistic activities and probiotic potential of lactic acid bacteria derived from a plant-based fermented food. *Frontiers in Microbiology*, 9:1963 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01963>
- Datta, S., Nama, K.S., Paras, P., Sharma, P., Shaikh, N., Nagar, J. (2013). Antagonistic activity of lactic acid bacteria from dairy products. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 1 (1): 28-32.
- Tyl, C., Sadler, G.D. (2017). Ph and titratable acidity. Food Analysis. In: *Food Analysis, Food Science Text Series*, S. Nielsen (Chief Ed.), Volume 4, Springer Verlag, The USA, pp 389–406. http://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_22
- Fijan, S. (2016). Antimicrobial effect of probiotics against common probiotics pathogens. In *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*, Venkateswara, R. (Chief Ed.), Volume 2, Intechopen, The USA, pp.394. <http://dx.doi.org/10.5772/63141>
- Guimarães, A., Venancio, A., Abrunhosa, L. (2018). Antifungal effect of organic acids from lactic acid bacteria on *Penicillium nordicum*. *Food Additives & Contaminants: Part A* 35 (9): 1803-1818. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1500718>
- Gutiérrez-Cortés, C., Suárez, H., Buitrago, G., Díaz-Moreno, C. (2017). Isolation and evaluation of the antagonist activity of lactic acid bacteria in raw cow milk. *Agronomía Colombiana* 35 (3): 357-364. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v35n3.63911>

- Harris, J.C., Cottrell, S.L., Plummer, S., Lloyd, D. (2001). Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Applied Microbiology and Biotechnology* 57 (3): 282-286. <https://doi.org/10.1007/s002530100722>
- Herreros, M.A., Sandoval, H., Gonzalez, L., Castro, J.M., Fresno, J.M., Tornadizo, M.E. (2005). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). *Food Microbiology*, 22: 455-459. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.11.007>
- Hesham, A.E.L., Mostafa, Y.S., AlSharqi, L.E.O. (2020). Optimization of citric acid production by immobilized cells of novel yeast isolates. *Mycobiology*, 48 (2): 122-132. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1726854>
- Ho, V.T.T., Fleet, G.H., Zhao, J. (2018). Unravelling the contribution of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria to cocoa fermentation using inoculated organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 279: 43-56. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.040>
- Inatsu, Y., Bari, M.I., Kawasaki, S., Kawamoto, S. (2005) Effectiveness of some natural antimicrobial compounds in controlling pathogen or spoilage bacteria in lightly fermented Chinese cabbage. *Journal of Food Science*, 70 (9): 393-397.
- Irkin, R., Songun, G.M. (2012). Applications of probiotic bacteria to the vegetable pickle products scientific reviews chemical communications. 2(4):562-567. *Scientific Reviews and Chemical Communications* 13 (4): 2287-2293
- Karovičová, J., Kohajdová, Z. (2003). Lactic acid fermented vegetable juices. *Horticultural Science* 30 (4): 152-158.
- Martinez, S.J., Bressani, A.P.P., Dias, D.R., Simão, J.B.P., Schwan, R.F. (2019). Effect of bacterial and yeast starters on the formation of volatile and organic acid compounds in coffee beans and selection of flavors markers precursors during wet fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 10:1287. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01287>
- Nilchian, Z., Sharifan, A., Rahimi, E., Mazid, A.N. (2016) Improvement of fermented cucumber characteristics by starter culture of *Lactobacillus plantarum* L. *bulgaricus* and *S. Thermophiles*. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 6 (2): 31-40.
- Nurul, S.R., Asmah, R. (2012). Evaluation of antioxidant properties in fresh and pickled papaya. *International Food Research Journal*, 19 (3): 1117-1124.
- Nuryana, I., Andriani, A., Lisdiyanti, P. (2019). Analysis of organic acids produced by lactic acid bacteria. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 251 (1). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/251/1/012054>
- Özer, C., Kalkan-Yıldırım, H. (2018). Production of pickles by mixed culture fermentation. *The American Journal of Chemical Applied*, 5: 57-68.
- Peev, B.P., Tasheva, Y.R., Christova-Bagdassarian, V.L., Popova, T.P., Tishkova, J.A., Tonev, A.S. (2017). Comparative study on lactic acid production of different lactic acid bacteria through RP-HPLC method. *Emergent Life Sciences Research*, 3 (1): 11-17. <http://dx.doi.org/10.7324/ELSR.2017.311117>
- Reuben, R.C., Roy, P.C., Sarkar, S.L., Alam, R.U., Jahid, I.K. (2019). Isolation characterization and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC Microbiology* 19 (1): 1-20. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1626-0>
- Rössland, E., Langsrud, T., Granum, P.E., Sørhaug, T. (2005). Production of antimicrobial metabolites by strains of *Lactobacillus* or *Lactococcus* co-cultured with *Bacillus cereus* in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 98 (2): 193-200. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.06.003>
- Sadeghi, A. (2016). *In vitro* assessment of some probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from pickled garlic. *Journal of Food Quality and Hazards Control* 3: 67-72.
- Schillinger, U. Lücke, F.K. (1987). Identification of lactobacilli from meat and meat products. *Food Microbiology* 4:199-208.
- Sethi, N., Sushila, K., Neeraj, D., Milind, P., Minakshi, P. (2014). Garlic: A pungent wonder

- from nature. *International Research Journal of Pharmacy*, 5 (7).
- Shokri, H. (2011). Evaluation of inhibitory effects of citric and tartaric acids and their combination on the growth of *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* and *Malassezia furfur*. *Comparative Clinical Pathology*, 20 (5): 543-545. <https://doi.org/10.1007/s00580-011-1195-6>
- Strika, I., Bašić, A., Halilović, N. (2017). Antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* L.) *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina*, 47:17-20.
- Sumathi, V., Reetha, D. (2012). Screening of lactic acid bacteria for their antimicrobial activity against pathogenic bacteria. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 3(4) 802-808.
- Tokatlı, M., Gülgör, G., Bağder-Elmacı, S., Arslankoz-İşleyen, N., Özçelik, F. (2015). *In vitro* properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles. *BioMed Research International*, 2015:315819 <https://doi.org/1155/2015/315819>
- Tokatlı, M., Bağder Elmacı, S., Arslankoz Isleyen, N., Ozcelik, F. (2019). Pickle production by selected indigenous lactic starter cultures. *The Journal of Food*, 44 (4): 742-757 <https://doi.org/10.15237/gida.GD19081>
- Tsugkiev, B.G. (2018). Antagonistic activity of lactic acid bacteria. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 12 (03): 162-165.
- Uraipan, S., Hongpattarakere, T. (2015). Antagonistic characteristics against food-borne pathogenic bacteria of lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from feces of healthy Thai infants. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8 (6): e18264 [https://doi.org/10.5812/jjm.8\(6\)2015.18264](https://doi.org/10.5812/jjm.8(6)2015.18264)
- Xiong, T., Li, X., Guan, Q., Peng, F., Xie, M. (2014). Starter culture fermentation of Chinese sauerkraut: Growth acidification and metabolic analyses. *Food Control*, 41: 122-127. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.033>
- Zalán, Z., Hudáček, J., Štětina, J., Chumchalová, J., Halász, A. (2010) Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media. *European Food Research and Technology*, 230 (3): 395-404. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1179-9>
- Zalán, Z., Németh, E., Baráth, Á., Halász, A. (2005). Influence of growth medium on hydrogen peroxide and bacteriocin production of *Lactobacillus* strains. *Food Technology and Biotechnology*, 43(3): 219-225.

TRAKYA YÖRESİ BALLARININ MİNERAL İÇERİĞİ VE BAZI TİPİK KALİTE PARAMETRELERİ AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Demet Apaydın^{*1,2}

¹Hittit Üniversitesi, Bilimsel Teknik Uygulama ve Araştırma Merkezi, Çorum, Türkiye

²Hittit Üniversitesi, Sosyal Bilimler Meslek Yüksekokulu, Otel, Lokanta ve İkram Hizmetleri Bölümü, Çorum, Türkiye

Geliş / Received: 20.06.2022; Kabul / Accepted: 09.09.2022; Online baskı / Published online: 28.09.2022

Apaydın, D. (2022). Trakya yöresi ballarının mineral içeriği ve bazı tipik kalite parametreleri açısından değerlendirilmesi. GIDA (2022) 47 (5) 804-819 doi: 10.15237/gida. GD22057

Apaydın, D. (2022). Assessment of thrace region honeys in terms of mineral content and some typical quality parameters. GIDA (2022) 47 (5) 804-819 doi: 10.15237/gida. GD22057

ÖZ

Çalışmanın amacı, Trakya bölgesi çiçek ve salgı ballarının mineral içeriği ve bazı kalite parametrelerinin belirlenmesidir. Bu amaçla Trakya Bölgesi'nde yerel olarak üretilen 16 adet ayçiçeği, 2 adet karaçalı, 3 adet kanola, 3 adet meşe ve 1 adet ıhlamur balı olmak üzere toplam 25 adet bal örneğinde 8 farklı mineral (Ca, Fe, K, Mg, Na, Zn, P, Se) düzeyi ve bazı tipik kalite parametreleri (çözünür kuru madde, pH, elektriksel iletkenlik, serbest asitlik, HMF ve şeker içeriği) analiz edilmiştir. Bal örneklerinin mineral içerikleri İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) ile analiz edilmiştir. Ballarda en çok bulunan mineraller sırasıyla potasyum, fosfor ve kalsiyum olup 18.91–1018.74, 244.40–429.98 ve 8.50–140.82 mg/kg arasında belirlenmiştir. Kalite parametreleri ortalama olarak pH 4.42 (3.86-6.54), çözünür kuru madde 81.4°Bx (79.3-83.0), serbest asitlik 15.66 mEq/kg (9.00-28.00), HMF 13.00 mg/kg (0.16-33.45), elektriksel iletkenlik 595 µS/cm (207-1376), glukoz %33.66 (25.51-38.58), fruktoz %38.17 (33.32-47.91), sakkaroz %0.17 (0.01-0.67) olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Bal, mineral içerik, ICP-OES, fizikokimyasal özellik, HMF, pH

ASSESSMENT OF THRACE REGION HONEYS IN TERMS OF MINERAL CONTENT AND SOME TYPICAL QUALITY PARAMETERS

ABSTRACT

The aim of the study is to determine the mineral content and some quality parameters of Thrace region floral and honeydew honeys. Quality parameters such as soluble solid, pH, electrical conductivity, free acidity, sugar content and mineral content (Ca, Fe, K, Mg, Na, Zn, P, Se) were determined and evaluated in 25 honey samples including 16 sunflower, 2 gorse, 3 canola, 3 oak and 1 linden honey locally produced in Trace Region, Turkey. Mineral contents of the samples were determined by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES). The most abundant minerals were potassium, phosphorus and calcium, ranging between 18.91–1018.74, 244.40–429.98 and 8.50–140.82mg/kg, respectively. The mean values were determined as pH 4.42 (3.86-6.54), soluble dry matter 81.4°Bx (79.3-83.0), free acidity 15.66 mEq/kg (9.00-28, 00), HMF 13.00 mg/kg (0.16-33.45), electrical conductivity 595 µS/cm (207-1376), glucose 33.66% (25.51-38.58), fructose 38% .17 (33.32-47.91) and sucrose 0.17% (0.01-0.67).

Keywords: Honey, mineral content, ICP-OES, physicochemical property, HMF, pH

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉: demetapaydin22@gmail.com

☎: (+90) 364 219 2886

☎: (+90) 364 219 2855

Demet Apaydın; ORCID no: 0000-0002-7769-849x

GİRİŞ

Bal, tüm dünyada ekonomik öneme sahip, besleyici değeri yüksek bir gıda maddesidir (Kadri vd., 2017) Arılar tarafından üretilen ve doğal bir gıda olan bal, başta fruktoz ve glukoz olmak üzere şekerler, su, organik asitler, enzimler, amino asitler, mineraller, vitaminler, aromatik maddeler, pigmentler ve polen tanelerinden oluşmaktadır (Biluca vd., 2017; Marcolin vd., 2021). Balın bileşimi, rengi, aroması ve tadı nektar ve polen toplamada kullanılan çiçek türlerine (Sousa vd., 2016), iklim, coğrafik orijin gibi bazı faktörlere ve arı türlerine (Biluca vd., 2016), bağlıdır. Bu özellikler ayrıca hava koşullarından, işleme, paketlenme ve depolama süresinden de etkilenmektedir (Escuredo vd., 2014).

Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde bal kaynağına göre çiçek balı ve salgı balı olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Çiçek balı bitki nektarından elde edilen balı, salgı balı bitkilerin canlı kısımlarının salgularından veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin (*Hemiptera*) salgularından elde edilen balları tanımlamaktadır (Anonymous, 2020). Türkiye'de, en fazla üretilen monofloral (tek çiçek) bal ayçiçeği balıdır. Ülkemizde ayçiçeği balı, bal ihracatında çam balından sonra ikinci sırada yer almaktadır (Şen, 2019). Kanola balı, yüksek verimli ve kaliteli bir yağlı tohum olan kanola bitkisinin (*Brassica napus* L.) çiçeklerinden üretilen bir çiçek balıdır. Türkiye'nin Marmara ve Trakya bölgelerinde sınırlı olarak üretimi yapılan karaçalı (*Paliurus spina-christi* Mill.) balı bir çiçek balıdır. Latince *Paliurus spina-christi* Miller olarak adlandırılan karaçalı, *Rhamnaceae* familyasına ait bir çalı bitkisidir (Malkoç vd., 2019). Meşe ağacı (*Quercus*) salgısından elde edilen meşe balı ise bir salgı balı olup siyaha yakın koyu kahverengi rengindedir. Meşe balının açık renkli ballara göre daha fazla mineral ve antioksidan madde içerdiği bilinmektedir (Şen, 2019).

Bal üretimi açısından son derece uygun bir konumda olan Türkiye'de arıcılık, binlerce yıldır sürdürülen önemli bir tarımsal faaliyetidir (Kahraman vd., 2010). Arıcılık için uygun ortam sağlayan ülkemizin zengin bitki örtüsü, coğrafyası ve iklim şartları sayesinde Türkiye'de bal üretimi

oldukça gelişmiştir. 2020 yılında dünyada üretilen 1.770.119 kg balın 104.077 kg'ı Türkiye'de üretilmiştir (FAOSTAT, 2020). Türkiye'nin kuzey batısında yer alan Trakya ise, Karadeniz, Marmara Denizi ve Ege Denizi ile sınırlı olan, arıcılık için önemli kültür bitkilerinin yetiştirildiği bir bölgedir. Karadeniz kıyılarından başlayarak güneyde Marmara Denizi'ne kadar ekstrem koşullarda yetişebilen özellikteki çok zengin nektar ve polen kaynaklarına sahiptir. Trakya yöresinin iklimi ve floral koşulları arıcılığa elverişli ortam oluşturmada ve bölgenin kuzey kısımları ülkemizin üstün nitelikli bal veren coğrafi yörelerimizden sayılmaktadır (Sıralı ve Deveci, 2002).

Balın kalitesi genellikle fizikokimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik parametrelerle değerlendirilmektedir. Balın kalitesini değerlendiren ve farklı bal türlerini ayırt etmek için kullanılan nem, a_w , şeker bileşimi, pH, asitlik, kül, elektriksel iletkenlik, 5-hidroksimetilfurfural (HMF) ve renk gibi fizikokimyasal parametrelerini bildiren birçok makale bulunmaktadır (Boussaid vd., 2018; Lazarevic vd., 2012). Balın pH gibi fizikokimyasal özellikleri, depolama sırasında balın bozulma derecesini de tahmin etmeye yardımcı olabilmektedir (Machado De-Melo vd., 2018). Yüksek asitlik, balda bulunan şekerlerin organik asit, özellikle glukonik asit ve fosfat ve klorür gibi inorganik iyonlara fermantasyonunun bir göstergesidir (Ouchemoukh vd., 2007). HMF, taze ballarda bulunmadığı veya eser miktarda bulunduğu için bal tazeliliğinin bir parametresidir (Machado De-Melo vd., 2018). Bala ısı işlem uygulaması, balın ticari şekerlerle karıştırılması ile ya da depolama boyunca baldaki HMF konsantrasyonu artmaktadır (Machado De-Melo vd., 2018). Öte yandan, balın düşük nem içeriği, çok az sayıda mikroorganizmanın hayatta kalmasına izin verebilirken, yüksek nem içeriği, balda şekeri fermente eden ve tadını değiştiren maya ve diğer mikroorganizmaların gelişmesine neden olabilmektedir (Chirife vd., 2006). Balın elektriksel iletkenliği, botanik orijinin yanı sıra mineral içeriği ve inorganik iyonlarla ve bir şekilde organik asitler, proteinler ve elektrolitler olarak hareket edebilen şekerler, polioller ve polen taneleri gibi diğer bileşenlerle doğrudan ilişkilidir

(Machado De-Melo vd., 2018). Ayrıca, Rahman vd. (2014), balın elektrik iletkenliği ve kül içeriğinin, mikroorganizmaların gelişmesini belirleyebilecek organik asitler ve makro-mineral ve diğer bazı temel eser elementlerin varlığını işaret ettiğini bildirmiştir. Balın fizikokimyasal özellikleri, balın besin değeri üzerinde de etkili olan bitkinin polen ve nektar çeşitlerinden de etkilenmektedir (El Sohaimy vd., 2015).

Farklı bal türlerinin mineral içeriği, botanik kökenini ve bitki ve nektarın bulunduğu toprağın türünü yansıtmaktadır (Alqarni vd., 2014). Balın mineral içeriği %0.04-0.2 (P. M. da Silva vd., 2016) aralığında değişmekte olup, Alqarni vd. (2014) yaptığı çalışmada bazı bal çeşitlerinin %1'den fazla olduğunu bildirmiştir. Potasyum, bitkisel kaynaklı bir gıda maddesi olan balda en fazla bulunan element olup, toplam mineral içeriğinin yaklaşık üçte birini oluşturmaktadır (P. M. da Silva vd., 2016; Sakaç vd., 2019). Potasyumdan sonra balda en fazla bulunan makro elementler kalsiyum, sodyum, fosfor ve magnezyum olup, iz miktarda bulunan manganez ve demir de kritik öneme sahiptir (Alqarni vd., 2014; Sakaç vd., 2019; Machado De-Melo vd., 2018). Son zamanlarda, balın metal içeriğinin analizi, balın orijinini ayırt etmenin alternatif ve kolay bir yöntemi haline gelmiştir. Balın tağşişi kalite parametreleri kullanılarak belirlenebilmekte olup balın mineral içeriğinin analizine dayanarak karakterizasyonun yapılması tağşişin önlenmesi açısından da oldukça önemlidir (da Silva vd., 2016; Alda-Garcilope vd., 2012).

Çalışmamızın amacı, Trakya'nın farklı kesimlerinde üretilen farklı çeşitlerdeki balların kalite özelliklerinin (pH, serbest asitlik, elektriksel iletkenlik, HMF, şeker içeriği), mineral içeriklerinin (Ca, Fe, K, Mg, Na, Zn, P, Se) ortaya konması, standartlara uygunluk düzeyinin belirlenmesidir. Bu kapsamda hem Trakya yöresi ballarının kalite standardı için referans niteliği sağlayarak balların orijinallik tanımlamasına ve izlenebilirliğine katkıda bulunulması hem de elde edilen bilgilerle üreticiye fayda sağlanması hedeflenmektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışma kapsamında Trakya'nın Kırklareli (41° 38' 37.159" N 27° 26' 26.004" E), Edirne (41° 37' 55.064" N 26° 45' 16.027" E) ve Tekirdağ (41° 2' 5.729" N 27° 9' 42.359" E) illerindeki arıcılardan temin edilen 25 adet bal örneği kullanılmıştır. Ayçiçeği (*Helianthus annuus*) bitkisinden üretilen ayçiçeği balı, kanola (*Brassica napus*) bitkisinden üretilen kanola balı, karaçalı bitkisinin (*Paliurus spina-Christi Miller*) çiçeklerinden üretilen karaçalı balı, ıhlamur (*Tilia Cordata*) bitkisinden üretilen ıhlamur balı, meşe ağacı (*Quercus*) salgısından elde edilen meşe balı örnekleri analizlerde kullanılmıştır. Bu kapsamda 2020 ve 2021 üretim yıllarına ait 16 adet ayçiçek, 2 adet karaçalı, 3 adet kanola, 3 adet meşe, 1 adet ıhlamur balı analiz edilmiştir. Bal örneklerine ait detaylı bilgiler Çizelge 1'de yer almaktadır. Numuneler analize kadar karanlıkta, ağzı kapalı cam şişelerde ve oda sıcaklığında muhafaza edilmişlerdir. Çalışmada kullanılan kimyasalların hepsi analitik saflıkta olup Merck (Darmstadt, Almanya) ve Sigma (St. Louis, MO, ABD) firmalarından temin edilmiştir.

Yöntem

Fizikokimyasal analizler

Balların fizikokimyasal analizleri (çözünür kuru madde, serbest asitlik, pH ve elektriksel iletkenlik) Harmonised Methods of the International Honey Commission (Anonymous, 2009) tarafından açıklanan yöntemlere göre yapılmıştır. Çözünür kuru madde değeri (Brix) 20°C'de el tipi bal refraktometresi ile ölçülmüştür (Isolab, 0-90 Brix). Refraktometre prizmasının üzerine birkaç damla bal konulmuş ve doğrudan ölçekten bir okuma yapılmıştır. Serbest asitlik, sulu bir bal çözeltisi (10g/75 mL ultra saf su) kullanılarak titrimetrik yöntemle belirlenmiştir, sulu bal çözeltisi, 0.1 M NaOH ile pH 8.3'e titre edilmiştir. pH, bir pH metre (Inspected, Tayvan) ile %20 (w/v) sulu bal çözeltisinde ölçülmüştür. Elektriksel iletkenlik, %20 (w/v; kuru madde bazında) sulu bal çözeltisi kullanılarak bir iletkenlik ölçer (Inspected, Tayvan) ile ölçülmüştür.

Çizelge 1. Bal örnekleri ait bilgiler
Table 1. Information about honey samples

Bal Örnekleri <i>Honey Samples</i>	Örnek ismi <i>Sample name</i>	Lokasyon <i>Location/Collected area</i>	Yıl <i>Year</i>
Meşe balı	M1	Kırklareli Kıyıköy	2021
Meşe balı	M2	Kırklareli Çukurpınar	2020
Meşe balı	M3	Kırklareli Demirköy	2020
Karaçalı Balı	K1	Tekirdağ	2020
Karaçalı Balı	K2	Edirne Havsa	2020
Ihlamur balı	I	Tekirdağ	2021
Kanola balı	K3	Edirne Havsa	2021
Kanola balı	K4	Edirne Havsa	2021
Kanola balı	K5	Edirne Havsa	2021
Ayçiçek balı	A1	Edirne Havsa	2020
Ayçiçek balı	A2	Edirne Necatiye	2020
Ayçiçek balı	A3	Edirne Uzunköprü	2020
Ayçiçek balı	A4	Tekirdağ	2020
Ayçiçek balı	A5	Kırklareli	2020
Ayçiçek balı	A6	Kırklareli Pınarhisar	2020
Ayçiçek balı	A7	Tekirdağ Karacakılavuz	2020
Ayçiçek balı	A8	Tekirdağ Saray	2020
Ayçiçek balı	A9	Tekirdağ Süleymanpaşa	2020
Ayçiçek balı	A10	Tekirdağ	2021
Ayçiçek balı	A11	Tekirdağ	2021
Ayçiçek balı	A12	Tekirdağ	2021
Ayçiçek balı	A13	Tekirdağ	2021
Ayçiçek balı	A14	Edirne	2021
Ayçiçek balı	A15	Tekirdağ	2021
Ayçiçek balı	A16	Tekirdağ	2021

Şeker profili

Balın şeker profili, yüksek oranlardaki şeker içeriğinden dolayı bal türlerinin ayrımında kullanılan uygun kalite kriterlerinden biridir. Bu kapsamda, bu çalışmada baldaki şeker içeriğinin (fruktoz, glukoz ve sakkaroz) ve oranlarının tespiti TS 13359 (2008) standardında belirtildiği şekilde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC, Thermo Scientific)(ERC Detector ile ve kolonu) (GL Sciences 4.6 x 250 mm 5 µm intertsil NH₂ kolon, Japonya) kullanılarak yapılmıştır. Buna göre; seyreltilmiş bal çözeltileri 0.45 µm'lik filtrelerden geçirilerek akış hızı 1.3 mL/dak, kolon sıcaklığı 30°C, enjeksiyon hacmi 25 µL ve asetonitril/su oranı 75mL:25mL olan hareketli fazdaki HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Standart olarak fruktoz, glukoz ve sakkaroz kullanılmıştır. Şekerleri nicel olarak tayin etmek için, standart çözeltilerden elde edilen

kromatogramdaki ilgili şeker türüne karşılık gelen piklerin alanları standart konsantrasyonuna göre ayrı ayrı grafiğe geçirilmiştir. Numune kromatogramlarındaki pik alanları her bir şeker için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Buna bağlı olarak elde edilen değerler, standart grafikleri ile karşılaştırılarak örneklerin şeker içerikleri hesaplanmıştır.

HMF tayini

HMF (hidroksimetilfurfural) miktarı analizi, International Honey Commission tarafından belirtilen metoda göre yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC, Thermo Scientific) (DIONEX UltiMate 3000, Fluorescence Detector ile) ve kolonu (ODS HYPERSİL 4,6 x 250 mm 5 µm kolon) kullanılarak yapılmıştır (Anonymous, 2009). Buna göre; seyreltilmiş bal çözeltileri 0.45 µm'lik filtrelerden geçirilerek akış hızı 1.0 mL/dak, kolon sıcaklığı 30°C, enjeksiyon

hacmi 25 µL ve metanol/su oranı 10 mL:90 mL olan hareketli fazdaki HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Sonuçlar mg/kg olarak ifade edilmiştir.

Mineral analizi

0.01 g hassasiyette 0.3 g bal örneği, 50 mL'lik erlene tartılmış, ardından 2 mL %30'luk hidrojen peroksit (Merck, Almanya) ve 5 mL %65'lik nitrik asit (SigmaAldrich, ABD) ilave edilmiştir. Erlen ultrasonik su banyosuna konarak 1 dk boyunca çözündürme işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra erlendeki karışım, 100 mL'lik Teflon kaba aktarılmış ve kapağı kapatılmıştır. Teflon kaplar mikrodalga yakma ünitesine (Berghof Instruments, Speedwave, Almanya) konmuş ve kademeli bir şekilde yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Yakma işleminin bitmesinin ardından soğuyan renkli çözeltiler polipropilen tüplere transfer edilerek analize hazır hale getirilmiştir.

Mineral analizi Eş Zamanlı İndüktif Eşleşmiş Plazma - Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) cihazı (Thermo Scientific iCap 6000 Dual view, Cambridge, İngiltere) ile gerçekleştirilmiştir (Zawawi vd., 2022). Potasyum (K), Kalsiyum (Ca), Demir (Fe), Çinko (Zn), Magnezyum (Mg), Sodyum (Na), Fosfor (P), Selenyum (Se) 'nın toplam konsantrasyonları mg element / kg bal birimi ile ifade edilmiştir (Vanhanen vd., 2011).

İstatistiksel Analizler

Bu çalışmadaki tüm fizikokimyasal ve bileşimsel verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmelerinde ve IBM SPSS (versiyon 22.0) programı kullanılmıştır. Bal örneklerinin çeşitli fizikokimyasal özellikleri arasındaki ilişkiler ise Pearson korelasyon katsayıları ile yine IBM SPSS (versiyon 22.0) programı kullanılarak belirlenmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bal kalite analizleri

Trakya'nın farklı bölgelerinden elde edilen farklı çeşitlerdeki balların suda çözünür kuru madde, pH, HMF, elektriksel iletkenlik, serbest asitlik değerlerine ait elde edilen sonuçlar Çizelge 2'de verilmektedir. Bal örneklerindeki suda çözünür kuru madde içerikleri 79.3-83.0°Bx aralığında değişmekte olup, ortalama 81.4°Bx olarak tespit

edilmiştir. Çeşitli araştırmalara ait literatür çalışmaları incelendiğinde da benzer sonuçların (76.2-84.1°Bx) rapor edildiği görülmektedir (Güzel ve Bahçeci, 2020). Nem içeriği balın botanik kökenine, kovanda ulaşılan olgunluk düzeyine, işleme tekniklerine ve saklama koşullarına bağlıdır (Yücel, 2013). Nem içeriği balın viskozitesini, rengini, tadını, kristalleşmesini, tadını, çözünürlüğünü, özgül ağırlığını ve muhafazasını etkilemektedir (Escuredo vd., 2013). Balın uygun olgunlukta hasat edilmesi önemlidir, çünkü bal higroskopiktir ve proses sırasında atmosferdeki nemi emebilir (Karabagias vd., 2014).

Balın pH'sı genel olarak 3.2 ile 4.5 arasında kabul edilmekte (P. M. da Silva vd., 2016) ve bu pH aralığı patojenlerin gelişiminin önlenmesi için bir ortam yaratarak antimikrobiyal aktiviteye katkıda bulunmaktadır (Lund vd., 2020). Analiz edilen ayçiçek balı örneklerinde pH değeri 3.95-4.58 aralığında, kanola balı örneklerinde bu değer 3.86-4.65 aralığında, meşe balı örneklerinde 4.28-4.31 aralığında tespit edilirken ve ıhlamur balında pH 4.15 olarak ölçülmüştür. Karaçalı balı örneklerinde ise pH 6.53 ve 6.54 olarak ölçülmüştür (Çizelge 2). Yasal mevzuatta balın pH'sı ile ilgili bir sınırlandırma olmamasına rağmen bu sonuçlar, literatürdeki farklı orijinlerden elde edilen bal örneklerinden elde edilen değerlerle uyum içerisindedir. Şen (2019) yaptığı çalışmada, Trakya yöresi karaçalı balı örneklerinin pH değerlerini 5.27-5.94 arasında tespit etmiştir. Güzel ve Bahçeci (2020) Çorum yöresi ballarının pH değerlerinin 3.55-4.20 (ortalama 3.83) aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Akdeniz vd., (2012) yaptıkları araştırmada karaçalı ballarının ortalama pH değerini 5.9, ayçiçek ballarının ortalama pH değerini ise 4.29 olarak tespit etmişlerdir. Hepsağ (2019) Anzer Yaylası'nın endemik çiçeklerinden üretilen anzer ballarında yaptığı çalışmada balların pH değerini 3.74 ile 4.08 arasında tespit etmiştir. Bu parametre, balın ekstraksiyonu ve depolanması sırasında önemlidir, çünkü stabiliteyi, tekstürü ve raf ömrünü etkilemektedir (Terrab vd., 2002). Bu parametredeki (pH) değişiklik, coğrafi köken ve botanik ve mineral içeriklerinden etkilenebilmektedir (Vanhanen vd., 2011).

Çizelge 2. Bal örneklerinin suda çözünür kuru madde, pH, serbest asitlik, elektriksel iletkenlik, HMF değerleri

Table 2. Soluble solid, pH, free acidity, electrical conductivity, HMF of honey samples

Örnek ismi Sample name	Çözünür kuru madde Soluble solid (°Bx)	pH	Serbest Asitlik Free acidity (mEq /kg)	Elektriksel iletkenlik Electrical conductivity (µS/cm)	HMF (mg/kg)	
Meşe balı	M1	81.2±0.3	4.29±0.01	11.52±0.12	859±5	4.10±0.70
	M2	81.0±0.0	4.31±0.01	23.00±0.33	1318±1	1.72±0.22
	M3	81.0±0.0	4.28±0.01	19.25±0.75	846±1	1.65±0.31
Karaçalı Balı	K1	80.5±0.0	6.53±0.03	9.03±0.15	1376±1	0.30±0.00
	K2	79.5±0.0	6.54±0.02	9.00±0.50	1375±1	0.16±0.00
Ihlamur balı	I	81.0±0.0	4.15±0.04	9.73±0.18	695±4	33.45±0.81
Kanola balı	K3	82.0±0.0	3.86±0.02	13.20±0.18	274±2	10.13±0.33
	K4	82.0±0.0	3.96±0.01	13.9±0.62	266±3	5.03±0.26
	K5	80.0±0.0	4.65±0.05	15.40±0.80	207±3	17.21±0.73
Ayçiçek balı	A1	83.0±0.0	4.52±0.07	24.50±0.50	504±1	7.54±0.41
	A2	81.0±0.0	4.35±0.01	12.00±0.50	387±1	13.19±0.09
	A3	81.5±0.0	4.14±0.01	10.00±0.50	398±1	1.45±0.13
	A4	83.0±0.0	4.42±0.07	24.50±0.50	502±1	10.27±0.30
	A5	83.0±0.0	3.98±0.02	19.00±0.50	475±5	20.50±0.24
	A6	81.5±0.0	4.09±0.01	10.00±0.50	388±1	14.78±0.19
	A7	81.0±0.0	4.31±0.01	11.70±0.50	377±1	23.22±0.36
	A8	81.5±0.0	4.04±0.00	28.00±0.50	615±1	30.31±0.66
	A9	81.5±0.0	4.14±0.01	10.00±0.50	393±1	25.13±2.08
	A10	79.3±0.3	4.46±0.03	11.50±0.12	453±3	9.66±0.28
	A11	82.7±0.6	4.58±0.02	11.40±0.12	400±4	15.71±0.61
	A12	80.8±0.3	4.40±0.02	19.80±0.12	566±2	29.06±1.02
	A13	81.5±0.0	4.48±0.02	13.50±0.12	506±3	7.37±0.47
	A14	80.5±0.0	3.95±0.01	14.60±0.24	533±5	31.50±0.52
	A15	83.0±0.0	3.98±0.02	19.00±0.50	485±5	5.38±0.65
	A16	81.5±0.0	4.04±0.00	28.00±0.50	675±1	6.13±0.10
En düşük Min.		79.3	3.86	9.00	207	0.16
En yüksek Max.		83.0	6.54	28.00	1376	33.45
Ortalama Mean		81.4	4.42	15.66	595	13.00

Ballarda serbest asitlik parametresi, coğrafi kökene, çiçek türüne ve arı türüne bağlı olarak organik asit dengesi nedeniyle değişkenlik göstermektedir. Mevsimlerin ve çiçek türlerinin etkisi ile bal asitliğinde önemli farklılıklar görülebilmektedir. *Apis mellifera* balında izin verilen maksimum asitlik 50 mEq/kg'dır (Codex Alimentarius, 1981). Serbest asitlik değeri baldaki bozulmanın değerlendirilmesi açısından da önemli

işaretlerden olup 50 mEq/kg üzerinde tespit edilen değerler, potansiyel olarak fermantasyona bağlı şekerlerin organik asitlere dönüşmüş olabileceğinin bir göstergesidir. (Sousa vd., 2016). En önemli kalite kriterlerinden biri olan serbest asitlik değeri bal örneklerinde 9.00 mEq /kg (K2) ile 28.00 mEq/kg (A16) arasında tespit edilmiştir. Analiz edilen tüm bal örnekleri serbest asitlik açısından değerlendirildiğinde, tüm örneklerin

serbest asitlik değerinin Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde (Anonymous, 2020) limit değer olarak belirtilen 50 mEq/kg değerinin altında olduğu görülmektedir (Çizelge 2). Benzer şekilde Gültekin-Özgül vd. (2020) ülkemizin çeşitli yörelerinde üretilen çiçek ballarının fizikokimyasal özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında serbest asitlik değerini 18.1-39.6 mEq/kg arasında tespit etmişlerdir. Hepsağ (2019) Anzer Yaylası çiçeklerinden üretilen anzer ballarında yaptığı çalışmada balların serbest asitlik değerini 9.65 ile 27.96 mEq/kg arasında tespit etmiştir. Kahraman vd. (2010), Türkiye'nin farklı bölgelerinde üretilen balların fizikokimyasal özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada balların serbest asitlik değerini 6.94 ile 29.6 mEq/kg arasında tespit etmişlerdir. Aynı zamanda çalışmamızda bulunan veriler, karaçalı balı asitlik değerinin ayçiçek balı asitlik değerine göre daha düşük tespit edildiği Akdeniz vd. (2012) çalışması ile uyum içerisinde.

Elektriksel iletkenlik, bir malzemenin bir elektrik akımı iletme yeteneğini ifade etmektedir. Balın elektriksel iletkenliği, bal külü içeriği ve külün alkaliliği ile ilişkili olup inorganik iyonların, organik asitlerin ve proteinlerin varlığı ile bağlantılıdır. Çiçek balı ve salğı ballarının ayırmında bal kalite göstergesi olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Balın elde edildiği bitki kaynağının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Balın asitliği ve kül içeriği arttıkça elektriksel iletkenliği de artmaktadır (Conti vd., 2018; Machado De-Melo vd., 2018). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde çiçek balının elektriksel iletkenliği en fazla 0.8 mS/cm (800 μ S/cm), salğı balı ve kestane balının ise en az 0.8 mS/cm (800 μ S/cm) olmalıdır şeklinde ifade edilmiştir (Anonymous, 2020). Çalışma kapsamında analizi gerçekleştirilen ayçiçeği ballarının elektriksel iletkenlik değeri 377 μ S ile 675 μ S arasında tespit edilmiştir. Analiz edilen kanola ballarının elektriksel iletkenlik değerlerinin ayçiçek ballarının elektriksel iletkenlik değerlerinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. 3 adet kanola balının elektriksel iletkenliği 274, 266 ve 207 μ S/cm olarak, 1 adet ıhlamur balının elektriksel iletkenliği ise 695 μ S/cm olarak ölçülmüştür. Ayçiçeği, kanola ve ıhlamur ballarının elektriksel iletkenlik değerleri 800 μ S/cm'nin altında olup araştırma kapsamında elde

edilen veriler söz konusu limit değerlerin içerisinde. Benzer şekilde Hepsağ (2019) yaptığı çalışmada 21 anzer balı örneğinin elektriksel iletkenlik değerini 0.26 ile 0.79 mS/cm arasında tespit etmiştir. Analizi gerçekleştirilen 2 adet karaçalı balının elektriksel iletkenlik değeri 1375 ve 1376 μ S/cm olarak tespit edilmiş olup bu değer söz konusu limit değer üzerinde olmasına rağmen karaçalı balının çalışıldığı literatür ile uyum içerisinde. İletkenlik değeri aynı zamanda renk ile de ilişkilidir. Literatür çalışmaları incelendiğinde genel olarak daha açık renge sahip balların iletkenlik değerlerinin daha düşük olduğu, daha koyu renkteki balların da iletkenlik değerlerinin daha yüksek olduğu ifade edilmiştir (Güzel ve Bahçeci, 2020). Benzer şekilde Akdeniz vd. (2012) yaptıkları çalışmada karaçalı ballarının ortalama elektriksel iletkenlik değerini 0.718 mS/cm, ayçiçek ballarının ortalama elektriksel iletkenlik değerini ise 0.429 mS/cm olarak tespit etmişlerdir. Analiz edilen ballarda karaçalı balı genel görünüm itibari ile ayçiçek balından daha koyu renkli olup iletkenlik değeri de bunu doğrulamıştır. Analiz edilen salğı ballarından 3 adet meşe balının elektriksel iletkenlik değerleri sırasıyla 859, 846, 1318 μ S/cm olarak ölçülmüştür. Analizi gerçekleştirilen salğı ballarının tamamının elektriksel iletkenlik değeri 800 μ S/cm'nin üzerinde olup Türk Gıda Kodeksi'ne uygundur.

HMF oluşumu, termal işlemler veya depolama sırasında meydana gelen Maillard reaksiyonu sırasında baldaki şeker molekülünün dehidrasyonundan kaynaklanmaktadır (Pasiyas vd., 2017). Balda HMF varlığı, bal kalitesinin azalmasını ve genel kaybının bir göstergesi olup (Önür vd., 2018) in vitro olarak potansiyel olarak kanserojen olduğu tespit edilmiştir (Capuano & Fogliano, 2011). Bu nedenle, bu bileşiğin kontrol altına alınarak sınırlandırılması elzemdir ve 40 mg/kg'ı geçmemelidir. Analiz edilen tüm bal örnekleri HMF açısından değerlendirildiğinde, tüm örneklerinin Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde (Anonymous, 2020) limit değer olarak belirtilen 40 mg/kg'ın altında HMF içerdiği görülmektedir. En önemli kalite kriterlerinden biri olan HMF değeri bal örneklerinde 0.16 mg/kg (K2) ile 33.45 mg/kg (I) arasında tespit edilmiştir.

Ayçiçek ballarının HMF içeriği 1.45 mg/kg (A3) - 31.5 mg/kg (A14) arasında, meşe ballarının HMF içeriği 1.65-4.1 mg/kg arasında, kanola ballarının HMF içeriği 5.03-17.21 mg/kg arasında, karaçalı ballarının HMF içeriği 0.16 ve 0.3 mg/kg ve ihlamur balının 33.45 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda tespit edilen HMF değerleri, literatürde belirtilen çeşitli çalışmalarda ortaya konan verilerle uyum içerisindedir. Nemo & Bacha (2021) Anfilo bölgesi ballarında 19.67-22.93 mg/kg HMF tespit etmişlerdir. Gültekin-Özgüven vd. (2020) ülkemizin farklı yörelerinde üretilen çiçek ballarının HMF değerlerini 1.22 mg/kg ve altında tespit etmişlerdir. Akdeniz vd. (2012) yaptıkları çalışmada karaçalı ballarının HMF değerini ortalama 6.3 mg/kg, ayçiçeği ballarının HMF değerini ise ortalama 11.34 mg/kg tespit etmişlerdir.

Çizelge 3'te Trakya yöresinden elde edilen balların fruktoz, glukoz ve sakkaroz içerikleri ile fruktoz/glukoz (F/G) oranı ve glukoz+fruktoz (G+F) toplamı verilmektedir. Analizi gerçekleştirilen ayçiçeği balı örneklerinin fruktoz miktarı %37.06-47.91 (ortalama %39.41), glukoz miktarı %28.04-38.58 (ortalama %35.07), sakkaroz miktarı ise %0.01-0.67 (ortalama %0.20) arasında değişim göstermektedir. Kanola balı örneklerinin fruktoz miktarı %36.71-37.48 (ortalama %37.03), glukoz miktarı %36.61-38.06 (ortalama %37.51), sakkaroz miktarı ise %0.01-0.12 (ortalama %0.06) arasında değişim göstermektedir. Karaçalı balı örneklerinin fruktoz miktarı %34.29 ve %34.80, glukoz miktarı %25.51 ve %25.86, sakkaroz miktarı ise %0.01 ve %0.03 olarak tespit edilmiştir. Ihlamur balının fruktoz, glukoz, sakkaroz miktarı sırasıyla %35.07, %28.44, %0.08 olarak tespit edilmiştir. Yasal mevzuatta bu şekerlerin bireysel değerlendirmeleri yerine toplam ve oransal değerlendirmelerinin yapılması gerektiği belirtilmiştir. Bu anlamda Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde (Anonymous, 2020) glukoz ve fruktoz içeriklerinin toplamı çiçek balları için en az %60 ve fruktoz /glukoz oranının ise kestane, akasya ve kekik gibi bazı ballar hariç 0.90-1.40 arasında olması gerektiği belirtilmiştir.

Analiz edilen tüm çiçek ballarında fruktoz ve glukozun toplam değeri %60'ın üzerinde, fruktoz/glukoz oranının ise 0.90-1.40 arasında olduğu belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde (Anonymous, 2020) ballardaki sakkaroz oranının yalancı akasya, adi yonca, tatlı yonca, lavanta çiçeği balı gibi ballar dışında en fazla %5.00 olduğu ifade edilmiştir. Analiz edilen tüm çiçek ballarının sakkaroz oranının yasal mevzuata uygun olduğu tespit edilmiştir. Salgı balı olan meşe ballarındaki fruktoz miktarı %33.32, 36.36 ve %38.75, glukoz miktarı %27.8, %29.03 ve %31.35, sakkaroz miktarı ise %0.07, %0.18 ve %0.54 olarak tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde (Anonymous, 2020) salgı ballarının glukoz ve fruktoz içerikleri toplamının en az %45.00 ve fruktoz /glukoz oranının 1.00-1.40 arasında, sakkaroz oranının en fazla %5.00 olması gerektiği bildirilmiş olup meşe balları ilgili mevzuata uygundur. Balların şeker kompozisyonu ile ilgili literatürde çok sayıda çalışma bulunmakta olup balın şeker içeriği üretildiği bölge ve nektar kaynaklarına göre büyük ölçüde değişebilmektedir.

Çizelge 4'te 25 adet balda bulunan her bir mineralin ortalama içeriği mg/kg ağırlık olarak verilmektedir. Bazı elementler çok küçük miktarlarda bulunurken diğerleri tespit edilememiştir. Genel olarak, bu çalışmada incelenen ballarda en çok bulunan elementler sırasıyla K, P, Ca ve Na'dır. Ballarda en çok bulunan mineraller sırasıyla potasyum, fosfor ve kalsiyum olup 18.91-1018.74, 244.40-429.98 ve 8.50-140.82 mg/kg arasında belirlenmiştir. Çalışmamız, balda en fazla bulunan elementlerin K, P, Ca olduğu çalışmalar ile uyum içerisindedir (González-Miret vd., 2005; Vanhanen vd., 2011). Sakač vd. (2019) Vojvodina ballarında yaptığı çalışmada ballarda en fazla tespit ettiği elementin K olduğunu ve bunu sırasıyla Ca, Mg, Zn ve Fe'nin izlediğini bildirmiştir. Yaptıkları çalışmada ayçiçeği balında K miktarını 217.00-1192.00 mg/kg arasında tespit etmişlerdir. Hepsağ (2019) Anzer Yaylası çiçeklerinden üretilen anzer ballarıyla yaptığı çalışmada ballarda en fazla bulunan minerallerin sırasıyla 1265.87-5887.65, 299.56-854.36, 289.41-591.45 ve 41.54-90.54 mg/kg arasında değişen K, Ca, Na ve Mg

D. Apaydın

olduğunu bildirmiştir. González-Miret vd. (2005) İspanya Kanarya Adaları balında yaptıkları çalışmada bu üç elementi balda en bol bulunan mineraller olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca yapılan birçok çalışmada potasyumun, İspanya, Polonya, Slovenya, Portekiz ve İtalya'daki ballarda en bol bulunan element olduğu bildirilmiştir (Conti, 2000; Golob vd., 2005; Madejczyk & Baralkiewicz, 2008; L. R. Silva vd., 2009; Terrab

vd., 2005). Bu çalışmalarda kalsiyumun da diğer minerallerle karşılaştırıldığında yüksek seviyelerde olduğu bildirilmiştir. Balın mineral içeriği, bitkinin topraktan ve çevreden mineralleri emmesine bağlıdır (González-Miret vd., 2005). Balın mineral içeriği olumlu bir besinsel özelliği olup koyu bal türleri genellikle daha yüksek düzeyde mineral içermektedir (Vanhanen vd., 2011).

Çizelge 3. Bal örneklerinin şeker içerikleri

Table 3. Sugar contents of honey samples

Örnek ismi Sample name	Örnek kodu Sample code	Fruktoz, F Fructose (%)	Glukoz, G Glucose (%)	Sakkaroz Sucrose (%)	F/G	G+F (%)
Meşe balı	M1	36.39±0.76	29.03±0.81	0.07±0.01	1.25±0.01	65.42±1.57
	M2	33.32±0.71	27.80±0.55	0.54±0.08	1.20±0.00	61.12±1.26
	M3	38.75±0.30	31.35±0.60	0.18±0.03	1.24±0.01	70.10±0.90
Karaçalı Balı	K1	34.80±0.53	25.51±0.16	0.03±0.00	1.36±0.01	60.31±0.69
	K2	34.29±0.96	25.86±0.48	0.01±0.00	1.33±0.01	60.15±1.44
Ihlamur balı	I	35.07±0.88	28.44±0.91	0.08±0.01	1.23±0.01	63.51±1.79
Kanola balı	K3	36.89±0.57	38.06±0.71	0.12±0.02	0.97±0.00	74.95±1.28
	K4	37.48±0.67	36.61±0.29	0.04±0.00	1.02±0.01	74.09±0.96
	K5	36.71±1.11	37.87±0.37	0.01±0.00	0.97±0.02	74.59±1.48
Ayçiçek balı	A1	37.55±0.50	32.73±1.48	0.32±0.03	1.15±0.04	70.28±1.98
	A2	37.06±1.10	34.20±0.92	0.20±0.04	1.08±0.00	71.26±2.02
	A3	38.12±0.52	38.07±0.47	0.27±0.01	1.00±0.00	76.19±0.99
	A4	39.87±0.28	35.59±0.62	0.14±0.01	1.12±0.01	75.46±0.90
	A5	38.50±0.66	35.60±0.55	0.53±0.02	1.08±0.04	74.10±0.11
	A6	38.40±1.47	35.65±0.31	0.67±0.04	1.08±0.03	74.05±1.78
	A7	39.85±0.29	38.58±0.73	0.22±0.00	1.03±0.01	78.42±1.02
	A8	38.91±1.42	35.86±0.78	0.18±0.02	1.09±0.02	74.77±2.20
	A9	37.40±0.74	35.89±1.05	0.20±0.00	1.04±0.02	73.30±1.79
	A10	40.13±0.76	35.20±0.93	0.05±0.00	1.14±0.01	75.34±1.69
	A11	47.91±0.31	28.04±0.60	0.03±0.00	1.71±0.03	75.95±0.91
	A12	38.69±0.36	33.55±0.76	0.01±0.00	1.15±0.02	72.24±1.12
	A13	38.19±0.35	37.24±0.27	0.08±0.00	1.03±0.00	75.43±0.62
	A14	41.76±0.48	31.96±0.10	0.06±0.00	1.31±0.01	73.72±0.58
	A15	40.36±0.60	37.31±0.63	0.01±0.00	1.08±0.00	77.67±1.23
	A16	37.86±0.46	35.57±0.37	0.22±0.02	1.06±0.00	73.43±0.83
En düşük Min.		33.32	25.51	0.01	0.97	60.15
En yüksek Max.		47.91	38.58	0.67	1.71	78.42
Ortalama Mean		38.17	33.66	0.17	1.15	71.83

Çizelge 4. Bal örneklerinin mineral içerikleri (mg/kg; taze ağırlık)
 Table 4. Mineral contents of honey samples (mg/ kg; fresh weight)

Örnek ismi Sample name	Örnek kodu Sample code	K	P	Mg	Ca	Na	Fe	Se	Zn
Meşe balı	M1	752.51	412.68	83.81	65.42	68.63	1.54	ND	0.51
	M2	891.15	429.98	142.44	74.12	73.09	2.68	ND	0.54
	M3	589.57	373.72	79.55	44.86	66.94	1.44	ND	0.38
Karaçalı Balı	K1	1018.74	262.68	13.94	30.88	91.36	1.04	ND	1.53
	K2	1015.19	353.27	32.87	37.98	101.27	1.91	ND	2.10
Ihlamur balı	I	539.20	403.84	84.98	65.86	69.76	21.00	ND	3.75
Kanola balı	K3	105.12	327.92	30.47	30.60	17.48	2.08	ND	0.57
	K4	116.56	338.92	31.60	28.08	18.76	2.16	ND	0.61
	K5	140.78	282.68	38.95	30.12	33.39	3.39	ND	1.27
Ayçiçek balı	A1	364.56	399.82	20.69	54.35	90.62	7.97	ND	0.71
	A2	282.80	337.97	18.83	41.28	70.12	0.41	ND	0.55
	A3	296.58	368.44	34.09	71.76	73.23	2.25	ND	0.56
	A4	201.70	377.25	22.85	52.87	68.37	1.06	ND	1.17
	A5	245.98	292.09	38.28	83.84	67.78	1.09	ND	0.85
	A6	196.36	343.35	31.01	64.17	56.03	4.99	ND	3.17
	A7	74.72	244.40	8.14	25.62	41.92	0.72	ND	0.56
	A8	142.64	277.69	20.54	140.82	55.38	2.84	ND	0.81
	A9	18.91	275.26	3.99	8.50	65.23	0.64	ND	0.20
	A10	378.52	284.25	64.29	90.38	47.93	3.25	ND	1.89
	A11	260.44	263.55	80.22	108.25	37.45	5.52	ND	1.70
	A12	376.71	291.63	81.44	81.14	29.44	2.84	ND	1.34
	A13	293.95	271.35	66.62	73.20	31.91	5.67	ND	20.35
	A14	200.11	298.46	33.82	41.46	35.30	3.26	ND	3.12
	A15	268.94	304.14	41.48	96.58	74.06	1.71	ND	2.03
	A16	508.97	294.55	52.71	102.80	76.30	1.20	ND	0.64
En düşük Min.		18.91	244.40	3.99	8.50	17.48	0.41	ND	0.20
En yüksek Max.		1018.74	429.98	142.44	140.82	101.27	21.00	ND	20.35
Ortalama Mean		371.23	324.40	46.30	61.80	58.47	3.31	ND	2.04

Çizelge 5'te bal örneklerinin çeşitli kalite parametreleri arasındaki Pearson korelasyon matrisi verilmektedir. Yapılan çalışma korelasyon matrisine göre pH ile iletkenlik değeri arasında güçlü pozitif bir ilişki olduğunu kanıtlamıştır ($r=0.685$). Bu sonuç pH ile iletkenlik arasında güçlü ilişki ($r=0.399$) tespit eden Güzel ve Bahçeci (2020)'nin yaptığı çalışma ile uyum içerisindedir. Çizelge 5 ayrıca K ve iletkenlik arasında oldukça güçlü pozitif bir ilişki olduğunu göstermektedir (korelasyon katsayısı, $r=0.941$). Aynı şekilde

korelasyon matrisi içerisinde öne çıkan önemli ilişkilerden biri de toplam mineral değer ve iletkenlik arasındadır. Toplam mineral değer ve iletkenlik arasında güçlü bir ilişki tespit edilmiştir ($r=0.902$). Chua vd. (2012) ballarda multielement analizi ve fizikokimyasal özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada toplam mineral değer ve iletkenlik arasında güçlü (korelasyon katsayısı, $r = 0.963$) bir lineer ilişki tespit etmişlerdir. Balın elektriksel iletkenliği, bal külü içeriği ve toplam mineral içeriği ile ilişkili olup inorganik iyonların,

D. Apaydın

organik asitlerin ve proteinlerin varlığı ile bağlantılıdır. Balın mineral içeriği ve kül içeriği

artıkça elektriksel iletkenliği de artmaktadır (Conti vd., 2018; Machado De-Melo vd., 2018).

Çizelge 5. Bal örneklerinin çeşitli kalite parametreleri arasındaki Pearson korelasyon matrisi
Table 5. Pearson correlation matrix between various quality parameters of honey samples

	pH	Elektriksel İletkenlik (µs) Electrical conductivity	HMF	Çözünür kuru madde Soluble solid	Fruktoz Fructose	Glukoz Glucose	Fruktoz+Glukoz Fructose+ Glucose	Fruktoz/Glukoz Fructose/ Glucose	Sakkaroz Sucrose
pH	1	.685**	-.377	-.446*	-.317	-.621**	-.631**	.433*	-.301
Elektriksel iletkenlik Electrical conductivity	.685**	1	-.393	-.366	-.512**	-.809**	-.875**	.452*	.005
HMF	-.377	-.393	1	-.022	.275	.174	.275	-.015	-.030
Çözünür kuru madde Soluble solid	-.446*	-.366	-.022	1	.357	.285	.400*	-.060	.284
Fruktoz Fructose	-.317	-.512**	.275	.357	1	.208	.680**	.392	-.179
Glukoz Glucose	-.621**	-.809**	.174	.285	.208	1	.859**	-.812**	.123
Fruktoz+Glukoz Fructose+Glucose	-.631**	-.875**	.275	.400*	.680**	.859**	1	-.403*	-.002
Fruktoz/Glukoz Fructose+ Glucose	.433*	.452*	-.015	-.060	.392	-.812**	-.403*	1	-.239
Sakkaroz Sucrose	-.301	.005	-.030	.284	-.179	.123	-.002	-.239	1
K	.689**	.941**	-.514**	-.403*	-.518**	-.827**	-.891**	.461*	-.059
Mg	-.125	.363	-.140	-.142	-.071	-.431*	-.360	.330	.059
Na	.482*	.636**	-.382	.003	-.404*	-.486*	-.576**	.208	.238
Fe	-.092	-.023	.371	.004	-.081	-.262	-.238	.183	-.046
Zn	.050	-.038	-.022	-.031	.033	.108	.098	-.073	-.128
P	-.089	.315	-.343	.106	-.461*	-.344	-.499*	.007	.290
Ca	-.252	.015	.107	.236	.369	.002	.195	.182	.101
Toplam mineral Total mineral	.552**	.902**	-.502*	-.308	-.500*	-.810**	-.869**	.444*	.024

** korelasyon 0.01 düzeyinde anlamlıdır (correlation is significant at the 0.01 level)

* korelasyon 0.05 düzeyinde anlamlıdır (correlation is significant at the 0.05 level)

Çizelge 5. (Devam). Bal örneklerinin çeşitli kalite parametreleri arasındaki Pearson korelasyon matrisi
Table 5. (Cont.) Pearson correlation matrix between various quality parameters of honey samples

	K	Mg	Na	Fe	Zn	P	Ca	Toplam mineral Total mineral
pH	.689**	-.125	.482*	-.092	.050	-.089	-.252	.552**
Elektriksel iletkenlik <i>Electrical conductivity</i>	.941**	.363	.636**	-.023	-.038	.315	.015	.902**
HMF	-.514**	-.140	-.382	.371	-.022	-.343	.107	-.502*
Çözünür kuru madde <i>Soluble solid</i>	-.403*	-.142	.003	.004	-.031	.106	.236	-.308
Fruktoz <i>Fructose</i>	-.518**	-.071	-.404*	-.081	.033	-.461*	.369	-.500*
Glukoz <i>Glucose</i>	-.827**	-.431*	-.486*	-.262	.108	-.344	.002	-.810**
Fruktoz+Glukoz <i>Fructose+Glucose</i>	-.891**	-.360	-.576**	-.238	.098	-.499*	.195	-.869**
Fruktoz/Glukoz <i>Fructose+ Glucose</i>	.461*	.330	.208	.183	-.073	.007	.182	.444*
Sakkaroz <i>Sucrose</i>	-.059	.059	.238	-.046	-.128	.290	.101	.024
K	1	.456*	.633**	.062	-.031	.404*	.020	.975**
Mg	.456*	1	-.058	.305	.151	.420*	.376	.571**
Na	.633**	-.058	1	.018	-.236	.399*	.051	.647**
Fe	.062	.305	.018	1	.265	.309	.141	.156
Zn	-.031	.151	-.236	.265	1	-.201	.103	-.035
P	.404*	.420*	.399*	.309	-.201	1	-.082	.548**
Ca	.020	.376	.051	.141	.103	-.082	1	.136
Toplam mineral <i>Total mineral</i>	.975**	.571**	.647**	.156	-.035	.548**	.136	1

** korelasyon 0.01 düzeyinde anlamlıdır (*correlation is significant at the 0.01 level*)* korelasyon 0.05 düzeyinde anlamlıdır (*correlation is significant at the 0.05 level*)**SONUÇ**

Bal bileşimindeki değişkenlik coğrafi köken, mevsimler, çiçek türleri ve arı türlerine göre değişkenlik gösterebilmektedir. İncelenen Trakya yöresi bal çeşitlerinde sekiz mineral element tespit edilmiş ve seviyeler dünyanın başka yerlerinde

analiz edilen diğer bal türleriyle karşılaştırılabilir düzeyde olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada ortalama toplam mineral içerik, pH ve iletkenlik arasında güçlü bir ilişki gözlemlenmiştir. Yapılan çalışma; yasal mevzuatta herhangi bir sınırlandırma bulunmayan, fakat balın stabilitesini,

tekstürünü ve raf ömrünü etkileyen pH değerinin balın çeşitlerine göre mevzuata eklenmesi hususunda katkıda bulunarak bir referans sağlayabilir. Yapılan çalışma, Trakya yöresi ballarının kalite standardı için bir referans oluşturarak balların orijinallik tanımlamasına ve izlenebilirliğine katkıda bulunabilir. Ancak farklı çeşitlerdeki Trakya ballarının besin değeri ve biyoaktif işlevleri hakkında daha fazla bilgi edinmek için önemli sayıda örnek içeren daha geniş çalışmalar yapılmalıdır. Bu anlamda gerçekleştirilen araştırmanın, Trakya yöresinde üretilen balların farklı kalite parametrelerinin ortaya konması noktasında bundan sonra gerçekleştirilecek çalışmalara da alt yapı oluşturabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışmayı HÜBTUAM19001.20.001 numaralı proje ile destekleyen Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, bal numunelerin toplanması ve teminine katkılarından dolayı Tekirdağ Arıcılar Birliği Eski Başkanı, Gıda Mühendisi Sayın Şakir Ada'ya teşekkür ederim.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

KAYNAKLAR

Akdeniz, G., Şahin, S., Yılmaz, Ö., Karataş, Ü., Karmaz, E., Kabakçı, D., Yaşar, N. (2012). Karaçalı (*Paliurus spina-christi* Miller) ve Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L .) Ballarının Mikroskopik Yapısı ve Biyokimyasal Özelliklerinin Karşılaştırılması. 3. Uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi, Muğla, Türkiye, 1 - 04 Kasım 2012, 413–422.

Alqarni, A. S., Owayss, A. A., Mahmoud, A. A., Hannan, M. A. (2014). Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18 (5), 618–625. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.11.009>

Anonymous. (2009). *Description of methods*. Harmonised Methods of the International Honey Commission. <https://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>

Anonymous. (2020). *Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği*. 22 Nisan 2020 tarih ve 31107 sayılı Resmî Gazete, Ankara. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2020/04/20200422-13.htm>

Biluca, F. C., Braghini, F., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., Fett, R. (2016). Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). *Journal of Food Composition and Analysis*, 50, 61–69. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.05.007>

Biluca, F. C., de Gois, J. S., Schulz, M., Braghini, F., Gonzaga, L. V., Maltez, H. F., Rodrigues, E., Vitali, L., Micke, G. A., Borges, D. L. G., Costa, A. C. O., Fett, R. (2017). Phenolic compounds, antioxidant capacity and bioaccessibility of minerals of stingless bee honey (Meliponinae). *Journal of Food Composition and Analysis*, 63(July), 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.07.039>

Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig, L., Hellal, R., Donsi, F., Ferrari, G., Hamdi, S. (2018). Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(2), 265–274. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.08.011>

Capuano, E., & Fogliano, V. (2011). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT - Food Science and Technology*, 44(4), 793–810. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.002>

Chirife, J., Zamora, M., Motto, A. (2006). The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. *Journal of Food Engineering*, 72, 287–292. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.12.009>

Chua, L. S., Abdul-Rahaman, N. L., Sarmidi, M. R., & Aziz, R. (2012). Multi-elemental composition and physical properties of honey samples from Malaysia. *Food Chemistry*, 135(3), 880–887. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.106>

- Conti, M. E. (2000). Lazio region (central Italy) honeys: a survey of mineral content and typical quality parameters. *Food Control*, 11(6), 459–463. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(00\)00011-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0956-7135(00)00011-6)
- Conti, M. E., Canepari, S., Finoia, M. G., Mele, G., Astolfi, M. L. (2018). Characterization of Italian multifloral honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. *Journal of Food Composition and Analysis*, 74(August), 102–113. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.09.002>
- da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- De Alda-Garcilope, C., Gallego-Picó, A., Bravo-Yagüe, J. C., Garcinuño-Martínez, R. M., Fernández-Hernando, P. (2012). Characterization of Spanish honeys with protected designation of origin “miel de Granada” according to their mineral content. *Food Chemistry*, 135(3), 1785–1788. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.057>
- El Sohaimy, S. A., Masry, S. H. D., Shehata, M. G. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2015.10.015>
- Escuredo, O., Dobre, I., Fernández-González, M., Seijo, M. C. (2014). Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chemistry*, 149, 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.097>
- Escuredo, O., Míguez, M., Fernández-González, M., Carmen Seijo, M. (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry*, 138(2–3), 851–856. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.015>
- FAOSTAT. (2020). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. <https://www.fao.org/faostat/en/#compare>
- Golob, T., Doberšek, U., Kump, P., Nečemer, M. (2005). Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. *Food Chemistry*, 91(4), 593–600. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.043>
- González-Miret, M. L., Terrab, A., Hernanz, D., Fernández-Recamales, M. A., Heredia, F. J. (2005). Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2574–2580. <https://doi.org/10.1021/jf048207p>
- Güzel, N., Bahçeci, K. S. (2020). ÇorumYöresi Ballarının Bazı Kimyasal Kalite Parametrelerini Değerlendirilmesi. *Gıda / the Journal of Food*, 45, 230–241. <https://doi.org/10.15237/gida.gd19129>
- Kadri, S. M., Zaluski, R., Orsi, R. de O. (2017). Nutritional and mineral contents of honey extracted by centrifugation and pressed processes. *Food Chemistry*, 218, 237–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.071>
- Kahraman, T., Buyukunal, S. K., Vural, A., Altunatmaz, S. S. (2010). Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. *Food Chemistry*, 123(1), 41–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.123>
- Karabagias, I. K., Badeka, A., Kontakos, S., Karabournioti, S., Kontominas, M. G. (2014). Characterization and classification of *Thymus capitatus* (L.) honey according to geographical origin based on volatile compounds, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Research International*, 55, 363–372. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.032>
- Lazarevic, K., Andrić, F., Trifkovic, J., Tesic, Z., Milojković-Opsenica, D. (2012). Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters. *Food Chemistry*, 132, 2060–2064. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.048>
- Lund, P. A., De Biase, D., Liran, O., Scheler, O., Mira, N. P., Cetecioglu, Z., Fernández, E. N.,

- Bover-Cid, S., Hall, R., Sauer, M., O'Byrne, C. (2020). Understanding How Microorganisms Respond to Acid pH Is Central to Their Control and Successful Exploitation. *Frontiers in Microbiology*, 11, 556140. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.556140>
- Machado De-Melo, A. A., Almeida-Muradian, L. B. de, Sancho, M. T., Pascual-Maté, A. (2018). Composición y propiedades de la miel de *Apis mellifera*: una revisión. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 5–37. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1338444>
- Madejczyk, M., Baralkiewicz, D. (2008). Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. *Analytica Chimica Acta*, 617(1), 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.01.038>
- Malkoç, M., Kara, Y., Özkök, A., Ertürk, Ö., Kolaylı, S. (2019). Characteristic properties of Jerusalem thorn (*Paliurus spina-christi* Mill.) Honey. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 19(1), 69–81. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.535658>
- Marcolin, L. C., Lima, L. R., de Oliveira Arias, J. L., Berrio, A. C. B., Kupski, L., Barbosa, S. C., Primel, E. G. (2021). Meliponinae and *Apis mellifera* honey in southern Brazil: Physicochemical characterization and determination of pesticides. *Food Chemistry*, 363(May), 130175. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130175>
- Nemo, R., Bacha, K. (2021). Microbial quality, physicochemical characteristics, proximate analysis, and antimicrobial activities of honey from Anfilo district. *Food Bioscience*, 42(February), 101132. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101132>
- Önür, İ., Misra, N. N., Barba, F. J., Putnik, P., Lorenzo, J. M., Gökmen, V., Alpas, H. (2018). Effects of ultrasound and high pressure on physicochemical properties and HMF formation in Turkish honey types. *Journal of Food Engineering*, 219, 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.09.019>
- Ouchemoukh, S., Louaileche, H., Schweitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18(1), 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.08.007>
- Pasias, I. N., Kiriakou, I. K., Proestos, C. (2017). HMF and diastase activity in honeys: A fully validated approach and a chemometric analysis for identification of honey freshness and adulteration. *Food Chemistry*, 229, 425–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.084>
- Sirali, R., Deveci, M. (2002). Bal Arısı (*Apis Mellifera* L.) İçin Önemli Olan Bitkiler_N Trakya Bölgesinde İncelenmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*.
- Rahman, M. M., Siew, H., Gan, S., Khalil, M. (2014). Neurological Effects of Honey: Current and Future Prospects. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1155/2014/958721>
- Sakaç, M. B., Jovanov, P. T., Marić, A. Z., Pezo, L. L., Kevrešan, Ž. S., Novaković, A. R., Nedeljković, N. M. (2019). Physicochemical properties and mineral content of honey samples from Vojvodina (Republic of Serbia). *Food Chemistry*, 276(July 2018), 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.149>
- Şen, K. (2019). *Trakya Yöresi Ayçiçeği Balı, Meşe Balı Ve Karaçalı Balı' Nın Çeşitli Kalite Özellikleri Üzerine Bir Araştırma*. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi.
- Silva, L. R., Videira, R., Monteiro, A. P., Valentão, P., Andrade, P. B. (2009). Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal*, 93(1), 73–77. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2009.05.005>
- Sousa, J. M. B. de, Souza, E. L. de, Marques, G., Benassi, M. de T., Gullón, B., Pintado, M. M., Magnani, M. (2016). Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. *LWT - Food Science and Technology*, 65(Complete), 645–651. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.058>

- Terrab, A., Díaz, M., Heredia, F. J. (2002). Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79, 373–379. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00189-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00189-9)
- Terrab, A., Recamales, A. F., González-Miret, M. L., Heredia, F. J. (2005). Contribution to the study of avocado honeys by their mineral contents using inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Food Chemistry*, 92(2), 305–309. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.07.033>
- TS 13359. (2008). *Bal - Fruktöz, Gluköz, Sakaröz, Turanoz ve Maltoz Muhtevası Tayini - Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Metodu*. <https://intweb.tse.org.tr/standard/standard/Standard.aspx?081118051115108051104119110104055047105102120088111043113104073097106122089121097102053048082055>
- Vanhanen, L. P., Emmertz, A., Savage, G. P. (2011). Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. *Food Chemistry*, 128(1), 236–240. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.064>
- Yücel, Y. (2013). Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, 1, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.02.001>
- Zawawi, N., Zhang, J., Hungerford, N. L., Yates, H. S. A., Webber, D. C., Farrell, M., Tinggi, U., Bhandari, B., Fletcher, M. T. (2022). Unique physicochemical properties and rare reducing sugar trehalulose mandate new international regulation for stingless bee honey. *Food Chemistry*, 373(PB), 131566. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131566>



İŞINLANMIŞ ÇÖREKOTU VE HAŞHAŞ ÖRNEKLERİNİN OSL TEKNİĞİ İLE TESPİTİ

Ülkü Rabia Yüce *

Türkiye Enerji Nükleer ve Maden Araştırmaları Kurumu (TENMAK), Nükleer Enerji Araştırma Enstitüsü,
Ankara, Türkiye

Geliş / *Received*: 28.07.2022; Kabul / *Accepted*: 02.09.2022; Online baskı / *Published online*: 29.09.2022

Yüce, Ü.R. (2022). Işınlanmış çörekotu ve haşhaş örneklerinin OSL tekniği ile tespiti. *GIDA* (2022) 47 (5) 820-830 doi: 10.15237/ gida.GD22073

Yüce, Ü.R. (2022). *Detection of irradiated black seed and poppy samples by osl technique. GIDA (2022) 47 (5) 820-830 doi: 10.15237/ gida.GD22073*

ÖZ

Bu çalışmada, farklı markalara ait ışınlanmış çörek otu ve haşhaş örneklerinin hızlı, kolay ve ucuz tespiti için OSL (Optik Uyarımlı Lüminesans) okuyucunun kullanım potansiyeli mavi ışık uyarımı altında araştırıldı. Yerel marketlerden her bir gıda için üç farklı marka seçildi ve her marka gıda 1 kGy, 3 kGy, 5 kGy ve 7 kGy dozlarında Co-60 gama radyasyonu ile ışınlandı. Her bir doz için OSL sinyal şiddetleri hem ışınlamadan hemen sonra hem de ışınlamadan bir yıl sonra ölçüldü. Işınlanmayan örneklerin hiçbirinde OSL sinyali gözlenmezken, ışınlamadan sonra tüm örneklerin OSL sinyal şiddetlerinde önemli bir artış gözlemlendi. Ayrıca bazı haşhaş ve çörek otu markalarından elde edilen OSL sinyal şiddetlerinin, ışınlamadan bir yıl sonra dahi ışınlanmanın belirlenmesine imkân verecek kadar yüksek olduğu belirlendi.

Anahtar kelimeler: OSL, ışınlanmış gıda, çörekotu, haşhaş, gama ışınlama

DETECTION OF IRRADIATED BLACK SEED AND POPPY SAMPLES BY OSL TECHNIQUE

ABSTRACT

In this study, the potential of using OSL (Optically Stimulated Luminescence) reader for fast, easy and inexpensive detection of irradiated black cumin and poppy samples of different brands was investigated under blue light excitation. Three different brands were selected for each food from local markets and each brand of food was irradiated with Co-60 gamma radiation at doses of 1 kGy, 3 kGy, 5 kGy and 7 kGy. OSL signal intensities for each dose were measured both immediately after irradiation and one year after irradiation. While no OSL signal was observed in any of the non-irradiated samples, a significant increase in OSL signal intensities was observed in all samples after irradiation. In addition, it was determined that the OSL signal intensities obtained from some poppy and black seed brands were high enough to allow the determination of irradiation even one year after irradiation.

Keywords: OSL, irradiated food, black cumin, poppy, gamma irradiation

* Yazışmalardan sorumlu yazar/*Corresponding Author*

✉: ulkurabia.yuce@tenmak.gov.tr

☎: (+90) 312 810 1705

☎: (+90) 312 815 4395

Ülkü Rabia Yüce; ORCID no: 0000-0002-3301-2863

GİRİŞ

İngilizce adı “black cumin/ seed” olan çörekotu, botanik biliminde “*Nigella sativa*”, İngilizce adı poppy olan haşhaş ise “*Papaver somniferum* L”. adıyla sınıflandırılır. Bu gıdalar tüm dünyada gerek hastalıkların tedavisinde gerekse mutfaklarda sıklıkla kullanılan ve raf ömrü oldukça uzun olan gıdalardır (Işık vd.,2017; İpek ve Arslan,2012).

Kimyasal ve ısıl yöntemlere alternatif olarak geliştirilen iyonize radyasyonla gıdaların ışınlanması işlemi, gıdalarda insan sağlığına zararlı olabilecek patojenleri /mikropları azaltmak için 1 kGy ile 10 kGy doz aralığında, sadece sterilizasyon yapmak için 10 kGy üzerindeki dozlarda gerçekleştirilir. Ülkemizde ışınlanmasına izin verilen gıda grupları ve uygulanabilecek ışınlama dozları gıda ışınlama yönetmeliği 2019 Ek-1 ‘de belirtilmektedir. Bu yönetmeliğe göre çörek otu ve haşhaş gibi gıdalar en fazla 5 kGy’e kadar ışınlanabilmektedir. Aynı yönetmelikte ışınlanan gıdaların radura sembolü ile belirtilmesi gerektiği bildirilmiştir. Tüketiciyi bilgilendiren bu işaret ışınlanmış gıdalarda zorunludur ancak bazı firmalar radura sembolünü gıda paketine basmakta ama ışınlamanın maliyetinden ve zahmetinden kaçınmak için ışınlama yapmadan yapmış gibi göstermektedir. Bu gibi şüpheli durumların önüne geçilmesi için TENMAK – Nükleer Enerji Araştırma Enstitüsü, Dozimetri Laboratuvarları tarafından bazı il tarım müdürlüklerine Termoluminesans (TL) ve Elektron Spin Rezonans (ESR) teknikleri ile ışınlanmış gıdaların tespiti konularında eğitim ve danışmanlık hizmeti verilmiş ve bu sayede ışınlanmış gıdaların denetimleri ülke çapında yapılmaya başlanmıştır.

TL ve gaz kromatografisi teknikleri gıdaların ışınlanıp ışınlanmadığını belirlemek için kullanılan en kesin yöntemlerdir (EN1788, 2007; TS EN 1784,2005). ESR ve Foton Uyarmalı Lüminesans (PSL) ise oldukça sık kullanılan ve sadece ışınlamayı belirleyebilen diğer fiziksel yöntemlerdir (EN 1787, 2005; EN 13751, 2009). ESR ve PSL teknikleri sadece ışınlamayı belirleyebilen teknikler oldukları için ışınlamanın gözlenememesi durumunda TL yöntemi ile desteklenmesi gerekmektedir. Ancak TL

teknisinde EN1788 standardına göre silikat minerallerinin ayırma işlemi çok zahmetli, pahalı ve zaman alıcıdır. Aynı zamanda bu tekniğin uygulanması bu konuda lisansüstü eğitim almış donanımlı laboratuvar personeli ve bir ışınlama kaynağı gerektirir. ESR ve PSL de ışınlamanın tespiti TL tekniğine göre nispeten daha kolay hızlı ve ucuzdur. Ancak ESR tekniğinde de spektrumların çözümlenmesi işlemi yine bu konuda deneyimli laboratuvar personeli tarafından yapılabilir. Bu yönüyle PSL her iki tekniğe de alternatif bir yöntem olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Literatürde bu yöntemlerin uygulamalarını ve detaylarını ayrıntılı açıklayan birçok çalışma vardır (Bayram ve Delince,2004; Engin, 2007; Çam vd., 2012; Paksu vd., 2013, Yüce ve Aydın, 2021; Bortolin vd., 2007; Bortolin vd.,2019, Marcazzo vd. ,2015).

Işınlamanın tespiti için laboratuvara gelen bir numuneyi eğer mümkünse önce ESR veya PSL ile analiz etmek sadece ışınlamanın gözlenemediği durumlarda TL tekniğini kullanmak hem zaman kaybının azalması hem de daha az zahmet ve maliyetle deney yapılması açısından daha avantajlıdır. Ancak bazı gıdalarda hem ESR hem de TL yöntemlerinde hemen her gıda üzerinde ışınlamanın belirlenmesi her zaman kolay olmamakta hatta bazı durumlarda mümkün olmamaktadır. Baharatlardan daha düşük dozlarda ışınlanan ve görece olarak baharatlardan daha az silikat minerali barındıran çörekotu ve haşhaş gibi gıda örneklerinde yeterince silikat minerali toplamak mümkün olmamakta veya silikat mineralleri toplansa bile bazı durumlarda elde edilen TL ışıma eğrilerinin oranlarına bakılarak bu gıda ışınlanmıştır diyebilmek güç olabilmektedir. Bu durumlar TL tekniği ile EN1788’e göre teşhisi oldukça zorlaştırmaktadır. Buna benzer olarak ESR tekniğinde de selüöz içeren bazı örneklerde ışınlamayı karakterize eden selüöz piklerinin gözlenememesi nedeniyle EN 1787 standardı uygulanamamaktadır. Işınlamanın belirlenmesini son derece zorlu bir görev haline getirebilen böyle durumlarda, ESR tekniğinde ışınlanmış ve ışınlanmamış numunelerin mikro dalga (MW) doyma eğrilerindeki farklılık, ışınlamanın bir tanımlayıcısı olarak kullanılabilir. Ancak çörekotu, anason,

karabiber, kakule, karanfil, rezene, yeşil çay, haşhaş, kekik, zerdeçal gibi bazı gıdalarda ışınlanmış ve ışınlanmamış olanların doyma davranışları arasında önemli bir fark olmaması nedeniyle ışınlamanın tespiti ESR tekniği ile her zaman mümkün olamamaktadır (Aydaş ve Çam,2017; Aleksieva ve Yordanov, 2018; Bortolin vd., 2020).

PSL tekniğinde örnekler herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan 50 mm çapında petri kaplarına konularak PSL okuyucu ile pulslu kızıl ötesi (IR) ışık kaynağı kullanılarak uyarılır. Bir gıdayı sınıflandırmak için, kaydedilen PSL sinyal şiddeti laboratuvarlar arası testlerin sonuçlarından elde edilmiş alt ve üst eşik seviyeleri olarak adlandırılan sinyal şiddet değerleri ile karşılaştırılır. Eğer gıda ışınlanmışsa, sinyal şiddeti üst seviyenin üzerinde olacaktır. Gıda ışınlanmamışsa, sinyal şiddeti alt eşiğin altında olacaktır. Sinyal şiddeti iki eşik arasında ise numune ışınlanmış ve ışınlanmamış gıdaların karışımından oluşabilir veya silikatın miktarı/türü nedeniyle lüminesans hassasiyeti çok düşük olabilir. PSL ölçümü sonuçları iki eşik değer arasında veya alt eşiğin altında ise sonuçlar sadece ışınlamanın değil ışınlanmamanın da net bir şekilde belirlenebildiği TL tekniği kullanarak doğrulanmalıdır. (Bortolin vd., 2007; TS EN13751, 2009; Marcazzo vd.,2015; Bortolin vd., 2019).

Bu çalışmada ESR ve TL teknikleri ile ışınlamanın belirlenmesinde sıkıntılar olan çörek otu ve haşhaş örnekleri puls modunda kızılötesi uyarma yapan bir PSL okuyucuya sahip olmadığımız için sürekli dalga modunda (Countinuous Wave- CW) mavi ışıkla uyarma yapan bir OSL okuyucu kullanılarak araştırılmıştır. Gıdalar ışınlandığında, iyonlaştırıcı radyasyon gıdalara bağlı silikat minerallerinin kristal yapısında serbest elektronların ve deşiklerin oluşmasına neden olur. Bu serbest elektron ve deşik çiftleri, daha önce kristal yapıda var olan "tuzak" adı verilen kusurlarda depolanır. Mineraller ışıkla uyarıldığında tuzaklarda depolanan elektronlar uyarılır ve deşik tuzakları ile birleştikçe lüminesans yayımlanır. Bu olaya OSL denir. OSL tekniğinde, tuzaklar sabit bir dalga boyu ve sabit bir aydınlatma yoğunluğu kullanılarak boşaltıldığında, kaydedilen ışıldama

sürekli dalga OSL (CW-OSL) olarak adlandırılır. CW-OSL' de, sabit bir yoğunluğa ve dalga boyuna sahip mavi, yeşil veya kızılötesi ışık kaynağı kullanılarak kusurlarda tuzaklanan elektronlar uyarılır ve yayınlanan lüminesans yoğunluğu, uyarım süresinin bir fonksiyonu olarak izlenir (bozunma eğrisi) (Jensen vd., 2003).

Literatürde, gıdaları ışınlanmış veya ışınlanmamış olarak sınıflandırmak için mavi ışıkla uyarma altında OSL okuyucusunun kullanıldığı sadece birkaç çalışma vardır. Catherine vd. (2013) ışınlama dozunu belirlemek için 100Gy ile 35 kGy arasında gama ışınlanmış beyaz biber, karabiber, kekik ve kimyon örneklerinin CW-OSL özelliklerini mavi ışıkla uyarma altında araştırmış sadece kimyon ve kekik örneklerinde ışınlama saptayabilmiş ve ışınlama dozunun belirlenemediğini belirtmiştir. 10 kGy gama ışınlanmış farklı markalardan bir dizi kırmızıbiber, kimyon ve kekik örneğini pulslu mavi ışıkla uyararak POSL özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada ise altı aylık bir sürenin ardından örneklerin çoğunda POSL sinyalinin gözlenmediğini belirtilmiştir (Aygün vd.,2016). Nikolaos ve Tsirliganis (2019) acil bir durumda, adli tıp ve/veya sterilizasyon sonrası dozimetri için taze tavuk kemiklerinin nasıl kullanılabileceğini mavi ışık uyarımı altında CW-OSL kullanarak araştırmışlar ve kemik örneklerinin OSL duyarlılığının düşük olduğunu, saptanabilir minimum dozun yaklaşık 18 Gy olduğunu belirlemişlerdir. CW-OSL tekniği ile mavi ışıkla uyarma yapılan bir diğer çalışmada 5 kGy, 10 kGy ve 20 kGy gama ışınlanmış kekik, nane ve karanfil örnekleri araştırılmış ve bu örnekler üzerinde ışınlamadan bir yıl sonra bile ışınlamanın tespitini yapmaya olanak sağlayacak kadar yeterli OSL sinyallerinin varlığı gözlenmiştir (Yüce, 2021). Mavi ışıkla uyarma altında CW-OSL tekniğinin ışınlanmış gıdaların tespitine yönelik kullanıldığı son çalışma da ise 10Gy-5 kGy doz aralığında gama ışınlanmış Meksika ve Peru kökenli acı kırmızıbiberler araştırılmıştır. Örneklerden sadece hidrojen peroksit kimyasalı kullanılarak izole edilmiş polimineraller, 10-5000Gy arasında ışınlanmış ve bu minerallerde 40 gün içerisinde ışınlamanın tespitinin mümkün olduğu belirtilmiştir (Roman Lopez vd., 2022).

Bu çalışmada üzerlerinde yeterli silikat minerali olmadığı için TL tekniği ile EN 1788 standartının uygulanmasının zor olduğu, ESR tekniğinde selülöz pikleri gözlenemediği için EN 1785 standartının kullanılmadığı ve yine ESR de mikro dalga doyum çalışmalarında bile ışınlamanın belirlenemediği, çörekotu ve haşhaş örnekleri CW- OSL tekniği kullanılarak incelenmiştir. Herhangi bir ön işleme tabi tutulmayan ışınlanmış çörekotu ve haşhaş örneklerinde ışınlamanın tespit edilip edilemeyeceği ışınlamadan hemen sonra ve ışınlamadan bir yıl sonra araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan gıdalar yerel Türkiye pazarlarından ve marketlerinden alındı. Farklı kökenden gelen gıdaların üzerine yapışan silikat minerallerinin miktarları ve tipleri farklı olmaktadır. Bu nedenle her gıda için üç farklı marka seçildi. Çörekotu için ç1, ç2, ç3 ve haşhaş için h1, h2, h3 olarak kodlanan örnekler tartılsalar bile içerisindeki silikat miktarları değişiklik göstereceğinden tartılmadan iç çapı yaklaşık 10 mm olan paslanmaz çelik kaplara yerleştirildi.

Ölçümlere başlamadan önce ölçüm kapları ve OSL okuyucusunun filtresi alkolle temizlendi. Ölçüm kaplarında herhangi bir kirlilik olup olmadığını görmek için her ölçümden boş kapların OSL ölçümleri yapıldı. Ölçümleri olumsuz etkileyebilecek hiçbir OSL sinyali gözlenmedi. Numuneler, ölçümler yapılmadan önce herhangi bir ön işleme tabi tutulmadı.

İlk olarak, ışınlanmamış numunelerin OSL ölçümleri alındı. Her marka gıdanın her dozda ölçümü üç ayrı çelik kap kullanılarak tekrarlandı. Işınlanmamış ve ışınlanmış örneklerin OSL sinyalleri 100 saniyelik mavi uyarma ile gerçekleştirildi ve ışınlanmamış her marka için OSL ölçümü o marka için taban seviye olarak kabul edildi. Daha sonra 1 kGy, 3 kGy, 5 kGy ve 7 kGy gama ışınları ile ışınlanmış her marka örnek için OSL sinyalleri ışınlamadan hemen sonra kaydedildi. Işınlanmış gıdalar, ışınlamadan sonra bir yıl boyunca oda sıcaklığında normal laboratuvar koşullarında şeffaf naylon kilitli torbalarda saklandı. Örnekleri ışıktan korumak için özel bir çaba gösterilmedi. Ölçüm için

kullanılan örnekler naylon poşetlerin daha çok silikatlı olabilen dip kısımlardan alınarak çelik kaplara yerleştirildi. Işınlamalar için TENMAK-Nükleer Enerji Araştırma Enstitüsü bünyesinde bulunan 1018 kGy/saat doz hızında ⁶⁰Co gama kaynağı kullanıldı.

OSL ölçümleri, 280-380 nm dalga boylarını geçirebilen 7,5 mm kalınlığında Hoya U-340 filtreye sahip bir Risø TL/OSL-DA-20 okuyucu ile yapıldı. Lüminesans ışığı, 300-400 nm dalga boyunda maksimum algılama verimliliğine sahip bialkali EMI 9235QA foto çoğaltıcı tüp ile tespit edildi. Mavi ışıkla uyarma, 470 ± 20 nm dalga boyunda mavi ışık yayan 24 adet diyot kümesinin kullanıldığı bir mavi ışık kaynağı ile yapıldı. CW-OSL' in güç yoğunluğu 30 mW/cm² idi.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

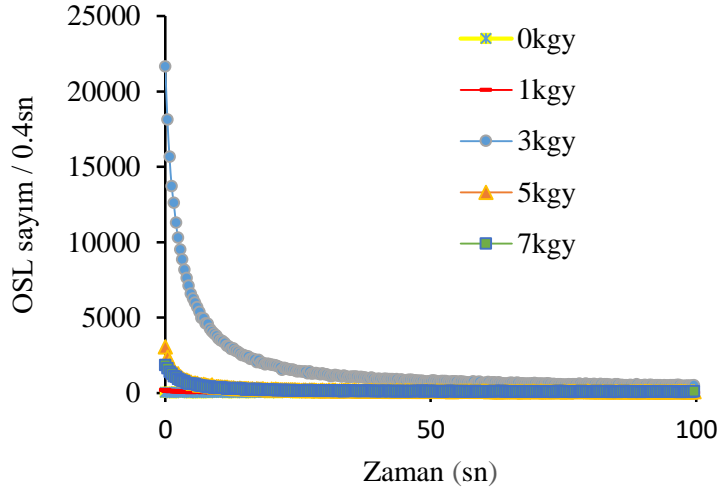
Işınlanmamış örnekler için herhangi bir OSL sinyali gözlenmezken, ışınlamadan sonra iki farklı örneğin her markası için OSL sinyallerinin yoğunluğunda önemli bir artış gözlendi. (Şekil 1, 2 a, b, c). Şekil 1 ve 2 ilgili dozlarda ölçüm alınan üç örnekten hangisi en yüksek şiddette OSL sinyali vermişse o örneğe ait OSL bozunum eğrisi kullanılarak çizilmiştir. Şekillerden de görüldüğü gibi 1 kGy, 3 kGy, 5 kGy ve 7 kGy gama ışınlamasından sonra, tüm numuneler çok yüksek bir OSL duyarlılığına sahiptir. Işınlama dozu ile sinyal şiddeti artışının orantılı olmamasının nedeni, her ölçümden numunelere yapılmış silikat minerallerinin miktarlarının ve/veya tiplerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Işınlanmış numunelerin yüksek OSL yoğunluklarına sahip olmasının nedeni, numuneye bağlı silikat minerallerinde bulunan elektron tuzaklarının fazlalığından kaynaklanmaktadır (Aygün vd., 2016; Yüce, 2021).

1 kGy, 3 kGy, 5 kGy ve 7 kGy ışınlamadan bir yıl sonra çörekotu ve haşhaş örneklerinin farklı markaları üzerinde yapılan OSL ölçümleri sonucunda elde edilen OSL bozunum eğrileri, Şekil 1 (d) ve 2 (d ve e)' de görüldüğü gibidir. Bu şekillerden de görüldüğü gibi, bir yılın sonundaki OSL sinyalleri, incelenen tüm ışınlanmamış gıdaların OSL sinyallerinden daha yoğundur. Bazı örneklerde daha yüksek ışınlama dozuna rağmen

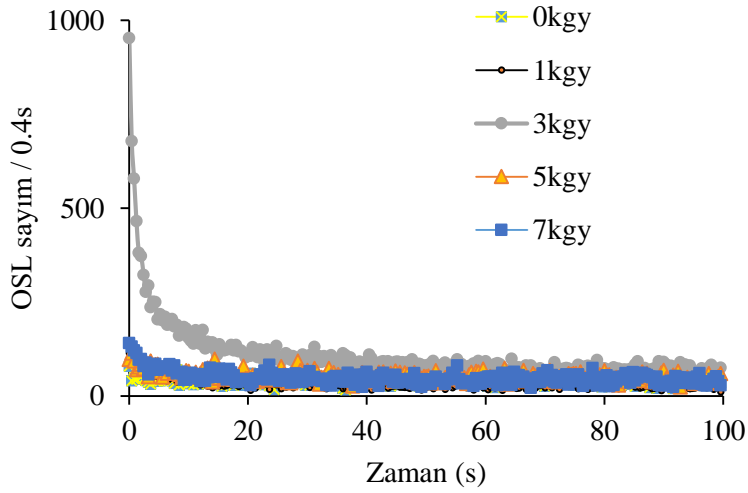
gözlenen azalmanın nedeni, bu örneklerin bir yıllık depolama süresince daha fazla güneş/laboratuvar ışığına maruz kalmış olmaları olabilir. Aynı zamanda ışınlama dozu ile orantısız

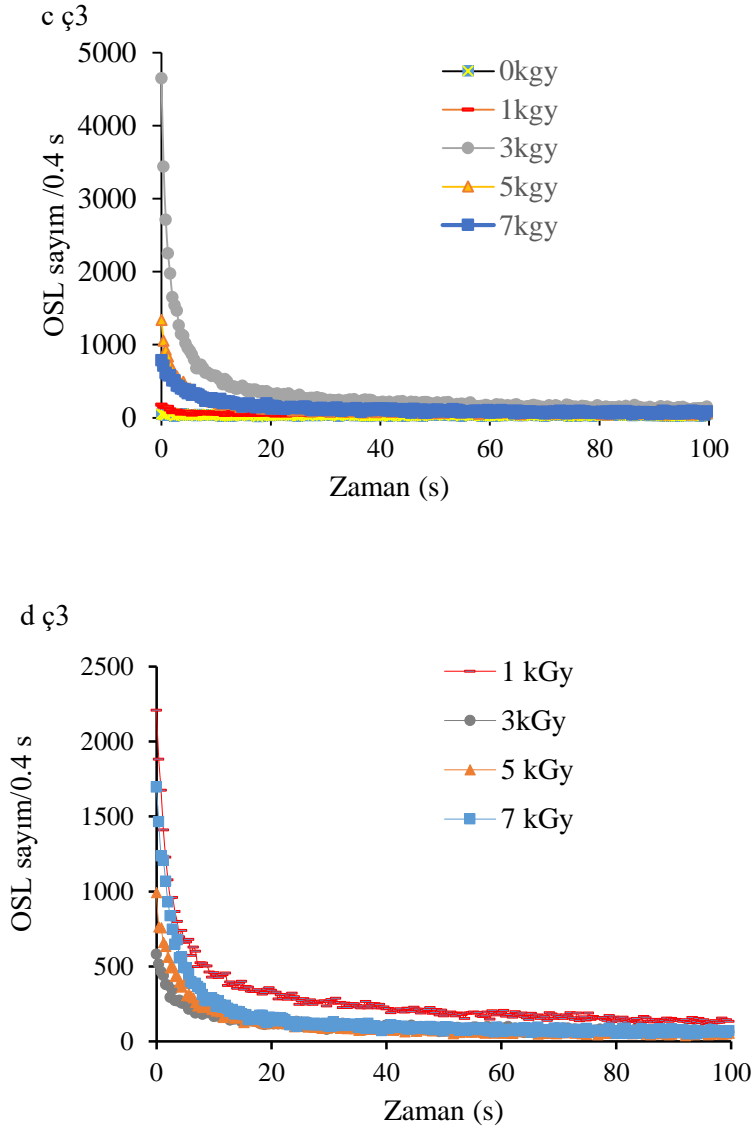
ölçülen OSL sinyallerinin nedeni ilgili kapta bulunan numunelerdeki düşük/yüksek mineral içeriği ve/veya lüminesans duyarlılığından kaynaklanabilmektedir.

a ç1



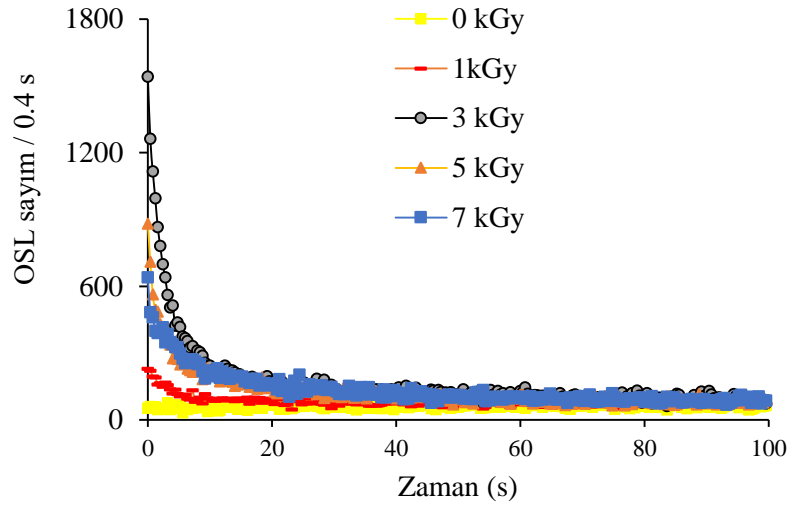
b ç2



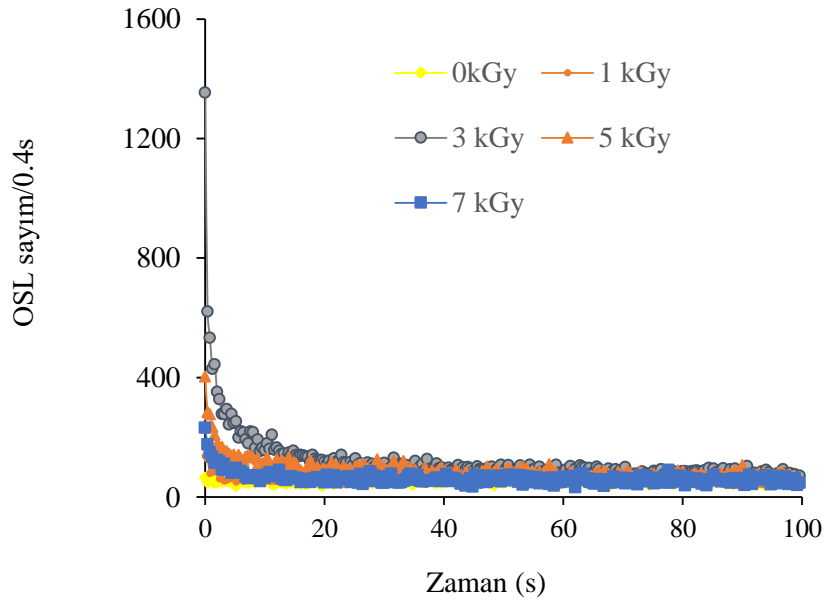


Şekil 1. Farklı markalarda çörekotu örneklerine ait ışınlamadan hemen sonra ve bir yıl sonra alınan OSL bozunum eğrileri (aç1, bç2, cç3 sırasıyla üç farklı çörekotu markasının ışınlamadan hemen sonra alınan OSL sinyallerini, dç3 üçüncü markanın ışınlamadan bir yıl sonra alınan OSL sinyalini göstermektedir)
 Figure1. OSL decay curves of black cumin samples of different brands immediately after irradiation and one year later (aç1, bç2, cç3 show the OSL signals of three different black cumin brands immediately after irradiation, dç3 shows the OSL signal of the third brand one year after irradiation)

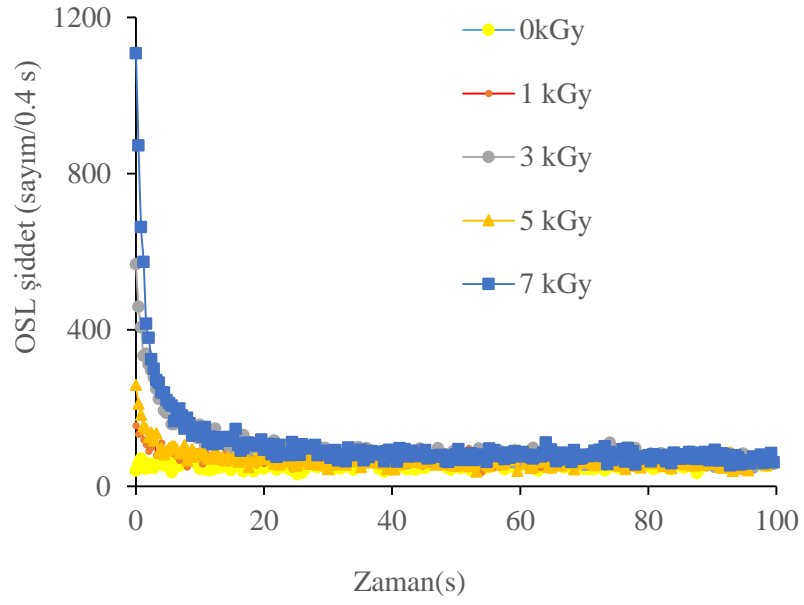
a h1



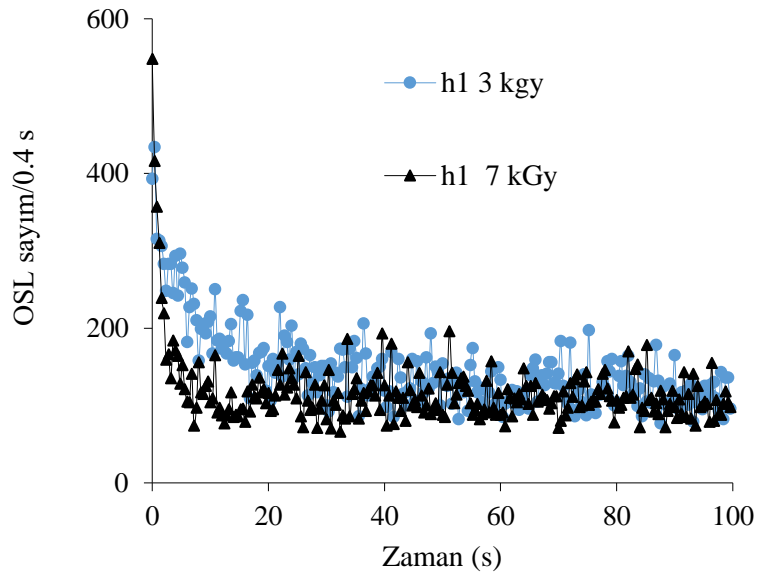
b h2



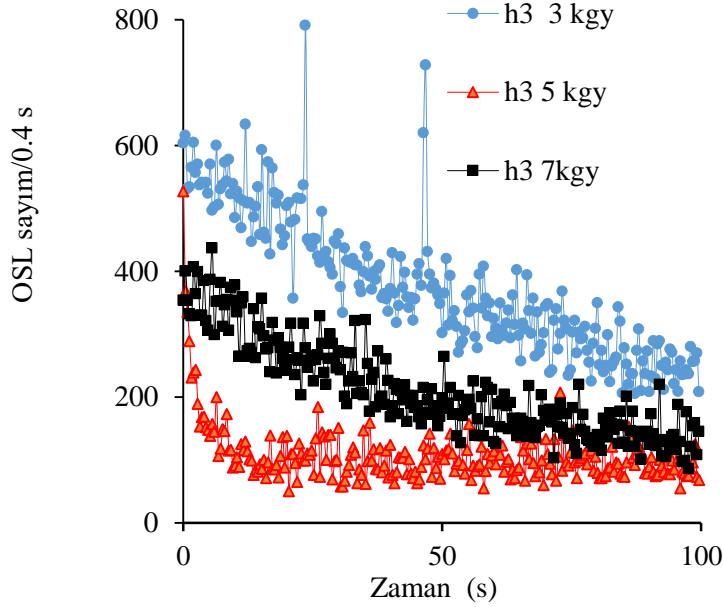
c h3



d h1



e h3



Şekil 2. Farklı markalarda haşhaş örneklerine ait ışınlamadan hemen sonra ve bir yıl sonra alınan OSL bozunum eğrileri (ah1, bh2, ch3 sırasıyla üç farklı haşhaş markasının ışınlamadan hemen sonra alınan OSL sinyallerini, dh1 ve eh3 birinci ve üçüncü markanın ışınlamadan bir yıl sonra alınan OSL sinyallerini göstermektedir)

Figure 2. OSL decay curves of poppy samples of different brands immediately after irradiation and one year later (ah1, bh2, ch3 show the OSL signals of three different poppy brands immediately after irradiation, dh1 and eh3 show the OSL signals of the first and third brands one year after irradiation)

Çörek otu örneklerinin iki tanesinde (ç1 ve ç2) bir yıl sonra hiçbir dozda anlamlı OSL sinyalleri gözlenemezken diğer markada (ç3) bir yıl sonra her dozda oldukça yüksek OSL sinyalleri gözlemlendi (Şekil 1, d). Üç ayrı haşhaş örneğinde 1 kGy, 3 kGy, 5 kGy ve 7 kGy dozlarında ışınlamadan hemen sonra oldukça yüksek OSL sinyalleri gözlenirken bir yıl sonra her üç markanın 1 kGy ve 5 kGy ışınlanmış örneğinde hiç sinyal gözlenmedi. Şekil 2 e ve d' den görüleceği üzere iki farklı haşhaş markasında 3 kGy ve 7 kGy ışınlamalardan bir yıl sonra ışınlamanın varlığını destekleyen OSL sinyalleri gözlemlendi. Haşhaş örneğinde bir yılın sonundaki sinyal şiddetleri düşük olmasına rağmen taban seviyenin (ışınlanmamış gıdanın OSL sinyali) oldukça üzerindedir. Yüce (2021) nane ve kekik örneklerinde tek marka üzerinde yaptığı çalışmada ışınlamadan bir yıl sonra oldukça yüksek OSL sinyalleri kaydetmişti. Ancak aynı

çalışmada incelen karanfil örneği yine bu çalışmada gözlenen haşhaş örnekleri gibi her ne kadar ışınlamanın tespitine imkân verse de nane ve kekik örneklerinin bir yıl sonraki OSL sinyallerine kıyasla oldukça düşük seviyedeydi. Çörekotu, haşhaş ve karanfil gibi gıdalar silikat bakımından oldukça fakir olduklarından bu beklenen bir durumdur. Ancak bu gibi örneklerde tekrar sayısı üç yerine daha fazla yapıldığında silikatın daha yoğun olduğu bir kaptan yüksek şiddetli OSL sinyali alma ihtimali artacaktır.

Işınlanmış gıdalarda bir OSL sinyalinin gözlenmesi, örneğin ışınlandığının veya ışınlanmamış ve ışınlanmamış örneklerin karışımından oluştuğunun göstergesidir. Bununla birlikte, sinyalin gözlenmemesi, numunenin ışınlanmadığının bir göstergesi değildir. Çünkü numunedeki OSL sinyalleri saklama süresi

boyunca gün ışığı ve/veya yapay ışık kaynaklarının etkisiyle sıfırlanmış olabilir. Buna ek olarak, numune yeterli silikat minerali yoksa 20 kGy gibi yüksek bir dozda bile ışınlamayı tespit etmek çok zor olabilir. Daha önce yapılan benzer bir çalışmada (Aygün vd., 2016) ışınlanmış örnekler 6 ay sonra ölçülmüş ve bazı markalarda sinyal gözlenirken bazılarında gözlenememiştir. Sonuç olarak OSL tekniğinde de PSL de olduğu gibi gıdanın üzerindeki silikat miktarı ne kadar fazla ise sinyal alma ihtimali o kadar artmaktadır. PSL okuyucunun olmadığı, TL tekniği için silikat ayrıştırmanın mümkün olmadığı, silikat mineralleri ayrıştırılsa bile TL ışınma eğrilerinin yorumlanamadığı, ESR tekniğinde ışınlamayı karakterize eden selülöz piklerinin gözlenmediği, mikrodalga doyum grafiklerinde de ışınlanmanın kesinleştirilemediği durumlar için mavi ışıkla uyarma altında CW-OSL iyi bir alternatif gibi durmaktadır. Bu ve benzeri çalışmalar yaygınlaştığında ve laboratuvarlar arası testler ile geliştirildiğinde mevcut PSL okuyucuların farklı uyarma kaynakları içeren modellerinin ve/veya örnekler market raflarındayken örneklerdeki ışınlamayı tespit edebilecek taşınabilir modellerinin yapımı konusunda bir fikir olabilir.

ÇIKAR İLİŞKİSİ

Yazarın bu makale ile ilgili olarak üçünü şahıslarla ilgili bir çıkar ve çatışma ilişkisi yoktur.

KAYNAKLAR

Aleksieva, K. I. and Yordanov, N. D. (2018). Various approaches in EPR identification of gamma-irradiated plant foodstuffs: *A review Food Research International* 105 1019–1028, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.072>

Aydaş, C., Çam, S.T. (2017). Identification of irradiated foodstuffs using ESR microwave saturation. *Applied Radiation and Isotopes* 122:14–20, <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2016.12.052>

Aygün, G., Bozoğlu, F., Bulur, E. (2016). Detection of gamma irradiated spices with OSL method and its reliability. *Natural Science and Discovery* 2 (1):11-9 <https://doi.org/10.20863/nsd.v2i1.33>

Bayram, G., Delincee, H. (2004). Identification of irradiated Turkish foodstuffs combining various physical detection methods. *Food Control* 15: 81–91, [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00018-5](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00018-5).

Bortolin, E., Boniglia, C., Colicchia, A., Alberti, A., Fuochi, P., Onari, S. (2007). Irradiated herbs and spices detection: light-induced fading of photo-stimulated luminescence response. *International journal of Science and Research*. 42:330–33, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01241.x>

Bortolin, E., Carratua, B., Chiaravalle, A.E., Schiavic, Gargiuloa, M.T., Mangiacottib, Di R. M. G. .C. Quattrinia, M. Tomaiulob, C. Bonigliaa Detection of irradiated plant foods by photo- and thermally-stimulated luminescence(2019). *Food Control* 105: 113–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.05.027>

Bortolin, E., Cardamone, C., Chiaravalle, A.E., Carratù, B., Deiana, G., Di Noto, A. Di Schiavie, M.T., D'Ocaf,, M.C. , Gargiulo, R., Mangiacotti, M., Marchesani, G., Quattrini ,M.C., Tomaiuolo, M., Boniglia, C., (2020) . An inter-laboratory comparison to evaluate the suitability of EN 1787 standard to detect irradiation in plant-origin foods with health benefits. *Food Control* 117, 107326, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107326>

Catherine, C.O., Silva, A.V., De Alencar, M. (2013). Application of the OSL Dosimetry Technique in the Identification of Irradiated Foods Such as Condiments and Spices. *International Nuclear Atlantic Conference –24–29*.

Çam, S. T., Aydaş, C., Engin, B., Yüce, U.R. , Aydın, T., Polat, M. (2012). ESR and TL studies of irradiated Anatolian laurel leaf (*Laurus nobilis* L.), *Radiation Effects and Defects*, 167 (6): 1-11, <https://doi.org/10.1080/10420150.2012.666243>.

EN 1787 (2005). Determination of irradiated food containing cellulose: analysis by EPR. European Committee for Standardization, Brussels.

EN 1788 (2007). Thermoluminescence detection of irradiated food from which silicate minerals

can be isolated. European Committee for Standardization, Brussels.

EN 13751 (2009). Foodstuffs – Detection of Irradiated Food Using Photostimulated Luminescence – European Committee for Standardization, Brussels.

Engin, B. (2007). Thermoluminescence parameters and kinetics of irradiated inorganic dust collected from black peppers. *Food Control* 18: 243-250. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.10.002>.

Gıda ışınlama yönetmeliği (2019). Erişim adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2019/10/20191003-1.htm>

Işık, S., Kartal, M., Erdem, S.A. (2017). Quantitative analysis of thymoquinone in *Nigella Sativa* L. (Black Cumin) seeds and commercial seed oils and seed oil capsules from Turkey. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 41(1) : 34-41. DOI:10.1501/Eczfak_0000000593

İpek, G., Arslan, N. (2012). Gıda Maddesi Olarak Haşhaş (*Papaver somniferum* L.) Tohumunun Değerlendirilmesi, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 2: 99 - 101

Jensen, L.B., Mckeewer, S.W.S., Wintle, A.G. (2003). *Optically Stimulated Luminescence Dosimetry*, Elsevier Science, London

Marcazzo, J., Sanchez-Barrerab, C.E., Urbina-Zavalab, A., Cruz-Zaragoza, E. (2015). Photostimulated luminescence detection and radiation effects on cinnamon (*Cinnamomum Zeylanicum*) spice. *Applied Radiation and Isotopes* 104:29–33, <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2015.06.025>

Nikolaos, A.K., Tsirliganis, N.C. (2019). Optically Stimulated Luminescence Investigation

of Chicken Bones towards Their Use at Food Post-Sterilization and Retrospective Dosimetry. *Applied Radiation and Isotopes* 154:108889. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2019.108899>

Paksu, U., Aydaş, C., Yüce, U.R., Aydın, T., Polat, M., Engin, B., (2013). ESR and TL investigations on gamma irradiated linden (*Tilia vulgaris*) *Radiation and Environmental Biophysics* 52(2) : 255-267, <https://doi.org/10.1007/s00411-013-0465-x>.

Roman-Lopez, J.,B., Lozano,,K., Ibarra , J.I., Guzman-Castañeda, J.A.I., Diaz-Gongora Cruz-Zaragoza, E. (2022). Continuous-wave optically stimulated luminescence properties of Guajillo chilli polyminerals exposed to gamma radiation. *Applied Radiation and Isotopes*. 179, 110021, <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2021.110021>

TS EN 1784 (2005). Gıda Maddeleri - Katı Yağ İçeren Işınlanmış Gıdaların Belirlenmesi - Hidrokarbonların Gaz Kromatografik Analizi Yöntemi.

Yüce, U.R. (2021). Use of optically stimulated luminescence (OSL) in the detection of irradiated spices. *Radiation and Environmental Biophysics* 60: 359–364, <https://doi.org/10.1007/s00411-021-00908-8>

Yüce, U.R., Aydın, T.A. (2021). Çeşitli Gıda Numunelerinin Işınlanıp Işınlanmadığının Termoluminesans (TL) Tekniği İle Belirlenmesi Konusunda Yapılan Bir Uluslararası Karşılaştırma Çalışması. *GIDA* 46 (1) : 97-109, <https://doi.org/10.15237/gida.GD20084>



YENİLEBİLİR MANTAR KONULU MAKALELERİN BİBLİYOMETRİK ANALİZİ

Nurhan Öztürk*

Akdeniz Üniversitesi, Korkuteli Meslek Yüksekokulu, Antalya, Türkiye

Geliş / *Received*: 11.05.2022; Kabul / *Accepted*: 04.09.2022; Online baskı / *Published online*: 29.09.2022

Öztürk, N. (2022). Yenilebilir mantar konulu makalelerin bibliyometrik analizi. GIDA (2022) 47 (5) 831-845 doi: 10.15237/gida.GD22051

Öztürk, N. (2022). *Bibliometric analysis of articles on edible mushroom. GIDA (2022) 47 (5) 831-845 doi: 10.15237/gida.GD22051*

ÖZ

Bu çalışma “yenilebilir mantar” içerikli akademik alanındaki yayınların Web of Science veri tabanındaki etkinliğini ve bilimsel eğilimi analiz etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada elde edilen veriler bibliyometrik analiz yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Çalışmada Web of Science veri tabanında yıl sınırlaması ve doküman sınırlaması yapılmadan araştırılan konu ile ilgili 1970-2021 yılları arasında toplam 6250 veri elde edilmiştir. Veriler indeks türü, yıllara göre dağılım, ülkelere göre dağılım, ülkelerin işbirlik ağı, atıf oranları, yazarlar, anahtar kelimeler, trend konular gibi çeşitli bibliyometrik göstergeler açısından incelenmiştir. Yenilebilir mantarların; besinsel içeriğinin zenginliği, tüketim ürünü, tıbbi ürün, alternatif besin ürünü gibi alanlarda kullanılması ile son yıllarda yapılan konuyla ilgili çalışmalarda artış gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Yenilebilir mantar, bibliyometrik analiz, mantar

BIBLIOMETRIC ANALYSIS OF ARTICLES ON EDIBLE MUSHROOM

ABSTRACT

This study was carried out to analyze the effectiveness and scientific trend of publications in the academic field with content of “edible mushroom” in the Web of Science database. The data obtained in the study were analyzed using bibliometric techniques. In the study, a total of 6250 data were obtained between 1970-2021 on the investigated subject in Web of Science database without year or document limitation. The data were analyzed in terms of various bibliometric indicators such as index type, distribution by years, distribution by country and cooperation network, citation rates, authors, keywords, trending topics. The studies on edible mushrooms were increased because of their high nutritional value, and of those mushrooms consumption as an alternative food, in medicine.

Keywords: Edible mushroom, bibliometric analysis, mushroom

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding Author*

✉: ozturkn@akdeniz.edu.tr

☎: (+90) 242 643 5000

☎: (+90) 242 643 5005

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

GİRİŞ

Mantar türleri, dünya çapında özellikle eşsiz lezzetleri ve besin içeriği bakımından gıda alanında değerlendirilmiştir. Doğada 2000'den fazla mantar türü vardır, ancak yaklaşık 25'i yaygın olarak gıda olarak kabul edilmekte ve çok azı ticari olarak yetiştirilmektedir (Chang ve Mile, 2008; Ergönül vd., 2013). Gerçek mantarları; (1) yenilebilir (yemelik); (2) tıbbi ve (3) zehirli türler olarak kategorileştirmek mümkün olmaktadır (Hawksworth, 2001; Pekşen, 2013). Yenilebilir mantarların karpofor (yenilebilir kısmı; sap, şapka yapıları) kısımları tüketilebilmektedir (Wasser, 2010). Mantar türleri arasında 5020 yenilebilir 1250 yenilmez, 1010 zehirli, 1820 tıbbi özellik gösteren olmak üzere toplamda 10 bin civarında makro mantar bulunmaktadır (Hawksworth, 2001; Pekşen, 2013). Bununla birlikte, yenilebilir ve tıbbi mantarlar arasında kolay bir ayrım yoktur, çünkü yaygın olarak yenilebilir türlerin çoğu tedavi edici özelliklere sahip olmaktadır (Guillamon vd., 2010).

Dünya mantar (mantarlar ve trüf) üretimi 2019 yılında ~12 milyon ton olmuştur. Dünyadaki mantar üretim miktarında öncü olarak Asya Kıtası %69 payla, ülke olarak da Çin ilk sırada yer almaktadır (FAO, 2021).

Mantar, besinsel ve fonksiyonel değeri yüksek bir besin olarak kabul edilmekte ve aynı zamanda besleyici bir gıda ürünü olarak kabul edilmektedir (Ergönül vd., 2013; Guillamon vd. 2010). Genel olarak mantarlar %90 su ve %10 kuru madde içermektedir (Morais vd., 2000; Sánchez 2004). Mantarlar besinsel içerik bakımından; yüksek oranda protein (Hung ve Nhi, 2012), iyi bir lif kaynağı, mineral, vitamin (kalsiyum, magnezyum, fosfor, potasyum, demir, çinko, bakır ve manganez), esansiyel aminoasitler, monosakkaritler, disakkaritler ve kitin oranları zengin bir kaynak olmaktadır. Ayrıca mantarlardaki lipit ve şeker oranının az olması düşük kalori oluşturduğu için diyet ürünü olarak kullanımına olanak sağlamaktadır (Park ve Kwang, 2001; Selvi vd., 2007). Yenilebilir mantar parçalarının tedavi edici özelliklere sahip olduğu ve birçok hastalığın (örneğin kanser, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, insomnia, alerji, stres, astım, diyabet gibi)

tedavisinde önemli bir etkiye sahip oldukları yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Guillamon vd., 2010). Dünyada en fazla yetiştiriciliği yapılan yenilebilir mantar türü yaklaşık %32'lik oranla beyaz şapkalı kültür mantarı (*Agaricus bisporus* (J. Lge) Imbach)' dır. (Özbayram ve Savaşkan, 1983; Chang, 1999). Bu mantarı kayın veya istiridye mantarları (*Pleurotus* spp.), meşe mantarı (*Lentinus edodes*), enoki mantarı (*Flammulina velutipes*), ağaç kulağı mantarı (*Auricularia* spp.), saman mantarı (*Volvarella volvacea*) türleri takip etmektedir (Beelman vd., 2004).

Bibliyometrik analiz; dokümanların veya yayınların birçok yönden örneğin yazar sayısı, yayımlandığı dergi, konu, anahtar kelime, ülke, makale başlığı gibi belirli özelliklerinin niceliksel olarak analiz edilmesi olarak tanımlanmaktadır (Al ve Tonta, 2004; Yalçın, 2010; Ulu ve Akdağ, 2015).

Bibliyometrik araştırmalar, akademik çalışmaların değerlendirilmesine, analiz edilmesine ve seçilen konu ile bulguların objektif kriterlere göre değerlendirilmesine imkân vermektedir (Martinez vd., 2015). Bibliyometrik yöntem kullanılarak yapılan çalışmalar ilk 1917 yılında başlamıştır (Cole ve Eales, 1917). Bu süreçten sonra akademik alandaki dergilere ilişkin, alan seçilerek, belirli konu başlıkları seçilerek yapılan çok sayıda bibliyometrik çalışma ortaya çıkartılmıştır (Gross ve Gross, 1927; Donohue, 1972; Smith, 1977; Levine, 1986; Kaminer ve Braunstein, 1998; Critchfield, 2002; Al ve Coştur 2007; Birinci 2008; Fu vd., 2010; Yalçın 2010; Zyoud vd., 2014; Ulu ve Akdağ 2015; Polat ve Alkan 2015; Yu vd., 2016; Hancıoğlu ve Tekin, 2017; Velasco-Muñoz vd., 2018; Gao vd., 2018; Zhu vd., 2019; Zhang vd., 2018; Sun ve Yuan, 2020; Erturgut ve Gürler, 2020; Donthu vd., 2021).

Mantarları konu olarak yapılmış bibliyometrik analizlerde; Świsłowski vd. 2020 yılında mantarların seçilen bazı elementlerle kontaminasyonu hakkında 2001-2016 yılları arasında yayınlanan 200 Avrupa yayınının bibliyometrik analizini yapmışlardır. Guo vd. 2016 yılında; 1991-2014 yılları arasında istiridye

mantarıyla ilgili araştırmalar üzerine küresel bilimsel üretimi değerlendirmek için bibliyometrik bir analiz yapmışlar ve analizde, Science Citation Index Expanded veri dizini kullanmışlardır. Yeung vd. 2018 yılında nutrasötikler ve fonksiyonel gıdalar konusunda en çok alıntı yapılan 100 makaleyi belirleyerek analiz etmişler ve veriler Scopus veri tabanından elde edilmiştir. Cao vd. 2018 yılında; *Ganoderma*'nın kanser immünoterapisinde kullanımı ile ilgili 1987-2017 yılları arasında yayınlanmış makalelerin bibliyometrik analizini yapmışlardır. Yağan vd. 2020 yılında; 1975-2019 yılları arasındaki mantar zehirlenmelerinin bibliyometrik ve bilimetri analizlerini yapmışlar ve veriler Web of Science Core Collection, Russian Science Citation Index, SciELO Citation başlıklı Web of Science veri tabanları kullanılmıştır. Xu ve Yu 2021 yılında; popüler mantar olan *Ganoderma lucidum* türüyle ilgili 1936'dan 2019'a kadar yapılmış bilimsel araştırmaların bibliyometrik analizini yapmışlardır.

Bibliyometrik analiz kullanılarak yapılan çalışmalar bilim dalı, bilimsel araştırmalar ve geliştirilen yöntemler gibi birçok araştırma konusunun nicelik ve nitelik açısından gelişimi ile ilgili matematiksel performans değerlendirilmesine katkı sağlamaktadır (Law ve Cheung, 2008). Bu açılarından bakıldığında bibliyometrik çalışmaların bilim dünyasındaki araştırmaların eksik alanlarının belirlenmesi, çalışmalara katkı sağlaması, yeni yöntemlerin geliştirilmesi gibi birçok yönden değerlendirilmesine olanak sağlayarak çalışmaların performanslarını artırabileceği düşünülmektedir (Şakar ve Cerit, 2013; Ulu ve Akdağ, 2015). Bu çalışma ile yenilebilir mantarlara genel bir bakış yapılarak yıl ve doküman sınırlaması yapılmadan geniş kapsamlı bir performans analizi yapılması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda bu konu ile ilgili yakın bir çalışmanın olmaması ve yenilebilir mantar türlerine yönelik çalışmaların hangi boyutta olduğunun belirlenmesi ile 1971-2021 yılları arasında Web of Science veri tabanında yer alan dokümanlar indeks türü, yıllara göre dağılım, ülkelere göre dağılım ve işbirlik ağı, atıf oranları, yazarlar, anahtar kelimeler, trend konular gibi çeşitli bibliyometrik göstergeler açısından incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada, R programı üzerinden yürütülen bibliyometrik analiz sistemi ile uyumlu olması nedeniyle veri toplama için Web of Science Core Collection veritabanı seçilmiştir. Bu doğrultuda veri tabanında tarama yapmak için temel arama alanına “edible mushroom (yenilebilir mantar)” sözcük grubu girilmiş ve Web of Science atıf indekslerinin tümü (Journals, Books, etc) seçilerek 17.11.2021 tarihinde arama yapılmıştır. Bu arama sonucunda 6250 dokümana ulaşılmıştır (<http://apps.webofknowledge.com>, 2021). Dışa aktarma ile tüm ulaşılan dokümanlar bir havuzda toplanmış ve böylelikle dokümanın iki kez değerlendirilmesinin önüne geçilmiştir.

Elde edilen verileri analiz etmek için R-Studio programı kullanılmıştır. Bu program resmi web sitesinde <https://cran.r-project.org/> adresinde sunulmaktadır. Bibliyometrik analizlerde kullanılan bu paket program nicel araştırmalar için oldukça faydalıdır (Aria ve Cuccurullo, 2017). Bibliyometrik analizler için R programının kullanılması, daha fazla bulguya ve ayrıntılı gösterime olanak sağladığı için seçilmiştir. Araştırma verileri indirildikten sonra, R-Studio programı üzerinden “bibliometrix” paket indirilerek aktif edilmiştir. R-Studio üzerinde “bibliyometrik paketi” ve “biblioshiny” söz dizimi seçilmiş ve R-Studio programı bir adres aracılığıyla bibliyometrik analiz sayfasına yönlendirilmiştir. Bir sonraki adımda veri bölümüne “düz metin” dosyası yüklenmiş ve analizler bu dosyaya göre yapılmıştır.

Çalışmada belgeler, dokümanlar veya yayınlar ile ilgili elde edilen bulgular zaman aralıklarında yer alan çalışmaların; indeks kategorisi, yıllara göre dağılımlara, ülkelere göre etkinlik seviyesi, anahtar kelimeler, atıf oranları, trend konular vb. birçok analiz sonucu çizelgeler ve grafikler ile açıklanmıştır. Çalışmada ayrıca bibliyometrik çalışmalara bakış açısı elde etmek içinde Web of Science veri tabanında (2022-ocak) “Bibliometric Analysis” konulu tarama yapılmış ve 14243 doküman tespit edilmiştir.

BULGULAR**Verilerin değerlendirilmesi**

Çalışmada kullanılan kaynakların indeks türlerine göre genel dağılımına Çizelge 1’de verilmiştir. Web of Science veri tabanının incelenmesinde (2022-ocak) 10 farklı indeks türünde kategorize edilmiştir. Bu dokümanların en çok bulunduğu indeks türü %92.257 oranı ve 5779 kayıt ile

SCI-Expanded oluşturmaktadır İkinci sıradaki indeks türüne bakıldığında %4.183 oranı ve 62 kayıt ile CPCI-S indeks türü gelmektedir. Birinci ve ikinci sıradaki sayısal oranlara bakıldığında SCI-Expanded yenilebilir mantarlar konusunda oldukça kayıt içermektedir.

Çizelge 1. Web of Science indeks kategorileri (Web of Science 2022)

Table 1. *Web of Science index categories (Web of Science 2022)*

Web of Science İndeks	Kayıt Sayısı	% Oranı
Science Citation Index Expanded (SCI-EXPANDED)	5779	92.257
Conference Proceedings Citation Index – Science (CPCI-S)	262	4.183
Emerging Sources Citation Index (ESCI)	240	3.831
Index Chemicus (IC)	85	1.357
Book Citation Index – Science (BKCI-S)	80	1.277
Social Sciences Citation Index (SSCI)	71	1.133
Current Chemical Reactions (CCR-EXPANDED)	7	0.112
Book Citation Index – Social Sciences & Humanities (BKCI-SSH)	5	0.080
Conference Proceedings Citation Index – Social Science & Humanities (CPCI-SSH)	3	0.048
Arts & Humanities Citation Index (A&HCI)		

Çizelge 2’de “Yenilebilir mantar” anahtar kelimesi kullanılarak Web of Science veri tabanında araştırma yapılmıştır. Araştırma analizinde 6250 veri 1970-2021 yılları arasında yapılmış 6250 veriye ulaşılmıştır. Analiz sonucu elde edilen verilerde; 1494 farklı kaynaktan (dergiler, kitaplar vb.) yayınlandığı, makale sayısının 5338, yazar sayısının toplamda 16656, 285 belgenin tek yazarlı ve yıllık ortalama yayın sayısının 8.61 olduğu analiz sonucunda gözlenmiştir. Ayrıca sonuçların değerlendirmesinde son 5 yılın verilerine bakıldığında 2017-2021 yılları arasındaki doküman sayısı 2352 ve makale sayısının 2008 olduğu belirlenmiştir.

Bibliyometrik analiz sonuçlarında trend konularda yenilebilir mantar içerikli çalışmaların yıllara göre dağılımlarında 2010-2019 yılları arasında popülaritesinin arttığı gözlenmiştir. Türler içerisinde *Agaricus bisporus* mantar türünün ise 2010-2019 yılları arasındaki çalışmalarda konu olarak popüler olduğu gözlenmiştir.

Ayrıca yapılan “Bibliometric Analysis” konulu taramada elde edilen 14243 dokümanda 2021-

2017 yılları arasındaki çalışmalarının oranının %64.255 gibi büyük paya sahip olması son yıllardaki bibliyometrik analiz çalışmalarının etkinliğinin arttığını göstermektedir. Dokümanların %69.346’nun makale olduğu; indeks kategorisinde de %51.190 oranıyla SCI-Expanded kategorisinin yer aldığı ve ülke olarak da ilk sırada 2666 kayıtlı Çin’in yer aldığı gözlenmiştir.

Yıllık bilimsel üretim

Şekil 1’de 1970-2021 yılları arasında “yenilebilir mantar” ile ilgili çalışmaların yıllara göre dağılımı grafiksel olarak verilmiştir. Buna göre 1970-1990 yılları arasında az sayıda çalışma ile genellikle inişli çıkışlı bir dalgalanma mevcut olmuştur. 1991 yılında araştırma alanında bir artış gözlenmiştir. 2000’li yılların başında yapılan çalışmalar düzenli artış göstermiştir. En çok çalışma yapılan yıllar 2016 ile 2021’dir. 2020 yılında 514 ve 2021 yılında 493 çalışma yapılmıştır. Son 5 yılın ortalama yayın sayısı ise 470 olarak elde edilmiştir.

Çizelge 2. Analiz verileri ile ilgili ana bilgiler
Table 2. Main information about analysis data

Zaman Aralığı	1970-2021
Kaynaklar (Dergiler, Kitaplar Vb.)	1494
Doküman	6250
Makale	5338
Makale; Kitap Bölümü	67
Kitap	1
Toplantı Özeti	79
Yıllık Ortalama Yayın	8.61
Makale Başına Ortalama Atıf	19.87
Yazar	16656
Anahtar Sözcükler (Id)	8898
Yazarın Anahtar Sözcükleri (De)	11564
Tek Yazarlı Makale	285
Yazar Başına Düşen Makale	0.375
Makale Başına Düşen Yazar	2.66
Makale Başına Düşen Ortak Yazarlar	5.01
İşbirliği İndeksi	2.76

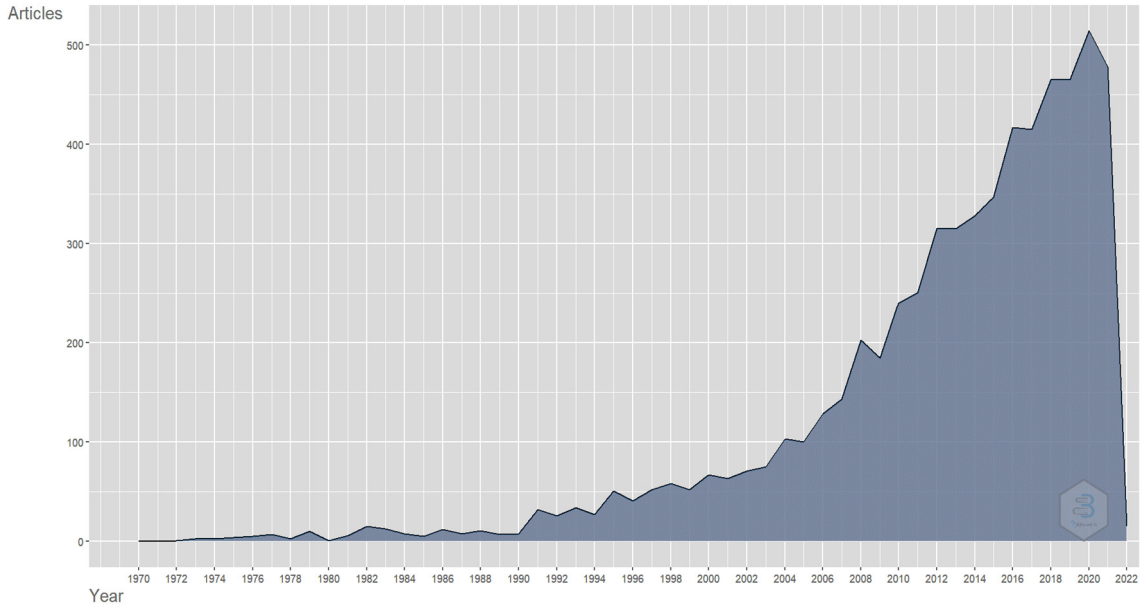
Yıllık ortalama atıflar

Şekil 2’de yıllara göre alıntı sayılarının grafiksel dağılımı verilmiştir. Grafik incelemesine göre

1970 yılında ortalama alıntı sayısının oranlandığında ortalama 10.5 olduğu, bunu takip eden sonraki yıllarda ise ortalama alıntı sayısının 0 seviyelerine kadar düştüğü gözlenmiştir. 2000’li yıllarda çalışma sayısı ile birlikte orantılı bir şekilde artış göstermiştir. Günümüze yaklaştıkça da konuyu içeren makale sayısı hızlı bir şekilde artışa devam etmiş ve bu artış alanın ilgi gördüğüne yorumlanmıştır. 2000 yılında ortalama atıf oranının 2 olduğu ve artarak 2020 yılında ortalama 3.9 olduğu tespit edilmiştir.

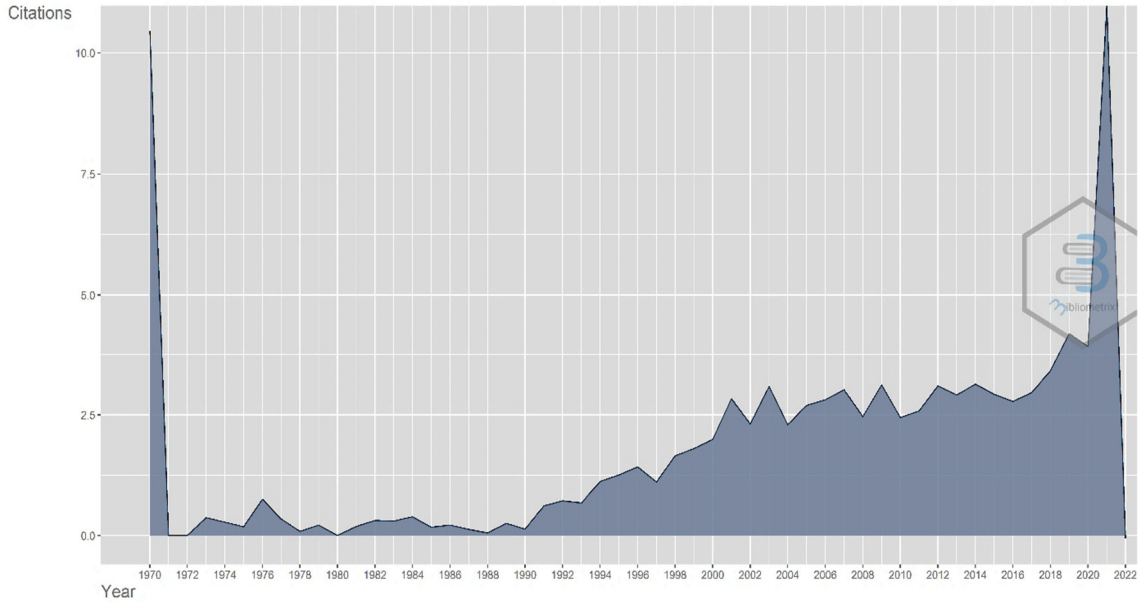
Kaynakların değerlendirilmesi

Şekil 3’te çalışmaların yayınlandığı ilk 20 kaynak listelenmiştir. İlk sırada 248 yayınlı “International Journal of Medicinal Mushrooms” ilk sırada yer almaktadır. İkinci sırada ise 243 yayınlı ile “Food Chemistry” gelmektedir. Kaynaklar içerisinde yaklaşık %33’lük gibi büyük bir pay bu iki dergiye ait olduğu belirlenmiştir. Kaynak dinamiklerine bakıldığında 1981 yılında “Food Chemistry” dergisinde konu ile ilgili yayınların olduğu ve sonrasında da düzenli bir şekilde yayın sayısının arttığı gözlemlenmiştir. “International Journal of Medicinal Mushrooms” de ise kaynak dinamiğine bakıldığında durağan bir grafik oluşmuş ve 2006 yılından sonra çok hızlı bir artış gözlenmiştir.

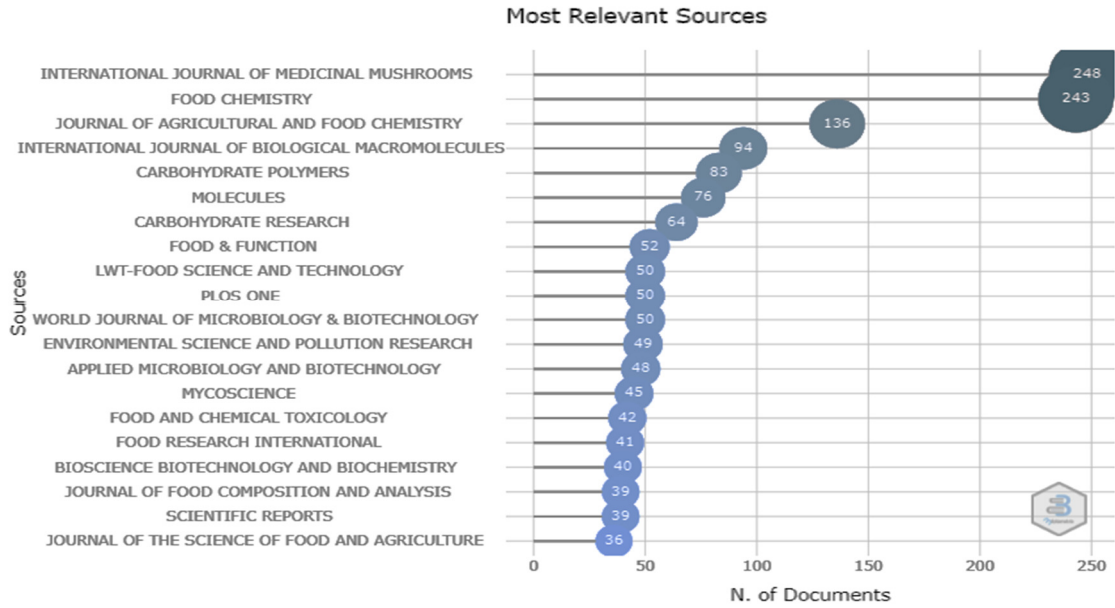


Şekil 1. Yıllara göre çalışmaların dağılımı

Figure 1. Distribution of studies by years



Şekil 2. Yıllara göre ortalama atıfların dağılımı
Figure 2. Distribution of average citations by years



Şekil 3. Kaynakların dağılımı
Figure 3. Distribution of resources

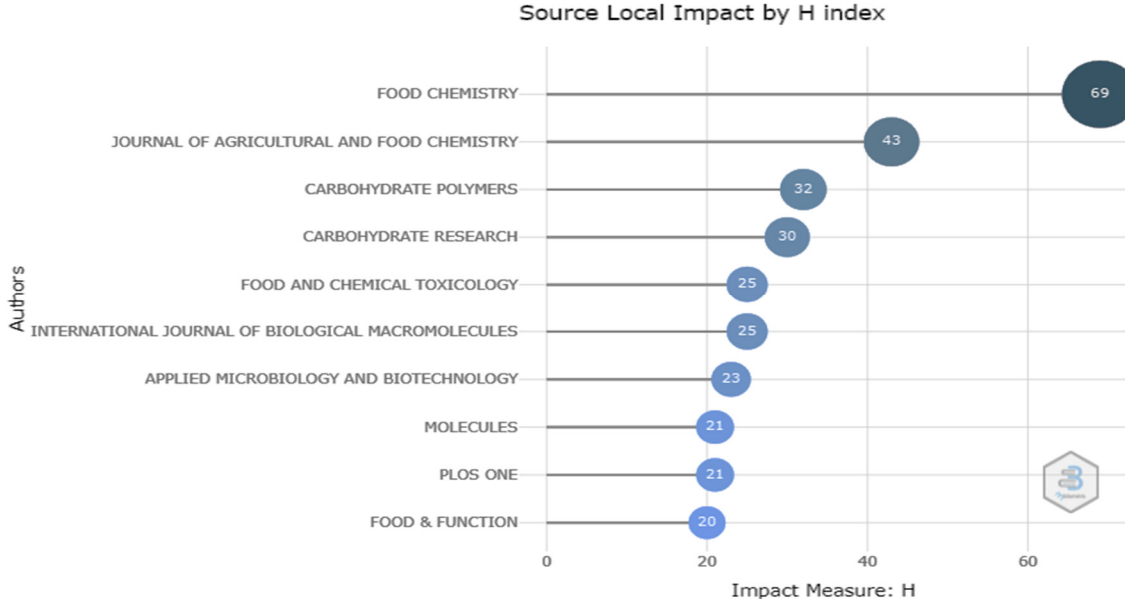
Ayrıca kaynakların yazarların yayın ve alıntı sayılarına göre sıralaması yapılarak Şekil 4'te kaynakların etkisine bakılmıştır. İlk 10 kaynak H-index sıralamasına göre listelenmiş ve ilk sırada 69 H-index oranıyla "Food Chemistry" dergisi yer almaktadır.

Yazarların dinamikleri

Yazarların ilgisine göre yapılan grafik değerlendirmesinde ilk 20 yazar sıralanmış ve Şekil 5'te belirtilmiştir. Yazar ve belge sayısına göre şekillenen grafikte ilk sırada 129 belge ile %2.1 oranla yazar Falandysz J. gelmektedir. İkinci sırada ise 108 belge ile %1.7 oranla yazar NG TB

gelmiştir. Yıllara göre yazarların etkinliklerine bakıldığında yine ilk sırada Falandysz J. gelmektedir. Grafikte belirtilen noktaların çaplarının genişliği üretim sayısının fazlalığını göstermektedir. 2021 yılı 14 çalışma ile en fazla

yayın yapıldığı yıl olmuştur. Yazarların h-index oranlarına bakıldığında Falandysz J. 43 puanla ilk sırada yer almaktadır.



Şekil 4. Kaynakların H-index oranları

Figure 4. H-index ratios of resources

Ülkelerin bilimsel üretimi

Yenilebilir mantarları içeren çalışmaların ülkelere göre dağılımına bakıldığında frekans oranlarına göre Şekil 6'da renksel dinamiklerle verilerin dağılımı gösterilmiştir. Gri renkli alanlarda veriler 0 olarak verilmiştir. Mavinin tonları koyulaştıkça üretim miktarı frekans değeri artmaktadır. 4055 ile ilk sırada Çin gelmektedir. İlk beşte ise Çin'den sonra sırasıyla Japonya (1172), Hindistan (1056), Polonya (732) ve Türkiye (715) gelmektedir. Çin aynı zamanda 26805 ile en çok atıf alan ülke olarak da birinci sırada gelmektedir. Atıf sıralamasında da Çin'den sonra ülke sıralamasıyla eş sıralama Japonya (8470), Hindistan (8184), Polonya (7885) ve Türkiye (6027) gözlenmiştir.

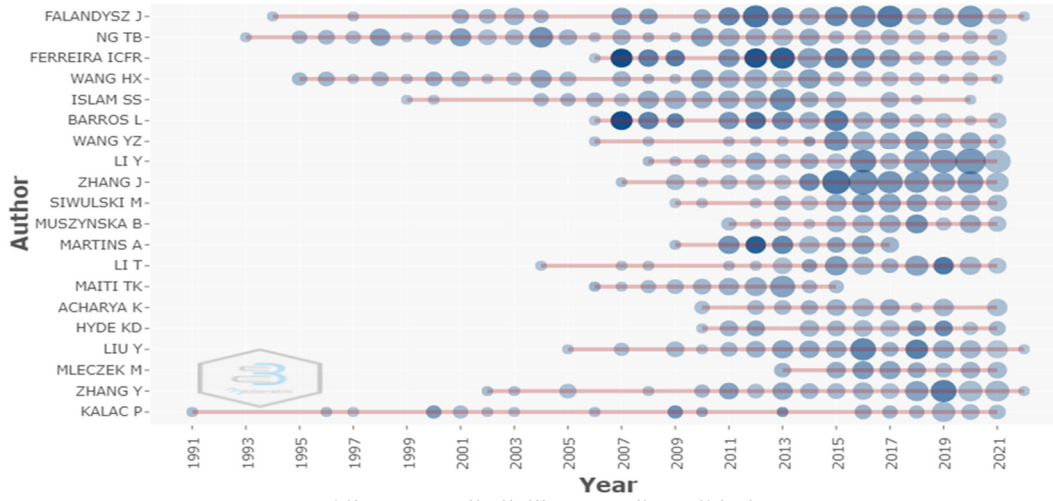
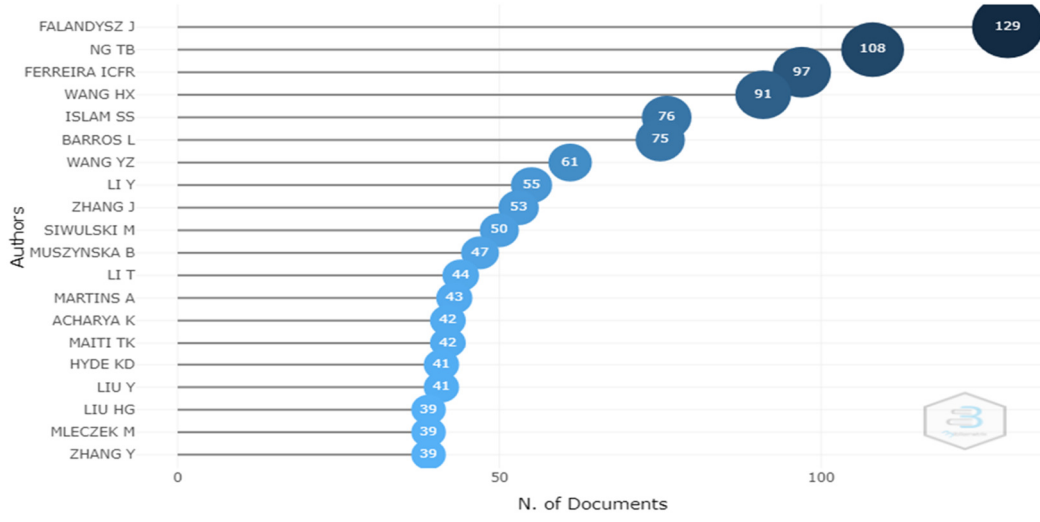
Makale atıfları

“Yenilebilir mantarlar” ile ilgili Web of Science taraması sonucu elde edilen verilere göre yapılan analiz sonucunda en çok atıf alan ilk 10 yayına ait makale bilgisi, yazar bilgisi, dergi bilgisi ve atıf sayıları ile Çizelge 3'de verilmiştir. İlk sırada yer

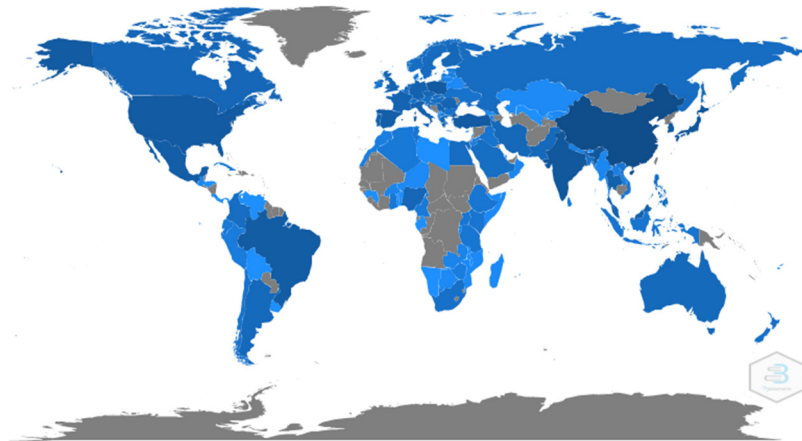
alan makale 655 atıfla 2006 yılında yapılan “Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity” çalışmasıdır.

Anahtar kelimeler ve kümeleme grupları

Yenilebilir mantarlarla ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde 8898 anahtar kelime kullanılmıştır. Bu kelimelere ait ilk sıralarda yer alan kelimeler geometrik modelleme ile Şekil 7' de verilmiştir. Modellemede geometrik şeklin ebatlarının büyüklüğüne göre kullanım oranı yükselmektedir. En çok kullanılan anahtar kelimelerde ilk sıralarda “edible mushrooms ve edible mushroom” toplamda 1490 kez kullanıldığı tespit edilmiştir. En fazla kullanılan bir diğer anahtar kelime grubu ise “fruiting bodies” ise 532 kez kullanılmıştır. Mantar türleri olarak bakıldığında “*Agaricus bisporus*” 326 kez, “*Pleurotus ostreatus*” 266 kez ve “*Ganoderma lucidum*” ise 163 kez anahtar kelime olarak kullanılmıştır.



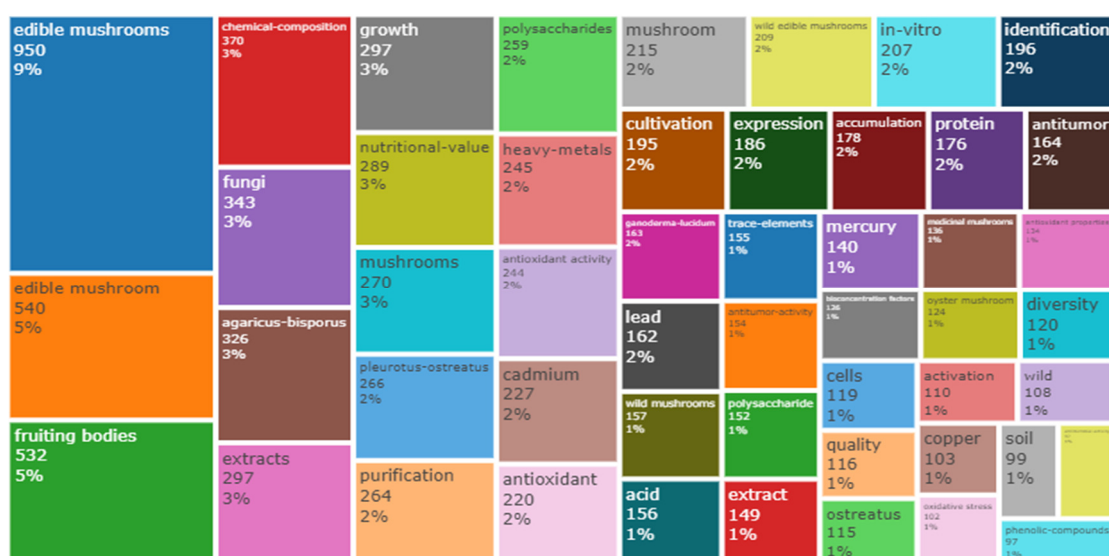
Şekil 5. Konu ile ilgili Yazar dinamikleri
Figure 5. Author dynamics related to the topic



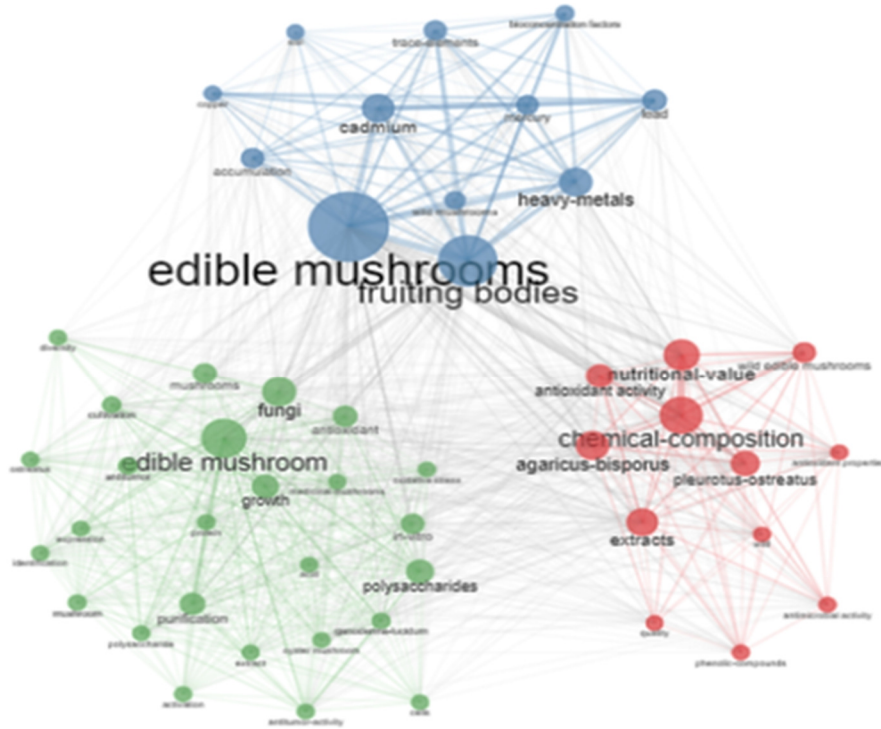
Şekil 6. Ülkelerin bilimsel üretim dağılımı
Figure 6. Scientific production distribution of countries

Çizelge 3. En çok atıf alan ilk 10 makale
 Table 3. Top 10 most cited articles

Yazar	Dergi	Yıl	Yayın	Atıf
Zhang M., et al.	Trends in Food Science and Technology	2006	Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity	655
Cheung L.M., et al.	Food Chemistry	2003	Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts	590
Lindequist U., et al.	Evidence-based Complementary and Alternative Medicine	2005	The Pharmacological Potential of Mushrooms	581
Seo S.Y., et al.	Journal of Agricultural and Food Chemistry.	2003	Mushroom Tyrosinase: Recent Prospects	575
Chihara G.,	Cancer Research	1970	Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from <i>Lentinus edodes</i> (Berk.) Sing.(an edible mushroom)	533
Philip D., et al.	Spectrochimica Acta Part	2009	Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy	490
Muzzarelli R.A.A. et al.	Carbohydrate Polymers	2012	Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial	484
Kalac P.,Svoboda L.	Food Chemistry	2000	A review of trace element concentrations in edible mushrooms	454
Kalac P.,	Food Chemistry	2009	Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review	442
Ferreira I.C.F.R. et al.	Food Chemistry	2007	Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity	423



Şekil 7. Anahtar kelimeler
 Figure 7. Keywords



Şekil 8. Birlikte kullanılan kelimeler
Figure 8. Words used together

Anahtar kelimelerin birlikte kullanılma oranlarının incelenmesi sonucu üç grup kümeleme olduğu gözlenmiş ve Şekil 8’de verilmiştir. Şekildeki dairelerin boyutları kullanılan anahtar kelimenin sayıca miktarını ve renklerde oluşan ana küme gruplarını göstermektedir. Birinci grup kümede (mavi renkli) “edible mushrooms” anahtar kelimesi ile birlikte; “fruiting bodies, heavy metals, cadmium” anahtar kelimelerinin öne çıktığı; ikinci grup kümede (yeşil renkli) “edible mushroom” anahtar kelimesi ile birlikte; “fungi, growth, polysaccharides” anahtar kelimelerinin öne çıktığı ve üçüncü kümede (kırmızı renkli) ise “chemical-composition” merkez anahtar kelimesi ile birlikte; “*Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, nutritional value, antioxidant activity, extract” kelimelerinin öne çıktığı görülmektedir.

Başlıkları oluşturan kelime gruplarının oluşum ağı analizi başlıkta geçen 3 kelimeye göre yapılarak şematik veri oluşturulmuş ve Şekil 9’da verilmiştir. Bu şemaya göre 13 küme olduğu gözlenmiştir. Kümeleri oluşturan merkez kelime gruplarına

bakıldığında mantar türlerinin ön planda olduğu gözlenmiştir. Kümelerde bulunan mantar türlerine bakıldığında en çok geçen türler; *Pleurotus* spp., *Agaricus bisporus*, *Fammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea*, *Grifola frondosa* olduğu gözlenmiştir.

Trend konuların etkinliğine de bakılmış ve Şekil 10’da grafiksel olarak verilmiştir. Grafikte görünen mavi noktaların büyüklüğü kullanım frekansının değerini göstermektedir. Trend konu grafiğinde 50-778 frekansları arasındaki konu başlıkları verilmiştir. Grafikte en büyük çapa sahip olan noktalardaki konular “edible mushroom ve edible mushrooms” gözlenmiş ve yıllara göre de yoğunluğu 2011-2013 yıllarında olmuştur. Grafikte konulara bakıldığında; mantar türleri, medikal mantarlar, doğa mantarları, antioksidant özellikleri, meyve yapısı konuları öne çıkmış olduğu görülmektedir. Ağırlıklı olarak etkinlik 2011-2017 yılları arasında olmuştur.

Ülkeler arası işbirliği ağı

Ülkeler düzeyinde işbirliği ağında dört kümeleme grubu oluştuğu gözlenmiştir. En çok işbirliği içinde olan ülke Çin'dir. Çin-ABD işbirliği ile 100 frekans yoğunluğu ile ilk sırada yer almaktadır. Türkiye'nin işbirliği içinde olduğu ülkeler ise yoğunluk sırasıyla; Pakistan, Suudi Arabistan, İtalya, Sırbistan, İspanya, İran, Kırgızistan, ABD, Avustralya, Çek Cumhuriyeti, Mısır, Almanya, Irak, Kazakistan, Kenya, Malezya, Fas, Portekiz, Rusya, Tayland, Arap Emirlikleri ve Ukrayna'dır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bibliyometrik analiz, bilimsel alanlardaki yapılan çalışmalara yönelik verileri araştırmak ve analiz etmek için özellikle son yıllarda popülerliği artan bir yöntemdir. Araştırılmak istenen belirli bir alanın veya konunun gelişimsel sürecini ortaya koymamızı sağlamaktadır (Donthu vd., 2021). Bibliyometrik çalışmalara bakıldığında daha çok sözel alanlarda daha etkin kullanıldığı fen bilimleri alanlarında çok etkin olmadığı görülmüştür. Mantarcılık alanında bakıldığında; mantarların seçilen bazı elementlerle kontaminasyonu ile ilgili (Świsłowski vd. 2020), istiridyeye mantarıyla ilgili araştırmalar üzerine küresel bilimsel üretimi değerlendirmek için (Guo vd. 2016), nutrasötikler ve fonksiyonel gıdalar konusunda en çok alıntı yapılan 100 makaleyi (Yeung vd. 2018), *Ganoderma*'nın kanser immünoterapisinde kullanımı ile ilgili (Cao vd. 2018) mantar zehirlenmeleriyle ilgili (Yağan vd. 2020), *Ganoderma lucidum* türüyle ilgili (Xu ve Yu 2021) bibliyometrik analizleri içeren çok az sayıda çalışma yapıldığı gözlenmiştir. Bu çalışma ile bu alanlarda da bibliyometrik çalışmaların etkinliği artırılabilirliği düşünülmektedir.

Bu amaçla besinsel içeriği yüksek olan ve birçok açıdan tüketimde değerlendirilen yenilebilir mantar içerikli bilimsel çalışmaların bibliyometrik bulguları ortaya çıkarılmıştır. Bu doğrultuda "yenilebilir mantar" içerikli çalışmaların; dokümanların türleri, yıllara göre dağılımı, ülkelere göre dağılımı, yazarlar ve yazarların etkinlikleri, dergi dinamikleri, atıf sayıları, anahtar kelimeler ve ülkelerin etkinlikleri bibliyometrik analiz ile elde edilmiş ve çizelgeler, grafikler ile sunulmuştur. Bu bibliyometrik çalışmada, Web of Science veri

tabanında yenilebilir mantar içerikli 1970-2021 yılları arasında tarama yapılarak 6250 veri elde edilmiştir. Bu 6250 veride 5338 ile makale kategorisi büyük oranla ilk sırada yer almaktadır. Yıllara göre bilimsel üretimde ise büyük payı 2016 ile 2021 yılları arasında yapılan çalışmaların kapsadığı gözlenmiştir. Atıf sayılarının da yıllara göre dağılımına bakıldığında çalışmaların tarihlendiği 1970 yılında en yüksek pik oluştuğu ve daha sonraki süreçlerde hızlı bir düşüşle inişli-çıkışlı dalgalanma ve son yıllarda yükselen bir grafiksel pik oluşumu gözlenmiştir. Ülkelere göre çalışma oranlarına ve atıf sayılarına bakıldığında birinci sırada Çin yer aldığı gözlenmiştir. Türkiye ise her ikisinde de beşinci sırada yer almıştır. Ayrıca ülkeler arasında en çok işbirliği içinde olan ülke olarak da Çin ilk sırada yer almıştır. En çok atıf alan makale ise 655 atıfla Zhang vd. 2006 yılında yaptıkları "Trends in Food Science and Technology" dergisinde yayınlanan çalışma olduğu gözlenmiştir. Anahtar kelimeler olarak çalışmalar incelendiğinde ise 8898 anahtar kelime tespit edilmiş ve 1490 kez kullanılan "edible mushrooms ve edible mushroom" olmuştur. Aynı zamanda mantar türleri olarak da *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* mantarlarında sıralamada önlere yer almıştır. Ayrıca Wos veri tabanının kategorize ettiği indekslerin analiz sonucuna göre %92.257 oranı ile birinci sırada SCI-EXPANDED indeks yer almıştır. Elde edilen tüm analiz bulgularına bakıldığında ilk çalışmanın 1970 yılında gerçekleşmiş ve günümüze kadar inişli-çıkışlı bir grafik oluştuğu ve artışların da son beş yılda daha etkin olduğu gözlenmiştir.

Çalışma sonuçları doğrultusunda yenilebilir mantarlarla ilgili çalışmalarda daha çok mantarların besinsel içerikli ve tıbbi içerikli çalışmaların daha ön planda olduğu ve en çok tüketilen belli başlı birkaç mantar türünün öne çıktığı görülmüştür. Yenilebilir mantar konusunda araştırmacıların hangi alanlarda çalışma yapılabileceği hususunda bibliyometrik çalışmadan fikir elde edebilecek ve bu çerçevede çalışmalarını şekillendirip tasarlayabilecektir. Bu anlamda yenilebilir mantar türlerinin çeşitliliğinin fazla olması açısından diğer mantar türleriyle ilgili çalışmaların artırılması, ülkeler düzeyinde mantar

türleriyle ilgili çalışmaların daha ön plana çıkması ve besinsel değerinin ayrıca tıbbi içerikleriyle ilgili farklı mantar türlerinin de daha çok vurgulanıp araştırılacağı çalışmaların artırılması hususunda destekleyici ön bilgi sunan bir çalışma olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda daha çok sosyal alanlarda uygulanmış bibliyometrik analiz çalışmalarının diğer alanlara da kullanılabilmesi ve yapılacak çalışmaları destekleyici ön istatistiki bilgi sunması açısından katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

KAYNAKLAR

Al U., Tonta Y. (2004). Citation Analysis: Referenced Sources in Hacettepe University Librarianship Department Theses' Information World, 5(1): 19-47.

Al U., Coştur R. (2007). Bibliometric Profile of the 'Turkish Journal of Psychology' Turkish Librarianship, 21(2): 142-163.

Beelman R. B., Royse D., 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).

Birinci H. G. (2008). 'Turkish Journal of Chemistry' nin bibliyometrik analizi. *Information World*, 9(2): 348-369.

Cao Y., Xu X., Liu S., Huang L., Gu J. (2018). Ganoderma: A Cancer Immunotherapy Review. *Front Pharmacology*, 9: 1217.

Chang S. T., Miles P. G. (2008). Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact, CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 2nd edition.

Chang S. T. (1999). World production of edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. in China.

International Journal of Medicinal Mushrooms, 1: 291-300.

Cole F. J., Eales N. B. (1917). The history of comparative anatomy. Part I: A statistical analysis of the literature. *Science Progress*, 578-596.

Critchfield T. S. (2002). Evaluating the Function of Applied Behavior Analysis: A Bibliometric Analysis. *Journal of Applied Behavior Analysis*, 35(4): 423-426.

Donohue J. C. (1972). A Bibliometric Analysis of Certain Information Science Literature. *Journal of the American Society for Information Science*, 23(5): 313-317.

Donthu N., Kumar S., Mukherjee D., Pandey N., Lim W. M. (2021). How to conduct a bibliometric analysis: An overview and guidelines. *Journal of Business Research*, 133: 285-296.

Ergonul P. G., Akata I., Kalyoncu F., Ergonul B. (2013). Fatty acid compositions of six wild edible mushroom species. *The Scientific World Journal*, 2013:163964, 4.

Erturgut R., Gürler H. E. (2020). Last decade of reverse logistics theory and applications: a bibliometric analysis. *International Journal of Economic and Administrative Studies*, 28: 25-46.

FAOSTAT United Nations, Food and Agriculture Organization 2022. <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>

Fu H. Z., Ho Y. S., Sui Y. M., Li Z. S. (2010). A Bibliometric Analysis of Solid Waste Research During the Period 1993–2008. *Waste Management*, 30(12): 2410-2417.

Gao H., Huang F. Y., Wang Z. P. (2018). Research Trends of Macrophage Polarization: A Bibliometric Analysis. *Chinese Medical Journal*, 131(24): 2968-2975.

Gross P. L. K., Gross E. M. (1927). College libraries and chemical education. *Science*, 66(1713), 385-389. <http://science.sciencemag.org/content/66/1713/385>.

Guillamon E., Garacia-lafuente A., Lozano M. (2010). Edible mushroom: role in the prevention of cardiovascular diseases. *Fitoterapia*, 81(7): 715-723.

- Guo L., Xu F., Feng Z., Zhang G. (2016). A bibliometric analysis of oyster research from 1991 to 2014. *Aquaculture International*, 24: 327-344.
- Hancıoğlu Y., Tekin E. (2017). Bibliometric profile of researches published in national business congress and national management and organization congress: an examination on strategic management literature. *International Journal of Economic and Administrative Studies*, 87-100.
- Hawksworth D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, 105(12): 1422-1432.
- Hung P. V., Nhi N. N. Y. (2012). Nutritional composition and antioxidant capacity of several edible mushrooms grown in the Southern Vietnam. *International Journal of Food Science and Technology*, 19: 611-615.
- Kaminer N., Braunstein Y. M. (1998). Bibliometric Analysis of the Impact of Internet Use on Scholarly Productivity. *Journal of the American Society for Information Science*, 49(8): 720-730.
- Law R., Cheung P. (2008). An analysis of publications in Leading Tourism Journals and its implications. *Journal of China Tourism Research*, 4(1): 78-97.
- Levine L. O. (1986). Prolific Inventors A Bibliometric Analysis. *Scientometrics*, 10(1-2): 35-42.
- Martínez M. A., Cobo M. J., Herrera M., Herrera-Viedma E. (2015). Analyzing the Scientific Evolution of Social Work Using Science Mapping. *Research on Social Work Practice*, 25(2): 257-277.
- Morais M. H., Ramos A. C., Matos N., Santos-Oliveira E. J. (2000). Production of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) on ligninocellulosic residues: note. *Food Science and Technology International*, 6:123-128.
- Özbayram K., Savaşkan Ç. (1983). Edible mushroom production. T.R. Ministry of Rural Affairs and Cooperatives General Directorate of Soil and Water Central Soil and Water Research Institute Publications General Publication. *Farmer Publication* 91(8): 28.
- Park G., Kwnag H. O. (2001). Nutritional Value of a Variety of Mushrooms.
- Pekşen A. (2013). The place of mushrooms in human life and health. *Garden News*, 2(1): 10-15.
- Polat Z. A., Alkan M. (2015). Bibliometric analysis of the Journal of Geodesy, Geoinformation and Land Management. Paper presented at the 15th Turkish Geographical Scientific and Technical Congress, TMMOB Chamber of Surveying and Cadastre Engineers. 25-28 March, 2015, Ankara.
- Sánchez C. (2004). Modern aspects of mushrooms culture technology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64:756-762.
- Selvi S., Devi P. U., Suja S., 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.
- Smith G. M. (1977). Key Books in Business and Management Studies: A Bibliometric Analysis. *Aslib Proceedings*, 29(5): 174-188.
- Sun J., Yuan B. Z. (2020). Mapping of the world rice research: A bibliometric analysis of top papers during 2008–2018. *Annals of Library and Information Studies*, 67 (1): 56-66.
- Świsłowski P., Dolhańczuk-Śródka A., Rajfur M. (2020). Bibliometric analysis of European publications between 2001 and 2016 on concentrations of selected elements in mushrooms. *Environmental Science and Pollution Research*, 27:22235-22250.
- Şakar G. D., Cerit A. G. (2013). Turkish marketing literature in international citation indexes: Bibliometric analyses and a qualitative study. *Ataturk University Journal of Economics and Administrative Sciences*, 27(4): 37-62.
- Ulu S., Akdağ M. (2015). Bibliometric profile of the articles with peer refereeing published in journals: *Selçuk communication sample*, 9(1): 5-21.
- Velasco-Muñoz J. F., Aznar-Sanchez J. A., Belmonte-Ureña L. J., Lopez-Serrano M. J. (2018). Advances in water use efficiency in

- agriculture: a bibliometric analysis. *Water*, 10(4): 377.
- Wasser S. P. (2010). Medicinal mushroom science: history, current status, future trends, and unsolved problems. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 12(1):1-16.
- Xu Y., Yu J. (2021). The Trend of *Ganoderma lucidum* Research (1936–2019). *The Lingzhi Mushroom Genome*, 27-45.
- Yağan Ö., Şenel E., Kayır S. (2020). Mushroom toxicity in academic literature: Holistic analysis of the global publications on mushroom poisoning between 1975 and 2019. *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan*, 6(60):48-52.
- Yalçın H. (2010). Bibliometric Profile of Journal of National Folklore (2007-2009). *National folklore*, 85: 205-211.
- Yeung A. W. K., Mocan A., Atanasov A. G. (2018). Let food be thy medicine and medicine be thy food: A bibliometric analysis of the most cited papers focusing on nutraceuticals and functional foods. *Food Chemistry*, 269, 455-465.
- Yu H., Wei Y. M., Tang B. J., Mi Z., Pan S. Y. (2016). Assessment on the Research Trend of Low-Carbon Energy Technology Investment: A Bibliometric Analysis. *Applied Energy*, 184: 960-970.
- Zhang M., Gao M., Yue S., Zheng T., Gao Z., Ma X., Wang Q. (2018). Global trends and future prospects of food waste research: a bibliometric analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 24600–24610. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2598-6>.
- Zhu S., Jin W., He C. (2019). On Evolutionary Economic Geography: A Literature Review Using Bibliometric Analysis. *European Planning Studies*, 27(4): 639-660.
- Zyoud S. H., Al-Jabi S. W., Sweileh W. M., Awang R. (2014). A Bibliometric Analysis of Research Productivity of Malaysian Publications in Leading Toxicology Journals During A 10-Year Period (2003–2012). *Human and Experimental Toxicology*, 33(12): 1284-1.

INVESTIGATING THE EFFECTS OF SALT, PHOSPHATE AND PH ON FUNCTIONAL PROPERTIES OF BEEF MYOFIBRILLAR PROTEINS

Armin Bjelak¹, Yusuf Sürmeli¹, Banu Sezer²,
Hasan Murat Veliöğlü^{*1}, İsmail Hakkı Boyacı²

¹Department of Agricultural Biotechnology, Tekirdağ Namık Kemal University, Tekirdağ, Türkiye

² Department of Food Engineering, Hacettepe University, Ankara, Türkiye

Received / Geliş: 09.08.2022; Accepted / Kabul: 21.09.2022; Published online / Online baskı: 03.10.2022

Bjelak, A., Sürmeli, Y., Sezer, B., Veliöğlü, H.M., Boyacı, İ.H. (2022). Investigating the effects of salt, phosphate and pH on functional properties of beef myofibrillar proteins. GIDA 47 (5) 846-859 doi: 10.15237/gida.GD22078

Bjelak, A., Sürmeli, Y., Sezer, B., Veliöğlü, H.M., Boyacı, İ.H. (2022). Dana eti miyofibriller proteinlerinin fonksiyonel özellikleri üzerine tuz, fosfat ve pH'nın etkilerinin araştırılması. GIDA 47 (5) 846-859 doi: 10.15237/gida.GD22078

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effect of salt and phosphate on the functional properties of myofibrillar proteins (MPs) at pH 2, 4, 6, 8, and 10. The highest emulsion activity index (EAI) value (8.51 m²/g protein) was obtained with the use of NaCl, and phosphate at pH 10. The highest emulsion stability index (ESI) result was determined (230.8 minutes) with the use of salt at pH 8. The addition of salt and phosphate significantly (p<0.05) improved the emulsifying properties of proteins. Considering the water absorption capacity (WAC), the highest value was obtained as 1.9 mL water/g protein at pH 6 and pH 8. The highest fat absorption capacity (FAC) value of 8.3 mL fat/g protein was found with the addition of phosphate at pH 6. The highest foam capacity (FC) and foam stability (FS) were obtained at pH 10 and 4, respectively.

Keywords: Myofibrillar proteins, functional properties, emulsion, foam

DANA ETİ MİYOFİBRİLER PROTEİNLERİNİN FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE TUZ, FOSFAT ve PH'NIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZ

Bu çalışmada, tuzun ve fosfatın miyofibriller proteinlerin fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisinin pH 2, 4, 6, 8, 10 değerlerinde araştırılması amaçlanmıştır. Emülsiyon aktivite indeksi (EAI), emülsiyon stabilite indeksi (ESI), köpük kapasitesi (FC), köpük stabilitesi (FS), su absorpsiyon kapasitesi (WAC) ve yağ tutma kapasitesi (FAC) incelenmiştir. pH 10'da tuz ve fosfat kullanımıyla, en yüksek EAI değeri (8,51 m²/g protein) elde edilmiştir. pH 8'de, tuz kullanımıyla en yüksek ESI sonucu (230,8 dakika) belirlenmiş; tuz ve fosfat ilavesinin, proteinlerin emülsifiye edici özelliklerini önemli ölçüde iyileştirdiği (p<0.05) tespit edilmiştir. Fosfat ilavesiyle, pH 6 ve pH 8'de en yüksek WAC değeri (1,9

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: mvelioglu@nku.edu.tr

☎: (+90) 282 250 2299

☎: (+90) 282 250 9929

Armin Bjelak ORCID ID: 0000-0003-0869-3393

Yusuf Sürmeli ORCID ID: 0000-0002-9645-6314

Banu Sezer ORCID ID: 0000-0002-0743-3453

Hasan Murat Veliöğlü ORCID ID: 0000-0002-8275-6965

İsmail Hakkı Boyacı ORCID ID: 0000-0003-1333-060X

mL su/g protein) elde edilmiştir. En yüksek FAC değeri (8.3 mL yağ/g protein) pH 6'da fosfat ilavesiyle elde edilmiştir. Köpürme özelliklerine bakıldığında, en yüksek FC değeri pH 10'da (%90) elde edilmiştir. Fosfat ve tuz kombinasyonunda, pH 4'te, en yüksek FS sonucu %100 olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Miyofibriler proteinler, fonksiyonel özellikler, emülsiyon, köpük

INTRODUCTION

Meat, which has high-quality proteins and is an ideal protein source, possesses a fundamental role as an essential food product for human consumption. Meat protein encompasses a great deal of essential amino acid residues and has a high digestibility (Pereira and Vicente, 2013). Although approximately 40% of the total protein consumption of humans is explained by animal protein sources, it is estimated that there will be a significant increase until 2050. The total meat consumption was predicted to increase as much as 102% between 2000 and 2050 (FAO, 2006).

The functional properties of proteins play a major role in the increase in the need for meat protein. In particular, the need for meat proteins is increasing in order to reduce the cost of meat products, improve the quality of existing products and produce different products (Jayasooriya et al., 2004). Myofibrillar proteins (MPs) such as myosin and actin have a significant role in terms of functional properties in meat. They are the biggest portion of proteins from muscle tissue and are partly soluble relative to stroma and sarcoplasmic proteins (Ramírez-Suárez and Xiong, 2003). Also, among muscle proteins, MPs are responsible for 97% of the water holding capacity and 75% of the emulsifying capacity of meat (Chang et al., 2012; Forrest et al., 2001; Zhang and Barbut, 2005). Thus, MPs have a significant influence on meat quality (Smith, 1988).

Functional characteristics of meat proteins include all physicochemical features that influence the behaviour of the proteins during meat products production process (Colmenero and Borderias, 1983). These properties, which also include solubility, viscosity, and gelation are needed to guarantee satisfying shape, texture, mouthfeel, and good cutting properties (Kinsella and Phillips, 1989). These characteristics are influenced by intrinsic factors such as molecular structure and composition, and extrinsic factors

including temperature, pH, and non-meat ingredients (e.g. phosphate and salt) (Damodaran, 1996; Santhi et al., 2017).

There have been some studies about the factors affecting the functional characteristics of MPs from different sources. Accordingly, Hong et al. (2014) showed that the pH-shifting process and microbial transglutaminase together resulted in the highest gel strength of porcine MPs whereas the use of microbial transglutaminase could improve their emulsion stability (Hong et al., 2014). Also, the long-term exposure of dielectric barrier discharge plasma to MPs from the longissimus dorsi muscle significantly improved their water-holding capacity (Sharifian et al., 2019). In addition, the water holding capacity and gel strength of beef MPs were improved by increasing pH, which was enhanced by ultrasound duration and power (Amiri et al., 2018). Omana et al. (2010) showed that foam characteristics of MPs from chicken thigh meat are substantially enhanced using alkaline pH extraction (Omana et al., 2010). However, there has been no study to determine the combined effects of pH, salt, and phosphate on isolated MPs from beef *in vitro* so far. In this study, MPs were isolated from beef and were used for the investigation of the effects of salt and phosphate at various pH on their functional characteristics including water absorption capacity, fat absorption capacity, emulsifying properties, and foaming properties.

MATERIALS AND METHODS

Materials

In this study, minced beef meat from beef brisket was obtained from a local business in Tekirdağ, stored at -20°C, and then used as a source of MPs. Different amounts of salt and phosphate were used to investigate the functional properties of MPs.

Methods

Protein isolation

Proteins were isolated as previously described method by Malva et al. (2018) with some modifications. Briefly, 150 mL of ice-cold dH₂O and 10 g of ground beef were transferred to the blender, homogenized for 1 min, and transferred into 15 mL tubes. Then, they were centrifuged at 2500 rpm for 10 min. The pellets were transferred into the blender, using ice-cold 150 mL of 0.6 M KCl. After homogenization for 1 min, the mixture was transferred into 15 mL tubes and centrifuged at 2500 rpm for 10 min. Then, the supernatants were collected and passed through 0.45 µm filters (Millex filter). Soluble extract including MPs was dried at 30°C. Then, the dried powders were washed three times, each of which was followed by centrifugation. The powder form of purified proteins was obtained upon incubation at 30°C for 2 h. 10% SDS-PAGE gel electrophoresis was also performed to qualitatively evaluate the proteins after isolation (Laemmli, 1970).

Optimization of quantities of sodium chloride and phosphate

Optimization of quantities of sodium chloride and phosphate was performed using a range of 0.01-0.05 g of sodium chloride and 0.004-0.012 g of phosphate for 0.1 g of MPs in the concept of experimental research design. These ranges of sodium chloride and phosphate quantities were determined based on the calculations of their quantities used in the production of meat products. In these calculations, some assumptions were used. The assumptions used in this study are given as follows: Practically, in sausage production, 60 kg lean meat is used for 100 kg sausage dough. Since beef meat contains 20% protein, the amount of meat protein in this recipe is 12 kg. Approximately 50% of meat proteins are myofibrillar proteins and the amount of them in the recipe is about 6 kg. In 100 kg sausage production, 2 kg NaCl and 0.5 kg phosphate are used as additives. It can be assumed that this amount of additives interact with 6 kg MPs. For convenience in experimental studies, the average amount of additives used for each 0.1 g of MP was calculated. The results showed that 0.03 g of NaCl and 0.008 g of phosphate are used for each

0.1 g of MP. These values were accepted as average values and the range of sodium chloride (0.01-0.05 g) and phosphate (0.004-0.012 g) was used for the optimization of their quantities based on the functional properties of the proteins. Five different levels were used for NaCl (0.01, 0.02, 0.03, 0.04 and 0.05 g) and phosphate (0.004, 0.006, 0.008, 0.010 and 0.012 g) in preliminary experiments and only the best combination was used in further studies.

The investigation of the influence of salt, phosphate, and pH on the functional properties of MPs

Water absorption capacity (WAC) and fat absorption capacity (FAC)

The analyses of WAC and FAC were performed as the previously described method by Segura-Campos et al. (2013) and Lili et al. (2015) with some modifications. For this purpose, 0.1 g (W) sample and 5 mL of distilled water for WAC or corn oil for FAC were weighed and transferred into 15 mL centrifuge tubes. They were adjusted to pH 2, 4, 6, 8, and 10, using 0.1 M HCl or 0.1 M NaOH, and vortexed at room temperature for 1 min. These mixtures were incubated at 30°C for 30 min. The initial volume of the mixtures was recorded as V1. The tubes were centrifuged at 2500 RPM for 20 min and the supernatant volumes were recorded as V2. Equation 1 was used for the calculation of WAC and FAC. The results were given as sample g per mL water and as sample g per mL fat.

$$WAC/FAC = \frac{V1-V2}{W} \quad (1)$$

Emulsifying properties

The emulsion activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) of the samples were determined as the previously described method by Kudre et al. (2018) with some modification. Corn oil (4 mL) and 1% myofibrillar protein solution (10 mL) were homogenized with a homogenizer (T25 Ultra-Turrax, IKA-Werke GmbH, Staufen, Germany) for 2 minutes. 1 mL emulsion was diluted by 99 mL of 0.1% SDS. The samples were adjusted to pH 2, 4, 6, 8, and 10. The mixtures were vortexed for 20 s and then the initial absorption (A0) of the mixtures and absorption of mixtures at minute 10 (A10) were

measured at 500 nm by spectrophotometer (Optizen POP UVVis, Mecasys Co. Ltd., Daejeon, Kore). Those values were used for the calculation of EAI and ESI:

$$EAI \left(\frac{m^2}{g} \right) = \frac{(2 \times 2,303 \times A \times DF)}{(l \times \Phi \times C)} \quad (2)$$

$$ESI \text{ (min)} = \frac{A_0}{(A_0 - A_{10})} \times \Delta t \quad (3)$$

where DF is the dilution factor of the emulsion (100), l is the length of the spectrophotometer cuvette (m), Φ is a fraction of oil volume, and C is the protein concentration in the aqueous phase (g/m^3) and Δt is 10 minutes.

Foaming properties

Foaming capacity (FC) and foaming stability (FS) were determined as the previously described method by Segura-Campos et al. (2013) and Kudre et al. (2018) with some modifications. 20 mL solution containing 1% sample and distilled water was mixed at 10000 rpm for 2 minutes by the homogenizer. The pH value of the solutions was adjusted to pH 2, 4, 6, 8, and 10 and the analysis was performed for every pH value. FC was calculated using foaming volume in 30 s. FS values were calculated using foaming volumes at

30 min. Equations 4 and 5 were used for calculation:

$$FC \text{ (\%)} = \frac{V_f}{V_0} \times 100 \quad (4)$$

$$FS \text{ (\%)} = \frac{V_t}{V_0} \times 100 \quad (5)$$

Statistical analysis

All analyses were performed in duplicate, and the mean values were presented. Analysis of variance (One-way-ANOVA) was applied to determine whether there was a significant difference among the means. The significance of the differences among the means was tested at the $p < 0.05$ level. Significant sources of variation were subjected to the Duncan test, which is a multiple comparison test. Statistical analyses were performed using SPSS 22.0 (SPSS Inc., IL, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Isolation of MPs

Proteins were isolated from minced beef meat and qualitatively checked by 10% SDS-PAGE gel electrophoresis analysis. The results confirmed that soluble extract and the powder form of the final product including MPs with several protein bands distributed in a range of 25-250 kDa (Figure 1).

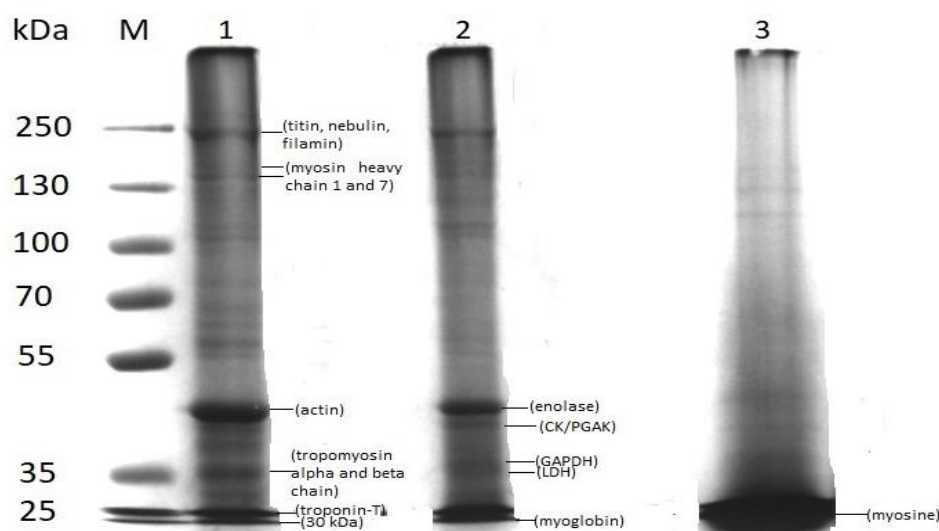


Figure 1. SDS-PAGE display of the purified MPs (1), sarcoplasmic (2) and myosine (3) proteins. M indicates protein marker bands. Abbreviations are shown in brackets; (PGAK: phosphoglycerate kinase, CK: creatine kinase, GAPDH: glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, LDH: lactate dehydrogenase).

Influence of salt, phosphate, and pH on WAC and FAC of MPs

Water Absorption Capacity (WAC) Results

WAC is explained as the capability of fresh meat to hold its water (Pearce et al., 2011). Poor WAC may influence the processed meat yield and quality (Savage et al., 1990). It is considered that water is held by about 85% through largely actin and myosin filaments of MPs in meat (Huff-Lonergan and Lonergan, 2005; Zeng et al., 2017). In this study, the WAC of beef MPs was determined using different quantities of sodium chloride and/or phosphate. The highest WAC value was determined in 0.1 g MP-0.04 g sodium chloride-0.004 g phosphate combination (data not shown). WAC of 0.1 g MP was then analyzed by the addition of 0.04 g sodium chloride and/or 0.004 g phosphate at different pH points (pH 2, 4, 6, 8, and 10), as well as the control sample using water. WAC analysis results showed that MPs with the addition of phosphate and/or salt generally had a higher WAC value than the control sample (0.8 g mL water/g protein) (Figure 2). Many studies have reported that salt and phosphate increase water absorption of meat

products by adjusting their ionic strength (Choi et al., 2014; Cheng and Sun, 2008; Xiong et al., 2000; Whiting, 1984; Puolanne et al., 2001) and it has been shown that ionic strength influences the swelling degree of the MPs (Wilding et al., 1986). Besides, WAC analysis results revealed that the addition of phosphate or phosphate-salt caused the highest WAC value at relatively higher pH points (pH 6 - 10) compared to other tested pH points, and also gradually increased the WAC value of MPs towards alkaline pH conditions. It is clear that phosphate resulted in high WAC at basic pH conditions (Figure 2). Phosphate has a basic character and its addition to meat results in an increase in pH, which causes improvement in water absorption of beef and porcine muscle MPs as shown in some reports (Amiri et al., 2018; Bertram et al., 2004). Also, phosphate forms some complexes with magnesium- and calcium-bound protein, causing the improved solubilization of actin and myosin of MPs (Fernández-Martín et al., 2002). Thus, it was suggested that phosphate may improve the solubility of MPs, and cause an increase in pH, resulting in an increase in WAC.

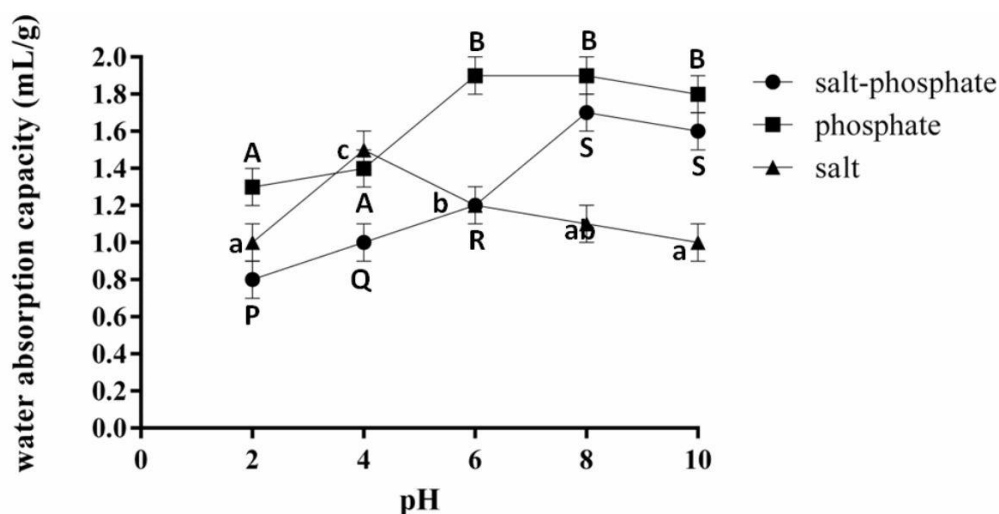


Figure 2. Water absorption capacity of combinations of 0.04 g NaCl-0.1 g protein, 0.004 g phosphate-0.1 g protein, and 0.04 g NaCl-0.004 g phosphate-0.1 g protein at different pH points.

a, b, c, d, e: Mean values corresponding to the usage of salt with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$).

A, B, C, D, E: Mean values corresponding to the usage of phosphate with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$).

P, Q, R, S: Mean values corresponding to the combined usage of salt and phosphate with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$).

Fat Absorption Capacity (FAC) Results

FAC is defined as the holding ability of fat by non-polar amino acid residues in proteins (Yongsawatdigul and Hemung, 2010). FAC is important for improving the flavor of comminuted meats (De Kanterewicz et al., 1987). In this study, the FAC of MPs was evaluated using different quantities of sodium chloride and/or phosphate. FAC analysis results indicated that the highest FAC value was obtained for 0.1 g MP combined with 0.04 g sodium chloride and 0.004 g phosphate, as in the WAC analysis result (data not shown). The FAC value of the control sample was determined as 5.4 mL fat/g protein.

FAC of 0.1 g MP was then investigated at different pH points (pH 2, 4, 6, 8, and 10) in the

presence of 0.04 g sodium chloride and 0.004 g phosphate. A higher FAC value than the control sample was obtained at each experimental point except two (0.1 g MP-0.04 g sodium chloride at pH 2 and 4) (Figure 3). It has been reported that there is an association between the function and the structure of meat proteins and emphasized the significance of solubility, hydrophobicity, and SH-group content of salt-soluble meat proteins, regarding fat binding and emulsifying properties (Li-Chan et al., 1985). A positive correlation was also reported between surface hydrophobicity and the fat absorption capacity of rockfish protein by Voutsinas et al. (1983). This study suggested that salt and/or phosphate may have increased the surface hydrophobicity of MPs.

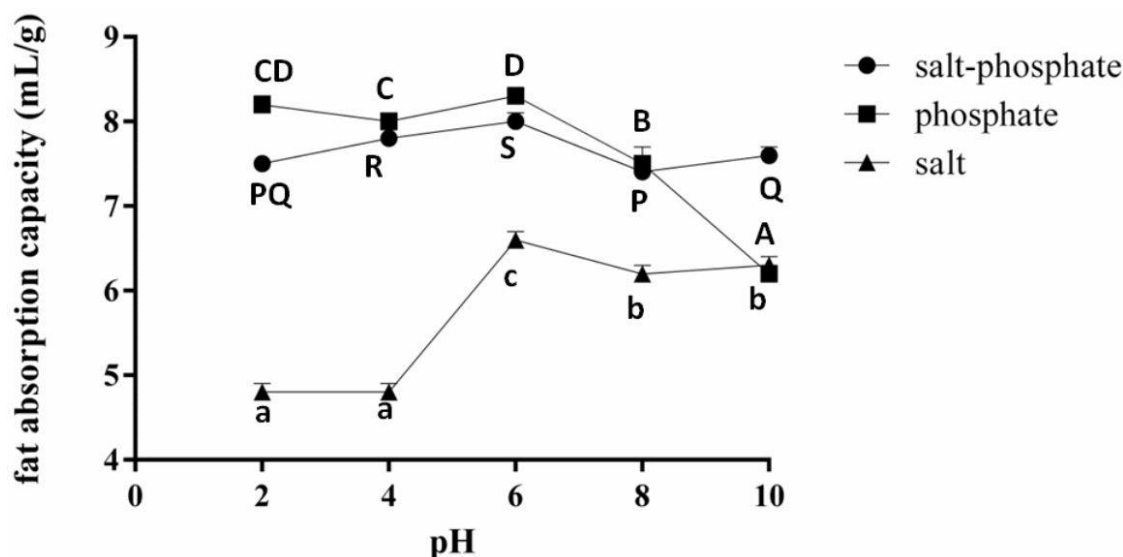


Figure 3. The fat absorption capacity of combinations of 0.04 g NaCl-0.1 g protein, 0.004 g phosphate-0.1 g protein, and 0.04 g NaCl-0.004 g phosphate -0.1 g protein at different pH points.

a, b, c, d, e: Mean values corresponding to the usage of salt with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$).

A, B, C, D, E: Mean values corresponding to the usage of phosphate with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$).

P, Q, R, S: Mean values corresponding to the combined usage of salt and phosphate with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$).

The use of MPs is suitable for food products needed for fat retention (Chen et al., 2017). Accordingly, Elizalde et al. (1988) have investigated the FAC value of different proteins including MPs. They have shown that the FAC of MPs has the highest value among other protein

sources (WPC, BSA, BPI, SC, and SPI) as 5.25 mL fat/g protein (Elizalde et al., 1988). The FAC value of the control sample (5.4 mL fat/g protein) is compatible with the results of the study by Elizalde et al. (1988). Also, water-soluble MPs have higher fat absorption, relative to SPI and

WPI. It is ascribed that MPs may physically and structurally have bigger porosity which favors more fat entrapment and higher hydrophobic properties (Chen et al., 2017).

Emulsifying properties of MPs

Salt-soluble proteins including largely MPs are the major promoters of the emulsifying properties in comminuted meat (Hamm, 1986; Xiong, 1997). Emulsifying properties, *i.e.*, EAI and ESI, were investigated for MPs used together with different amounts of sodium chloride and/or phosphate. The highest EAI and ESI values were obtained by the addition of 0.05 g sodium chloride and 0.008 g phosphate on 0.1 g MPs (data not shown). EAI and ESI values were then investigated for 0.1 g MPs by supplementation of 0.05 g sodium chloride and/or 0.008 g phosphate, at different pH points (pH 2, 4, 6, 8, and 10), as well as the control group using water. The EAI of the control sample was determined as 4.98 m²/g protein. The EAI values of the sample groups were given in Figure 4a. These results showed that the addition of salt and/or phosphate on MPs resulted in various EAI patterns at different pH points. Salt and salt-phosphate supplementation gradually increased EAI towards high pH values (Figure 4a). In line with this, high pH provided favorable emulsifying properties, as well as gel-forming properties (Chan et al., 2011).

Emulsifying property analysis results showed that the MPs had the highest ESI value with the addition of salt at pH 8 among the other pH points (Figure 4a). This result is consistent with the studies reporting that the high pH values support the emulsion stability in meat combinations (Richardson and Jones, 1987; Young et al., 2005). Accordingly, Romero et al. (2011) have shown that crayfish proteins had more favorable emulsion stability at pH 8, relative to pH 2 (Romero et al., 2011). On the other hand, liver proteins from turkey included favorable emulsion stability at low and high pH values (Zouari et al., 2011), whereas salt soluble proteins obtained from meat having pH 6.5 included greater emulsifying properties (Kijowski and Niewiarowicz, 1978).

Emulsifying property analysis results showed MP-salt-phosphate had the highest EAI value at pH 10 and it was found as 8.51 m²/g protein, whereas the MP-salt combination had the maximum value of ESI at pH 8 as 230.8 min (Figure 4a, 4b). Similarly, Ramachandran et al. (2009) reported that the EAI index of emulsifying properties of proteins isolated from various fishes was found between 2.193 m²/g and 7.247 m²/g whereas ESI values were determined between 53.33-128.33 min (Ramachandran et al., 2009). In addition, Mohan et al. (2006) showed that EAI values of MPs isolated from Rohu fish (*Labeo rohita*) were found as 6,25 m²/g for 5 mg/mL protein and 11,09 m²/g for 2.5 mg/mL protein. ESI results were found as 364 min for 5 mg/mL protein and 87 min for 2.5 mg/mL protein.

Foaming capacity (FC) and foaming stability (FS) results

FC and FS were investigated for MPs with the addition of different amounts of sodium chloride and/or phosphate. The highest FC and FS values were found in a combination of 0.1 g MP-0.03 g sodium chloride-0.01 g phosphate (data not shown). FC and FS with each combination of 0.03 g sodium chloride and 0.01 g phosphate at different pH points (pH 2, 4, 6, 8, and 10) were given in Fig 4a and 4b.

The FC of the control sample was determined as 40%. The addition of salt and/or phosphate to MP resulted in the greatest FC at alkaline pH, especially pH 10 (Figure 5a). Accordingly, Rocha-Estrada et al. (2010) have shown that myosin heavy chain (MHC) and paramyosin (PM) of mantle and fin of the jumbo squid *Dosidicus gigas* had great solubility and high foaming capacity at basic pH values. In line with this, foaming capacity was proportional to solubility. Also, Thawornchinsombut and Park (2005) showed that soluble fish proteins including MHC from pacific whiting mince had higher solubility at pH 7 and 10, relative to pH 4, when increasing the salt concentration. Thus, the present study suggested that MP solubility may be increased at alkaline pH conditions in line with the FC.

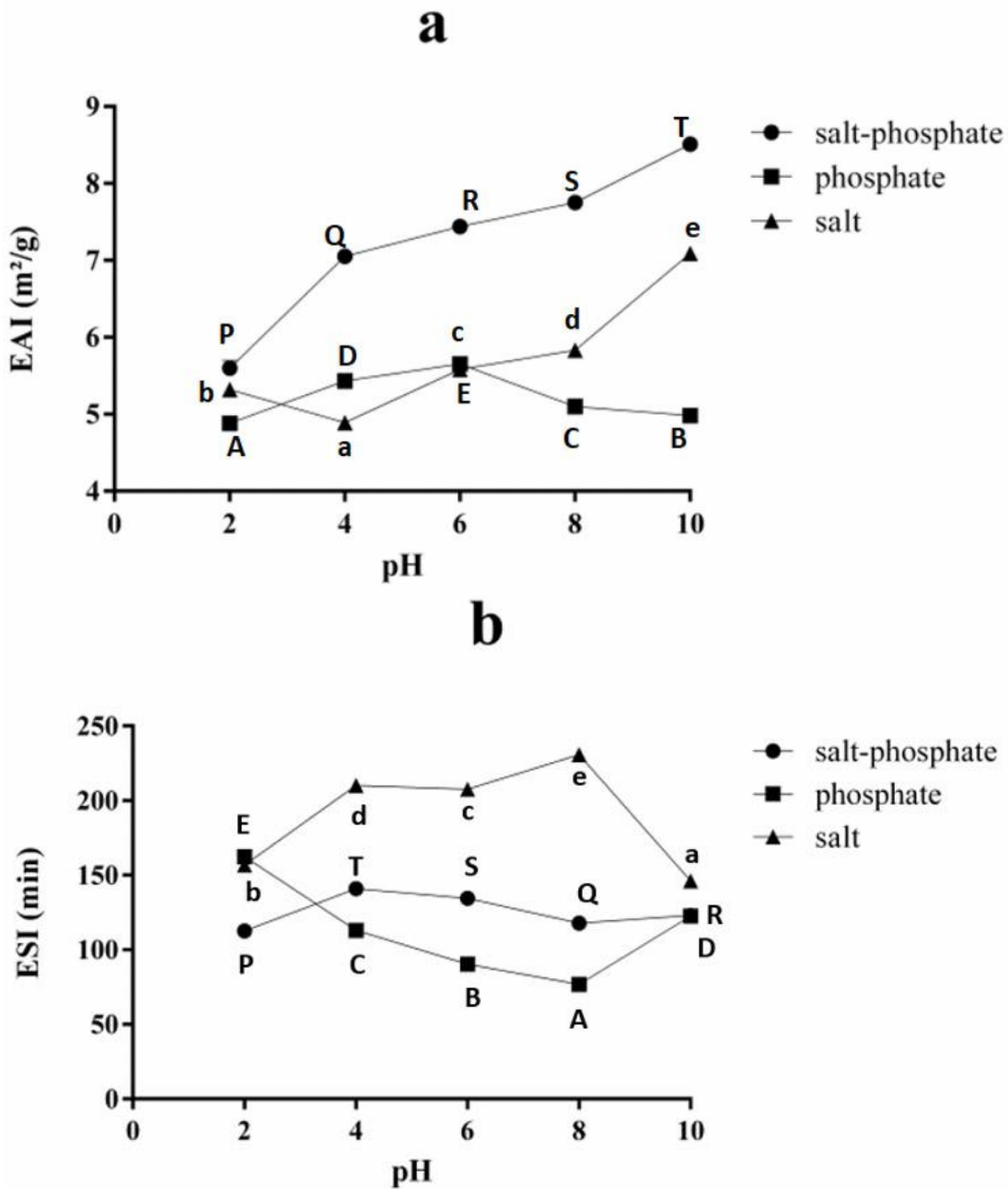


Figure 4. Emulsion activity index (EAI) (a) and emulsion stability index (ESI) (b) of combinations of 0.05 g NaCl-0.1 g protein, 0,008 g phosphate-0.1 g protein, and 0.05 g NaCl-0,008 g phosphate-0.1 g protein against different pH points

a, b, c, d, e: Mean values corresponding to the usage of salt with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$).

A, B, C, D, E: Mean values corresponding to the usage of phosphate with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$).

P, Q, R, S, T: Mean values corresponding to the combined usage of salt and phosphate with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$).

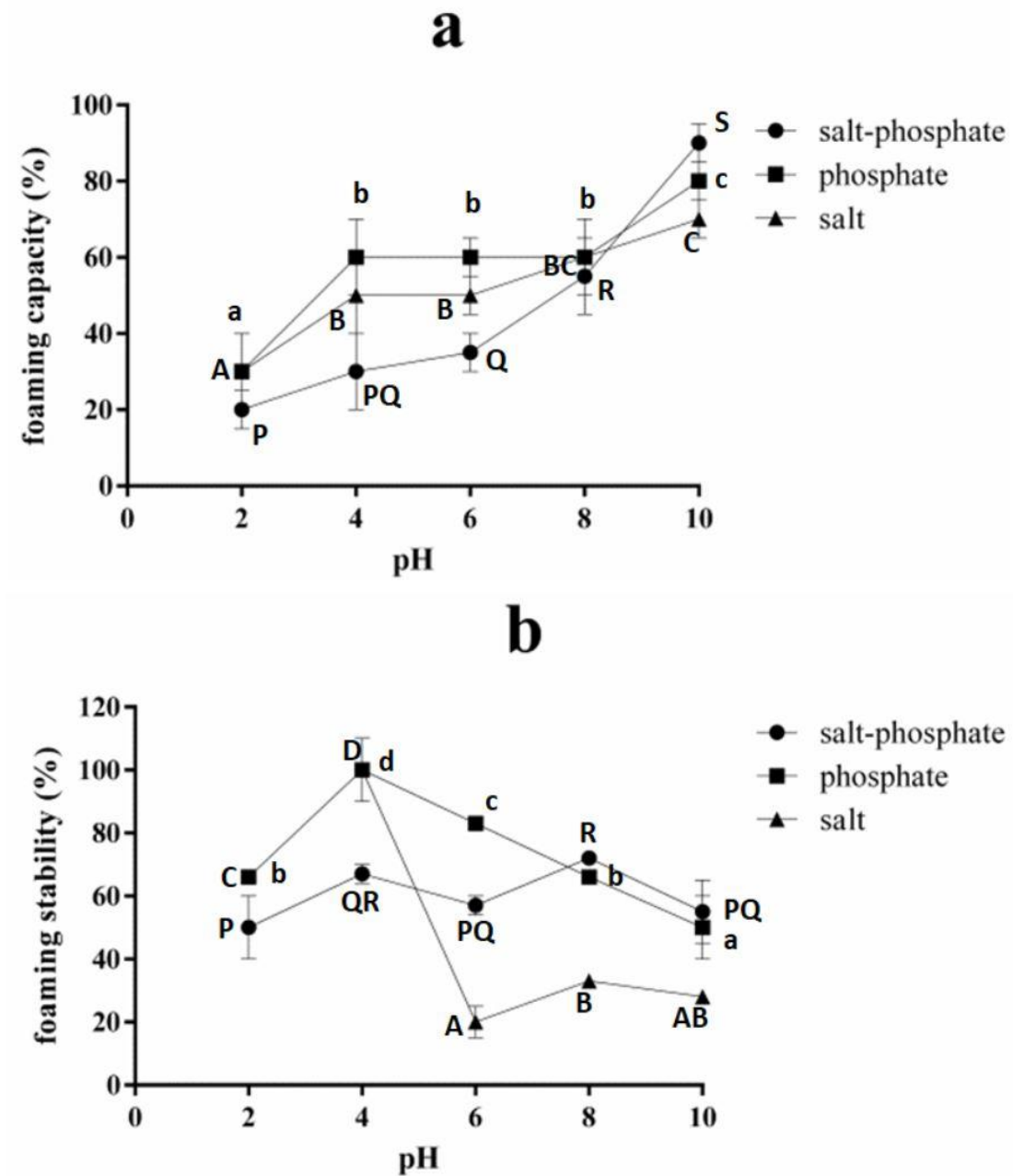


Figure 5. Foaming capacity (FC) (a) and foaming stability (FS) (b) of combinations of 0.03 g salt-0.1 g MP, 0.01 g phosphate-0.1 g MP, and 0.01 g phosphate-0.03 g salt-0.1 g MP against different pH points. *a, b, c, d, e*: Mean values corresponding to the usage of phosphate with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$). *A, B, C, D, E*: Mean values corresponding to the usage of salt with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$). *P, Q, R, S, T*: Mean values corresponding to the combined usage of salt and phosphate with proteins at different pH values not followed by a common letter differ significantly ($P < 0.05$).

The FS of the control sample was determined as 20 % and the FS results were given in Figure 5b. Foaming property analysis results showed that MP-salt had the lowest FS at pH 6, compared to the other pH points; however, it was also decreased at pH 10. Similarly, FS of jumbo squid *D. gigas* was also minimum at pH 6 and it was decreased at extreme basic pH conditions (pH 12) in the presence of salt (Rocha-Estrada et al., 2010). The highest FC result was found to be 90% at pH 10 in the sample prepared with the addition of protein (0.1 g), NaCl (0.03 g), and phosphate (0.01 g), and the highest FS result was determined as 100% at pH 4 with the addition of NaCl or phosphate. The present study indicated that NaCl and phosphate addition to the proteins improved the foaming properties of the proteins. It is seen that both the foaming capacity and stability values were increased when compared with the control sample.

CONCLUSIONS

Due to various cultures and nutrition types in the world, research has been carried out on different products in different regions and studies are also carried out on improving the sensory properties of the products. In terms of both taste and health, the potential best recipe for the production stages of the products is sought. Studies on proteins, which are one of the most important components that contribute to the various properties of meat products, are also important in this respect. In this study, the effects of salt and phosphate used in almost every meat product on myofibrillar proteins were investigated. The amounts used in the study positively affected the functional properties of the proteins and higher results were obtained compared to the results obtained in the control sample.

There are various studies on myofibrillar proteins in the literature, but they are generally on white meat proteins, mostly fish and other marine animal proteins. Studies investigating the effect of the use of different food additives on the functional properties of red meat proteins in more detail will contribute to the meat products industry.

STATEMENT OF CONFLICT OF INTEREST

The authors have no conflict of interest with other persons and/or institutions.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The study was produced from Armin BJELAK's master's thesis, and Armin BJELAK took part in the formation of the study idea, the planning, and execution of the experiments, and created the text of the article. Banu SEZER took part in the execution of the experiments and created the text of the article. Yusuf SÜRMEĒİ took part in the creation of the experimental design, the evaluation of the data, and the editing of the manuscript. Hasan Murat VELĒOĒLU took part in the formation of the idea of working as a supervisor, the creation of the experimental design, the evaluation of the data, and the control/editing of the draft of the manuscript. İsmail Hakkı BOYACI, as the project leader, took part in the creation of the experimental design, the evaluation of the data, and the control of the draft of the manuscript. The authors have read and approved the final version of the manuscript.

ACKNOWLEDGEMENTS

The protein samples used in this study were prepared in TekirdaĒ Namık Kemal University Agricultural Biotechnology Department Laboratory equipped with a The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) project (project number 217O088.) Therefore, the authors would like to thank the partial support of TUBITAK.

REFERENCES

- Amiri, A., Sharifian, P., Soltanizadeh, N. (2018). Application of ultrasound treatment for improving the physicochemical, functional and rheological properties of myofibrillar proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111:139–147. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.167.
- Barbut, S. (1995). Importance of fat emulsification and protein matrix characteristics in meat batter stability. *Journal of Muscle Foods*, 6:161. doi: 10.1111/j.1745-4573.1995.tb00564.x.

- Barbut, S., Mittal, G.S. (1988). Rheological and gelation properties of meat batters prepared with three chloride salts. *Journal of Food Science*, 53:1296. doi: 10.1111/j.1365-2621.1988.tb09261.x.
- Bertram, H. C., Kristensen, M., Andersen, H.J. (2004). Functionality of myofibrillar proteins as affected by pH, ionic strength, and heat treatment – a low-field NMR study. *Meat Science* 68:249–256. doi: 10.1016/j.meatsci.2004.03.004.
- Chan JT, Omana DA, Betti M. (2011). Functional and rheological properties of proteins in frozen turkey breast meat with different ultimate pH. *Poultry Science*, 90(5):1112-1123. doi: 10.3382/ps.2010-01185.
- Chang, H.J., Xu, X.L., Zhou, G.H., Li, C.B., Huang, M. (2012). Effects of characteristics changes of collagen on meat physicochemical properties of beef semitendinosus muscle during ultrasonic processing, *Food Bioprocess Technology*, 5(1):285–297. doi: 10.1007/s11947-009-0269-9.
- Chen, X., Li, Y., Zhou, R., Liu, D., Xu, X. (2017). Water-soluble myofibrillar proteins prepared by high-pressure homogenisation: a comparison study on the composition and functionality. *International Journal of Food Science and Technology*, 52:2334–2342. doi: 10.1111/ijfs.13515.
- Cheng, Q., Sun, D.W. (2008). Factors affecting the water holding capacity of red meat products: a review of recent research advances. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48:137–159. doi: 10.1080/10408390601177647.
- Cheng, J., Zhu, M., Liu, X. (2020). Insight into the conformational and functional properties of myofibrillar protein modified by mulberry polyphenols. *Food Chemistry*, 308:125592. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125592.
- Choi, Y.M., Jung, K.C., Jo, H.M., Nam, K.W., Choe, J.H., Rhee, M.S., Kim, B.C. (2014). Combined effects of potassium lactate and calcium ascorbate as sodium chloride substitutes on the physicochemical and sensory characteristics of low-sodium frankfurter sausage. *Meat Science*, 96:21-25. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.06.022.
- Colmenero, F.J., Borderias, A.J. (1983). A study of the effects of frozen storage on certain functional properties of meat and fish protein. *International Journal of Food Science and Technology*, 18:731-737. doi:10.1111/j.1365-2621.1983.tb00311.x.
- Damodaran, S. (1996). Amino acids, peptides, and proteins. In: *Food Chemistry*, Fennema, R. O. (Ed.), Marcel Dekker Inc, New York, USA. pp. 321–430.
- De Kanterewicz, R. J., Elizalde, B. E., Pilosof, A. M. R., Bartholomai, G. B. (1987). Water oil absorption index (WOAI): A simple method for predicting the emulsifying capacity of food proteins. *Journal of Food Science*, 52:1381. doi: 10.1111/j.1365-2621.1987.tb14087.x.
- Elizalde, B.E., Kanterewicz, R.J., Pilosof, A.M.R., Bartholomai G.B. (1988). Physicochemical properties of food proteins related to their ability to stabilize oil-in-water emulsions. *Journal of Food Science*, 53(3):845. doi: 10.1111/j.1365-2621.1988.tb08968.x.
- FAO (2006). World agriculture: Towards 2030/2050. Interim Report. Rome: Food and Agriculture Organisation.
- Fernández-Martín F, Cofrades S, Carballo J, Jiménez-Colmenero F. (2002). Salt and phosphate effects on the gelling process of pressure/heat treated pork batters. *Meat Science*, 61(1):15-23. doi: 10.1016/s0309-1740(01)00157-7.
- Forrest, J.C., Aberle, E.D., Hedrick, H.B., Merkel, R.A. (2001). Principle of Meat Science, 4th edition Kendall Hunt Pub Co, UK.
- Greaser, M. L., Gergely, J. (1971). Reconstitution of troponin activity from three protein components. *Journal of Biological Chemistry*, 246:4226-4233.
- Hamm. (1986). Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. In: Bechtel P. J., editor. Muscle as food. Academic Press, Inc; New York: pp. 135–199.
- Hong, G.P., Chun, J.Y., Jo, Y.J., Choi, M.J. (2014). Effects of pH-shift processing and microbial transglutaminase on the gel and emulsion characteristics of porcine myofibrillar system.

- Korean Journal of Food Science and Technology*, 34(2):207-213. doi: 10.5851/kosfa.2014.34.2.207.
- Huff-Lonergan, E., Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: the role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71:194–204. doi: 10.1016/j.meatsci.2005.04.022.
- Jayasooriya, S.D., Bhandari, B.R., Torley, P., D'Arcy, B.R. (2004). Effect of high power ultrasound waves on properties of meat: a review, *International Journal of Food Properties*, 7(2):301–319. doi: 10.1081/JFP-120030039.
- Jones, K.W. (1984). Protein-lipid interaction in processed meats. *Proceedings of 37th Annual Reciprocal Meat Conference, Lubbock, TX*, p. 52.
- Kijowski, J., Niewiarowicz, A. (1978). Emulsifying properties of proteins and meat from broiler breast muscles as affected by their initial pH values. *Journal of Food Science and Technology*, 13:451-459.
- Kinsella, J. E., L. G. Phillips. (1989). Structure: functional relationship in food proteins, film and foaming behavior. Chapter 4, in J. E. Kinsella and W. G. Soucie, eds. *Food proteins*. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL. pp. 52–77.
- Kudre, T.G., Bejjanki, S.K., Kanwate, B.W. Sakhare, P.Z. (2018). Comparative study on physicochemical and functional properties of egg powders from Japanese quail and white Leghorn chicken. *International Journal of Food Properties*, 21:956-971. doi: 10.1080/10942912.2018.1466320.
- Laemmli, U. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227:680–685. doi: 10.1038/227680a0.
- Li-Chan, E., Nakai, S., Wood, D.F. (1985). Relationship Between Functional (Fat Binding, Emulsifying) and Physicochemical Properties of Muscle Proteins. Effects of Heating, Freezing, pH and Species. *Journal of Food Science*, 50:1034-1040. doi: 10.1111/j.1365-2621.1985.tb13006.x.
- Lili, L., Huan, W., Guangyue, R., Xu, D., Dan, L., Guangjun, Y. (2015). Effects of freeze-drying and spray drying processes on functional properties of phosphorylation of egg white protein. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 8:116-123. doi: 10.3965/j.ijabe.20150804.1942.
- Lin, T.M., Park, J.W. (1996). Extraction of proteins from pacific whiting mince at various washing conditions. *Journal of Food Science*, 61(2):432-438. doi: 10.1111/j.1365-2621.1996.tb14210.x.
- Malva, A., Albenzio, M., Santillo, A., Russo, D., Figliola, L., Caroprese, M., Marino, R. (2018). Methods for extraction of muscle proteins from meat and fish using denaturing and nondenaturing solutions. *Journal of Food Quality*, 2018:8478471. doi: 10.1155/2018/8478471.
- Mohan, M., Ramachandran, D., Sankar, T.V. (2006). Functional properties of Rohu (Labeo rohita) proteins during iced storage. *Food Research International*, 39:847-854. doi: 10.1016/j.foodres.2006.04.003.
- Omana, D. A., Xu, Y., Moayed, V., Betti, M. (2010). Alkali-aided protein extraction from chicken dark meat: Chemical and functional properties of recovered proteins. *Process Biochemistry*, 45(3):375–381. doi: 10.3382/ps.2009-00441.
- Pearce, K.L., Rosenvold, K., Andersen, H.J., Hopkins, D.L. (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes: a review. *Meat Science*, 89:111-124. doi: 10.1016/j.meatsci.2011.04.007.
- Pereira, P.M.C.C., Vicente, A.F.R.B. (2013). Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science*, 93(3):586-592. doi: 10.1016/j.meatsci.2012.09.018.
- Puolanne E., Ruusunen M., Vainionpää J. (2001). Combined effects of NaCl and raw meat pH on water-holding in cooked sausage with and without added phosphate. *Meat Science*, 58:1-7. doi: 10.1016/s0309-1740(00)00123-6.
- Ramachandran, D., Mohan, M., Sankar, T.V., Anandan R. (2009). Physico-chemical and functional properties of myofibrillar proteins of

- fishes from different habitats. *Fishery Technology*, 46(2):151–158.
- Ramírez-Suárez, J.C., Xiong, Y.L. (2003). Effect of transglutaminase induced crosslinking on gelatin of myofibrillar/soy protein mixtures. *Meat Science*, 65:899–907. doi: 10.1016/S0309-1740(02)00297-8.
- Richardson, R. I. and Jones, J. M. (1987). The effects of salt concentration and pH upon water binding, water holding and protein extractability of turkey meat. *International Journal of Food Science & Technology*, 22:683–692. doi: 10.1111/j.1365-2621.1987.tb00537.x.
- Rocha-Estrada, J.G., Córdova-Murueta J.H., García-Carreno F.L. (2010). Functional properties of protein from frozen mantle and fin of jumbo squid *Dosidicus gigas* in function of pH and ionic strength. *Food Science and Technology International*, 16:451-458. doi: 10.1177/1082013210367157.
- Romero, A., V. Beaumal, E. David-Briand, F. Cordobés, M. Anton, A. Guerrero. (2011). Interfacial and emulsifying behavior of crayfish protein isolate. *LWT - Food Science and Technology*, 44:1603-1610. doi: 10.1016/j.lwt.2011.03.005.
- Santhi D, Kalaikannan A, Sureshkumar S. (2017). Factors influencing meat emulsion properties and product texture: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(10):2021-2027. doi: 10.1080/10408398.2013.858027.
- Savage, A.W.J., P.D. Warriss, P.D. Jolley. (1990). The amount and composition of the proteins in drip from stored pig meat. *Meat Science*, 27:289-303. doi: 10.1016/0309-1740(90)90067-G.
- Segura-Campos, M., Perez-Hernandez, R., ChelGurerero, L., Castellanos-Ruelas, A., GallegosThintore, S., Betancur-Ancona, D. (2013). Physicochemical and functional properties of dehydrated Japanese quail (*Coturnix japonica*) egg white. *Food Science & Nutrition*, 4:289-298, doi: 10.4236/fns.2013.43039.
- Sharifian, A., Soltanizadeh, N., Abbaszadeh, R. (2019). Effects of dielectric barrier discharge plasma on the physicochemical and functional properties of myofibrillar proteins. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 54:1-8. doi: 10.1016/j.ifset.2019.03.006.
- Smith, D.M. (1988). Meat proteins: functional properties in comminuted meat products. *Food Technology*, 42(4):116–121.
- Thawornchinsombut, S., Park, J.W., 2005. Role of ionic strength in biochemical properties of soluble fish proteins isolated from cryoprotected Pacific whiting mince. *Journal of Food Biochemistry*, 29(2):132-151. doi: 10.1111/j.1745-4514.2005.00005.x.
- Voutsinas, L.P., Cheung, E., Nakai, S. 1983. Relationships of hydrophobicity to emulsifying properties of heat denatured proteins. *Journal of Food Science*, 48:26–32. doi: 10.1111/j.1365-2621.1983.tb14781.x.
- Whiting, R.C. (1984). Stability and gel strength of frankfurter batters made with reduced NaCl. *Journal of Food Science*, 49:1350-1354. doi:10.1111/j.1365-2621.1984.tb14988.x.
- Wilding P, Hedges N, Lillford P. (1986). Salt-induced swelling of meat: the effect of storage time, pH, ion-type, and concentration. *Meat Science*, 18:55–75. doi: 10.1016/0309-1740(86)90066-5.
- Xiong. Y.L. (1997). Structure-Function Relationship of Muscle Proteins. In *Food Proteins and Their Applications*; S. Damodaran and A. Paraf. Marcel Dekker: New York pp. 341-392.
- Xiong, Y.L., Lou, X., Wang, C., Moody, W.G., Harmon, R.J. (2000). Protein extraction from chicken myofibrils irrigated with various polyphosphate and NaCl solutions. *Journal of Food Science*, 65:96-100. doi: 10.1111/j.1365-2621.2000.tb15962.x.
- Yongsawatdigul J, Hemung BO. (2010). Structural changes and functional properties of threadfin bream sarcoplasmic proteins subjected to pH-shifting treatments and lyophilization. *Journal of Food Science*, 75(3):251-257. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01530.x.
- Young, O. A., Zhang, S. X., Farouk, M. M., Podmore, C. (2005). Effects of pH

adjustment with phosphates on attributes and functionalities of normal and high pH beef. *Meat Science*, 70:133–139. doi: 10.1016/j.meatsci.2004.12.018.

Zeng, Z., Li, C., Ertbjerg, P. (2017). Relationship between proteolysis and water-holding of myofibrils. *Meat Science*, 131:48–55. doi: 10.1016/j.meatsci.2017.04.232.

Zhang, L., Barbut, S. (2005). Rheological characteristics of fresh and frozen PSE, normal

and DFD chicken breast meat. *British Poultry Science*, 46:687–693. doi: 10.1080/00071660500391516.

Zouari, N., Fakhfakh, N., Amara-Dali, W. B., Sellami, M., Msaddak, L., Ayadi, M. A., (2011). Turkey liver: Physicochemical characteristics and functional properties of protein fractions. *Food and Bioprocess Processing*, 89:142–148. doi: 10.1016/j.fbp.2010.03.014.

VAKUMLU EMDİRİM İLE RENKLİ FONKSİYONEL TAVUK ETİ KÜPLERİNİN ÜRETİLMESİ

Elif Aykın Dinçer^{1*}, Cüneyt Dinçer^{2,3}

¹Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

² Akdeniz Üniversitesi, Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi, Antalya, Türkiye

³Akdeniz Üniversitesi, Finike Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / Received: 14.06.2022; Kabul / Accepted: 23.09.2022; Online baskı / Published online: 03.10.2022

Aykın-Dinçer, E., Dinçer, C. (2022). Vakumlu emdirim ile renkli fonksiyonel tavuk eti küplerinin üretilmesi. *GIDA* (2022) 47 (5) 860-873 doi: 10.15237/ gida.GD22056

Aykın-Dinçer, E., Dinçer, C. (2022). Production of colored functional chicken meat cubes by vacuum impregnation. GIDA (2022) 47 (5) 860-873 doi: 10.15237/ gida.GD22056

ÖZ

Bu çalışmada; vakumlu emdirim tekniği ile renklendirildikten sonra kurutulan tavuk eti küplerinin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak; tavuk göğüs eti küpleri 25°C'de 2 saat süreyle farklı konsantrasyonlardaki (1, 2 ve 4°Bx) hibiskus ekstraktları emdirilerek renklendirilmiş ve 60°C'de konveksiyonel kurutucuda kurutulmuştur. Çalışmada kullanılan hibiskus ekstraktlarının pH değerleri 2.07-2.27 aralığında belirlenmiştir. Hibiskus ekstraktı kullanılarak elde edilen renkli küplerin nem içeriği %33.77-35.18 ve pH değeri 4.42-5.06 aralıklarında belirlenmiştir. Yüksek hibiskus konsantrasyonunda (4°Bx), et küplerinin daha koyu renkli ve toplam monomerik antosiyanin miktarının ise daha yüksek (50.75 mg/kg) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, konsantrasyon arttıkça, örneklerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesinin de yükseldiği belirlenmiştir. Çalışma sonuçları, tavuk etinin hem renklendirilmesi hem de fonksiyonel bileşikler ile zenginleştirilmesinde vakumlu emdirim tekniğinin başarıyla kullanılabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte arzu edilen son ürün özelliklerine göre uygulama şartlarının optimize edilmesi önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: Hibiskus, kalite, tavuk eti, vakumlu emdirim

PRODUCTION OF COLORED FUNCTIONAL CHICKEN MEAT CUBES BY VACUUM IMPREGNATION

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine some quality characteristics of dried chicken cubes after coloring with vacuum impregnation. For this purpose, hibiscus extracts of different concentrations (1, 2 and 4°Bx) were impregnated into chicken breast cubes for 2 hours at 25°C, and then colored cubes were dried in a convection dryer at 60°C. pH values of hibiscus extracts were between 2.07-2.27. Moisture content of colored cubes by using hibiscus extract was between 33.77-35.18% and, pH value was between 4.42-5.06. At high hibiscus concentration (4°Bx), cubes were darker colored, and total amount of monomeric anthocyanin was higher (50.75 mg/kg). In addition, as concentration increased, total phenolic content and antioxidant activity of samples also increased. The results show that vacuum impregnation can be used successfully in both coloring and enrichment of chicken meat

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: elifaykin@akdeniz.edu.tr

☎: (+90) 242 310 4345

☎: (+90) 242 227 4564

Elif Aykın Dinçer; ORCID no: 0000-0003-4427-9819

Cüneyt Dinçer; ORCID no: 0000-0002-9160-4242

with functional compounds. However, it is important to optimize application conditions according to desired final product properties.

Keywords: Chicken meat, hibiscus, quality, vacuum impregnation

GİRİŞ

Türkiye'de 2021 yılında tavuk eti üretiminin 2.2 milyon tona ulaştığı ve kişi başına tavuk eti tüketiminin yaklaşık 21 kg olduğu bilinmektedir (Anonymous, 2022). Tavuk eti, düşük maliyetli bir protein kaynağı olması, düşük yağ içeriği ve çok yönlülüğü nedeniyle kırmızı ete sağlıklı bir alternatif olarak kabul edilmektedir (Ramírez vd., 2021). Tavuk eti bütün gövde ya da göğüs, but, kanat gibi parçalar halinde çiğ olarak satılabildiği gibi son zamanlarda hem lezzetli hem de kolay hazırlanabilir salam, sosis, döner gibi çeşitli ürünlere işlenebilmektedir (Hii vd., 2014; Choi vd., 2016). Bununla birlikte tavuk endüstrisi tüketim talebine katkı sağlamak amacıyla farklı yöntemler kullanılarak geliştirilmiş tavuk eti ürünlerinin üretimi ile ilgili çalışmalara da hız vermiştir (Kavuşan vd., 2021).

Antosiyaninler, meyve ve sebzelere pembe, kırmızı, viole, mavi ve mor tonlarındaki çeşitli renkleri veren, $C_6C_3C_6$ karbon iskeleti ile karakterize edilen, suda çözünebilir özellikteki doğal renk maddeleridir. Antosiyaninler, glikozit formunda bulunan flavanoid olarak bilinen fenolik maddeler olup, antioksidan özellikleriyle de dikkat çekmektedirler (Castañeda-Ovando, 2009). Malvaceae familyasından tek yıllık bir bitki olan hibiskus (*Hibiscus sabdariffa* L.), antosiyaninlerce zengin etli çanak yaprakları (kaliksleri) ile ticari olarak öneme sahiptir ve gıda endüstrisinde bitki çayı, sıcak ve soğuk içecekler, reçel, şekerlemeler, dondurma, çikolata, tatlandırıcılar, puding ve pasta gibi ürünlerin hazırlanmasında kullanılmaktadır (Dinçer, 2021). Tüketicilerin sağlıklı ve besleyici ürünlere daha fazla ilgi göstermesi, antosiyaninler gibi biyoaktif bileşiklerce zengin bu doğal gıdalara yönelik pazar talebini de gün geçtikçe arttırmaktadır. Bu eğilim aynı zamanda doğal gıdaların diğer ürünlerde kullanımını da yaygınlaştırmaktadır (Gök ve Bor, 2016; Mazaheri Kalahrodi vd., 2021). Piyasada satılan gıda ürünlerinin rengi yaygın olarak sentetik boyalarla sağlanmaktadır. Ancak, tüketicilerin sentetik boya kullanımını konusundaki endişeleri nedeniyle hibiskus,

domates, biber, Monascus mantarı ve kırmızı pancar ekstraktı gibi alternatif doğal renklendiricilerin et ürünlerinde kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu gıdaların renklendirici özelliklerinin yanı sıra antioksidan özellikleri de kullanımlarını arttırmıştır (Aykın-Dinçer vd., 2021). Et ürünlerinin biyoaktif bileşikler bakımından zenginleştirilmesinin en yaygın yollarından biri, marinasyon tekniğidir. Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği'ne göre marinasyon "çiğ etin tuz, bitkisel yağ gibi çeşitli gıda maddeleri ve lezzet vericiler ile teknolojisine uygun olarak muamele edilmesi işlemi" olarak tanımlanmaktadır (Anonymous, 2019). Latince "marine" kelimesinden türetilmiş olan marinasyon işlemi, eskiden raf ömrünü uzatmak amacıyla etin tuzlu su çözeltisinde yani salamurada bekletilmesi olarak ifade edilirken, günümüzde etin duyu ve fonksiyonel özelliklerini geliştirmek amacıyla meyve ve sebze suları gibi çeşitli sıvılarla muamele edilmesini de kapsamaktadır (Yıldırım, 2020). Etin fonksiyonel özellik kazanması amacıyla kullanılan meyve suları, aynı zamanda marinasyon ortamının pH'sını düşürdüğünden raf ömrünü artırmak için de tercih edilmektedir (Akyüz vd., 2020). Etin marinasyonunda kullanılan başlıca yöntemler; daldırma, enjeksiyon ve tamburlamadır (Ergezer ve Gökçe, 2004). Daldırma en temel yöntem olup, etin marinasyon sıvısı içerisinde buzdolabı sıcaklığında ($\approx 4^{\circ}\text{C}$) bekletilmesi işlemidir. Enjeksiyon yöntemi tekli veya çoklu iğneler yardımıyla ve tamburlama yöntemi ise belirli bir açıyla dönen pedallı bir kazan içinde hızlı ve sürekli bir marinasyon işlemi sağlayarak üretim verimini arttırmakta ve işçilik maliyetlerini düşürmektedir. Ancak, bu hızlı yöntemler et yüzeyinde bazı iğne deliklerinin oluşmasına ve kazanda düşme, çarpma ve sürtünmeye bağlı olarak doku bütünlüğünün bozulmasına neden olabilmektedir (Aykın-Dinçer ve Erbaş, 2018). Bu sorunlar, etin marinasyonunda dokuya zarar vermeden marinasyon süresini kısaltan yeni teknolojilerin kullanımını gündeme getirmiştir.

Fonksiyonel et ürünü geliştirmek için kullanılan umut verici yöntemlerden biri vakumlu emdirim (VE) tekniğidir. VE tekniği, basınç değişiklikleri tarafından desteklenen hidrodinamik mekanizmaların etkisi ile gıdanın gözeneklerinde bulunan gazların ve sıvıların emdirim çözeltisi ile yer değiştirmesi işlemidir (Aykın-Dinçer ve Erbaş, 2018). Vakum uygulaması ve ardından atmosfer basıncının restorasyonu işlemi, gıdanın gözenekli yapısına kontrollü miktarlarda biyoaktif bileşiklerin dahil edilmesini desteklemektedir. Gıda ile emdirim çözeltisi arasındaki bu iki yönlü kütle transferinin hızı; gıdanın yapısı, vakum basıncı ve süresi, vakum sonrası bekleme (gevşeme) süresi, döngü sayısı, çözelti konsantrasyonu, viskozitesi ve sıcaklığı, karıştırma işlemi ve gıda/çözelti oranı gibi faktörlerden etkilenebilmektedir (Yılmaz ve Bilek, 2018; Aykın-Dinçer, 2021). Meyve ve sebzelerin vitaminler, mineraller, fenolikler, aromalar ve organik asitler ile VE tekniği kullanılarak zenginleştirilmesini konu olan önemli çalışmalar yürütülmüştür (Guiamba vd., 2016; Lima vd., 2016; Moreno vd., 2017; Rascón vd., 2018; Yılmaz ve Bilek, 2018; de Medeiros vd., 2019; Luo vd., 2019). Et ürünlerinde VE tekniğinin kullanıldığı özellikle tuzlama, marinasyon ve kürlenme (Deumier vd., 2003; Bampi vd., 2016; Serio vd., 2017; Aykın-Dinçer, 2021) ile ilgili bazı çalışmalar mevcut olup et ürünlerinin özellikle biyoaktif bileşiklerce zenginleştirilmesini konu alan çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır (Demir vd., 2021; Shiekh vd., 2021; Zhao vd., 2021). Diğer taraftan bilinçli tüketicilerin antosiyaninler gibi biyoaktif bileşiklerce zengin ve/veya zenginleştirilmiş ürünlere ilgi göstermesi, tüketim talebini arttırmak için arayışta bulunan tavuk endüstrisinin de bu çalışmalara verdiği önemi arttırmıştır.

Bu çalışmada, vakumlu emdirim tekniği kullanılarak tavuk etinin hibiskus ekstraktları ile renklendirilmesi ve böylece yeni bir fonksiyonel tavuk eti ürününün geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak, tavuk göğüs etleri 2 saat süreyle farklı konsantrasyonlardaki (1, 2 ve 4°Bx) hibiskus ekstraktları emdirilerek renklendirildikten sonra 60°C'de konveksiyonel kurutucuda kurutulmuştur. Ardından tavuk etlerinde nem, a_w , VE sonrası ağırlık kazanımı,

pH, L^* , a^* , b^* renk değerleri, toplam monomerik antosiyanin içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite gibi analiz ve ölçümler gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma materyali olarak kullanılan tavuk göğüs etleri Antalya'da tanınmış bir kasaptan (Veli Cengiz Et Ürünleri Ltd.) temin edilmiştir. Göğüs etleri yağ ve bağ dokusu alındıktan sonra bıçak yardımıyla küplere ($\approx 1.5 \times 1.5 \times 1.5$ cm) bölünmüştür (Aykın-Dinçer, 2021). Çalışma kapsamında 4 farklı emdirim çözeltisi (tuz çözeltisi, hibiskus ekstraktı 1, 2 ve 4°Bx) ve bir doğrudan kurutuma uygulandığından, et küpleri 5 gruba ayrılmıştır. Her bir grupta yaklaşık 60 g tavuk eti bulunmaktadır. Bir tekerrür için 300 g et küpü (60 g \times 5 grup) kullanılmıştır. Çalışma 2 tekerrürlü olarak yürütüldüğünden toplam 600 g et küpü (300 g \times 2 tekrar) analiz edilmiştir.

Hibiskus ekstraktlarının hazırlanması (Dinçer, 2022) için, aktardan temin edilen hibiskus (*Hibiscus sabdariffa* L.) bitkisinin kurutulmuş yaprakları kullanılmıştır. Hibiskus numuneleri blenderda (Beko BKK-2155 Maxi El Blenderı, Türkiye) öğütüldükten sonra, ekstraksiyon işlemi, örnek su oranı 1/10 olacak şekilde 75°C'deki su banyosunda (Heidolph Hei VAP Precision, Almanya) 750 devir/dakika karıştırma hızındaki pervaneli karıştırıcı (MTOPS MS3040D Lab. Stirrer Kore) yardımıyla 15 dk. süreyle gerçekleştirilmiştir. Daha sonra filtre (106 μ m) edilen hibiskus ekstraktları (4.7-5.0°Bx) saf su ile 1, 2 ve 4°Bx seviyelerine seyreltilmiş ve üzerine %4 tuz (NaCl, Merck) içerecek şekilde tuz ilavesi yapılmıştır. Aynı gün içerisinde gerçekleştirilen uygulamalara kadar, emdirim çözeltileri buzdolabında ($\approx 4^\circ\text{C}$) muhafaza edilmiştir. Her uygulama için 600 mL çözelti kullanılmıştır. Tavuk eti küplerinin emdirim çözeltisine oranı, daha önceki çalışmalar dikkate alınarak kütlece 1/10 olarak belirlenmiştir (Aykın-Dinçer, 2021). Böylece, tavuk eti küpleri emdirim çözeltisi içerisine tamamen daldırılmış ve vakumlu emdirim işlemi için rotary evaporatöre (Hei-VAP Precision, Schwabach, Almanya) bağlanmıştır. Tüm uygulamalarda, 10 dk. vakum (250 mbar mutlak basınç) ve ardından 10 dk. atmosfer basıncı döngüsü 2 saat boyunca tekrarlanmıştır.

Çalışmada iki farklı kontrol grubu kullanılmıştır. Birinci kontrol grubundaki tavuk göğüs etleri doğrudan kurutulurken, ikinci kontrol grubu tuzlu su çözeltisi içerisinde diğer örneklerde olduğu gibi vakumlu emdirim işlemine tabi tutulmuştur. Tuzlu su çözeltisi, 40 g tuzun (NaCl, Merck) toplam hacmi 1 L olan saf su içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır. Uygulamalar sonrası tüm örnekler $60\pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta fırında (Memmert, Almanya) sabit tartıma gelene kadar yaklaşık 16 saat kurutulmuştur.

Analizler

Nem içeriği

Örneklerin % nem içeriği, etüvde (Memmert, Almanya) $105\pm 1^\circ\text{C}$ 'de sabit tartıma gelinceye kadar kurutulması sonucunda gravimetrik olarak belirlenmiştir (AOAC, 2000).

Suda çözünür kuru madde tayini

Örneklerin suda çözünebilir kuru madde miktarı refraktometre (PAL- α ATAGO, Tokyo, Japonya) ile oda sıcaklığında ölçülmüştür.

pH ölçümü

Örneklerin pH değerleri oda sıcaklığında dijital pH metre (Orion 4-Star pH meter, Thermo Scientific, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Her çalışma öncesinde pH-metre, pH 4 ve pH 7 tamponları kullanılarak kalibre edilmiştir (AOAC, 2000).

Su aktivitesi (a_w) ölçümü

Örneklerin su aktivitesi, su aktivitesi ölçme cihazı (Aqualab 4TE, ABD) kullanılarak oda sıcaklığında belirlenmiştir.

Vakumlu Emdirim (VE) sonrası ağırlık kazanımı

VE sonrası ağırlık kazanımı, tavuk etlerinin vakumlu emdirim işleminden önceki ve sonraki ağırlıkları arasındaki farkın, tavuk etlerinin vakumlu emdirim işleminden önceki ağırlığına oranı (%) olarak hesaplanmıştır.

Renk ölçümü

Renk değerleri (L^* , a^* , b^*), CR-400 Chromameter (Konica Minolta, Japonya) cihazı kullanılarak CIE renk sistemine göre, 4 farklı örnek yüzeyindeki 2 farklı noktadan toplamda 8 ölçüm alınarak

gerçekleştirilmiştir. L^* değeri örneklerin siyah-beyazlığını, a^* değeri kırmızı-yeşil renk değerlerini ve b^* değeri ise sarı-mavi renk değerlerini ifade etmektedir. Renk cihazı analizlerden önce cihaza ait kalibrasyon plakası ile kalibre edilmiştir.

Toplam fenolik madde

Çalışmada toplam fenolik madde, monomerik antosiyanin tayini ve antioksidan aktivite analizlerinde kullanılmak üzere ekstraktların hazırlanması Liu vd. (2016)'ne göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre blenderda homojenize edilen örneklerden 4 g alınarak santrifüj tüplerine aktarılmış ve üzerine 20 mL %80'lik metanol ilave edilmiştir. Ardından tüpler ultrasonik banyoya (Çalışkan Ultrasonik clenar 180 W, 40 kHz, Türkiye) yerleştirilerek 40 kHz sabit frekansta, 40°C 'de 30 dk. boyunca ekstrakte edilmiştir. Daha sonra numuneler 10 dk. boyunca 4000 rpm'de santrifüjlenmiş (Eppendorf Centrifuge 5810, Almanya) ve üst katman alınmıştır. Ekstraksiyon işlemi yukarıda bahsedilen adımlara göre 2 defa tekrar ettirilmiş ve toplanan filtratlar analizlere kadar 4°C 'de muhafaza edilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarı spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla, 0.5 mL örnek üzerine sırasıyla 2.5 mL Folin-Ciocalteu çözeltisi (Merck, Almanya) (saf su ile 10 kat seyreltilmiş) ve 2 mL %7.5'lik Na_2CO_3 (Merck, Almanya) çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen karışım vorteksle karıştırıldıktan sonra 50°C 'deki su banyosunda 5 dk. bekletilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığına soğutulularak spektrofotometrede (Thermo Scientific Evolution 160 UV-Vis, ABD) 760 nm dalga boyunda absorbans okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri gallik asit çözeltileri ile oluşturulan kurve yardımıyla mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/kg örnek cinsinden ifade edilmiştir (Skerget vd., 2005).

Antosiyanin içeriği

Örneklerde toplam monomerik antosiyanin tayini pH diferansiyel metodu ile spektrofotometrik (Thermo Scientific Evolution 160 UV-Vis, ABD) olarak belirlenmiştir. Bu kapsamda örnekler pH 1 (0,025 M potasyum klorür) ve pH 4.5 (0,4 M sodyum asetat)'a ayarlı 2 farklı tampon

çözeltili kullanılarak deney başlangıcında saptanmış olan seyreltme faktörüne uygun olarak seyreltilmiş ve yaklaşık 20 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu süre sonunda her iki seyreltiğin $\lambda_{vis-max}$ (514 nm) ve 700 nm dalga boyundaki absorbansları saf suya karşı ölçülmüştür. Toplam monomerik antosiyanin miktarı aşağıdaki eşitlik yardımıyla siyanidin-3-glukozit cinsinden mg/L ve g/kg olarak hesaplanmıştır (Wang ve Xu, 2007).
 $A = (A_{\lambda_{vis-max}} \text{ ve } A_{700})_{pH 1.0} - (A_{\lambda_{vis-max}} \text{ ve } A_{700})_{pH 4.5}$

$$\text{Monomerik antosiyanin (mg/L)} = \frac{(A)(MW)(S_f)1000}{(\epsilon)\ell}$$

A: Düzeltilecek hesaplanmış absorbans farkı,
MW: Baz alınacak antosiyanin molekül ağırlığı
Sf= Seyreltme faktörü,
E=Molar absorptivite (absorpsiyon katsayısı)
 ℓ =Spektrofotometrede kuvvet katman kalınlığı.

Antioksidan aktivite tayini

DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalinin inhibisyonuna dayalı antioksidan aktivite Fernández-León vd. (2013) tarafından uygulanan yöntemle göre belirlenmiştir. Bu amaçla uygun oranda seyreltilmiş örnek ekstraktından 50 μ L ve üzerine taze hazırlanmış 950 μ L 6.10^{-5} M DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 30 dk. bekletildikten sonra 516 nm dalga boyunda okunmuştur. Elde edilen değer ile DPPH çözeltisinin bekleme süresinin başında saf metanole karşı 516 nm dalga boyunda yapılan okumasına göre farkları alınmıştır. Örneklerin antioksidan aktivitesi bu absorbans farkları kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış troloks ile elde edilen eğri yardımıyla mg troloks eşdeğer (TE)/kg örnek cinsinden hesaplanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Hibiskus ekstraktlarının pH ve renk değerleri
Emdirim çözeltisi olarak kullanılan hibiskus ekstraktlarının ortalama pH değerleri 2.17 olarak belirlenmiştir. Hibiskus ekstraktlarının asidik karakterde olduğu ve pH değerlerinin konsantrasyon artışına bağlı olarak önemli ($P < 0.01$) düzeyde azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 1). Hibiskus ekstraktının asitliği, sitrik, hidroksisitrik, malik, oksalik, askorbik ve tartarik asitten oluşan organik asit fraksiyonlarına bağlıdır

(Pérez-Báez vd., 2020). Hibiskus ekstraktlarının renk değerleri üzerine konsantrasyon faktörünün önemli ($P > 0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 1). Çalışma sonuçları ile uyumlu olarak, Dinçer (2021) farklı yöntemlerle ekstrakte ettiği 2°Bx hibiskus örneklerinin pH değerinin 2.28-2.41 aralığında ve L^* , a^* ve b^* renk değerlerinin ise sırasıyla 17.18-17.62, 0.77-1.17, 2.12-2.32 aralıklarında değiştiğini bildirmiştir. Dinçer vd. (2020) tarafından farklı yöntemler ile hibiskus örneklerinin 1.1°Bx seviyesine kadar ekstrakte edildiği başka bir çalışmada, pH değerlerinin 2.41-2.42, L , a ve b renk değerlerinin ise sırasıyla 16.15-16.17, 0.66-0.84, 1.13-1.16 aralıklarında değiştiği bildirilmiştir. Chumsri vd. (2008) tarafından kurutulmuş hibiskus çanak yapraklarının farklı sıcaklık (50 ve 60°C), süre (30 ve 60 dk.) ve katı/çözücü oranı (1/5 ve 1/10) dikkate alınarak suda ekstrakte edildiği bir çalışmada ise, ekstraktların pH değerlerinin 2.79 ile 2.95 arasında olduğu bildirilmiştir. Ramirez-Rodrigues vd. (2011)'nin katı/çözücü oranı sunulan çalışmada olduğu gibi 1/40 ve 25°C'de 30, 60, 120 ve 240 dk. ile 90°C'de 2, 4, 8, 16 dk. olmak üzere farklı sıcaklık ve sürelerde gerçekleştirdikleri çalışmada; uygulanan ekstraksiyon yöntemine göre L , a , b renk değerlerinde istatistiki açıdan önemli farklılıklar tespit edildiği ve L değerinin 35.26-54.18, a değerinin 63.93-67.65 ve b değerinin 45.39-68.76 arasında değiştiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada pH değerleri 2.31-2.37 arasında rapor edilmiştir. Ramirez-Rodrigues vd. (2011) ile Chumsri vd. (2008)'nin çalışmalarında bulunan sonuçlar sunulan çalışma sonuçlarından farklılık göstermektedir. Bu durumun hammadde özelliklerinin farklılığının yanı sıra özellikle ekstraksiyon yöntemi, örnek-çözücü oranı, ekstraksiyon sıcaklık ve süresi gibi ekstraksiyon şartlarının farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tavuk göğüs eti küplerinin VE sonrası ağırlık kazanımı

Tavuk göğüs eti küplerinin VE sonrası ağırlık kazanımı üzerine, emdirim çözeltisinin $P < 0.01$ düzeyinde etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). Et küplerinin ağırlık kazanımı %1.46 ile %6.55 arasında belirlenmiştir. En yüksek ağırlık kazanımı, tuz çözeltisi emdirilmiş örneklerde

tespit edilmiş ve bu durum et küplerindeki protein yapının su tutma kapasitesinin artmasından kaynaklanmış olabilir. Tuz çözeltisine göre, hibiskus emdirilmiş örneklerde daha düşük ağırlık kazanımı tespit edilmiştir. Farklı emdirim çözeltilerinde et küplerinin farklı ağırlık kazanım oranlarına sahip olması, emdirim çözeltilerinin pH değerlerinin farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Malelak vd. (2017) tarafından hibiskus ekstraktında bulunan organik asitlerin, et dokusunu zayıflatarak suyun yapıdan

uzaklaşmasını kolaylaştırdığı bildirilmiştir. Benzer bir çalışmada, tavuk eti marinasyonunda %0.75 ve %1 oranlarında ardıç ekstraktının kullanılmasının hem marinasyon verimini hem de suyu tutma kabiliyetini azalttığı bildirilmiştir (Kavuşan vd., 2021). Farklı uygulama şartlarında vakum emdirim ile dana et küplerinin tuz çözeltisinde (%4) 180 dk. süre ile muamele edildiği çalışmada ise örneklerin nem içeriğinin %2.89 ile %3.79 aralığında yükseldiği rapor edilmiştir (Aykın-Dinçer 2021).

Çizelge 1. Hibiskus ekstraktlarının pH ve renk değerleri
Table 1. Hibiscus extracts of pH and color values

Emdirim Çözeltisi <i>Impregnation Solution</i>	pH	L*	a*	b*
1°Bx Hibiskus ekstraktı <i>1°Bx Hibiscus extract</i>	2.27 ^a ± 0.01	12.89 ± 0.03	0.74 ± 0.02	2.51 ± 0.01
2°Bx Hibiskus ekstraktı <i>2°Bx Hibiscus extract</i>	2.16 ^b ± 0.01	12.93 ± 0.11	0.80 ± 0.41	2.61 ± 0.11
4°Bx Hibiskus ekstraktı <i>4°Bx Hibiscus extract</i>	2.07 ^c ± 0.01	12.95 ± 0.02	1.30 ± 0.12	2.69 ± 0.03
Önem seviyesi <i>Significance</i>	**	NS	NS	NS

^{a,b,c} Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir.

^{a,b,c} Means with different letters within the column indicate differences.

NS Önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

NS Not Significant ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

Çizelge 2. Tavuk göğüs eti küplerinin vakumlu emdirim sonrası ağırlık kazanımı
Table 2. Weight gain of chicken breast meat cubes after vacuum impregnation

Emdirim Çözeltisi <i>Impregnation Solution</i>	Ağırlık kazanımı (%) <i>Weight gain (%)</i>
Kontrol <i>Control</i>	-
Tuz çözeltisi <i>Salt solution</i>	6.55 ^a ± 1.40
1°Bx Hibiskus ekstraktı <i>1°Bx Hibiscus extract</i>	1.46 ^b ± 0.60
2°Bx Hibiskus ekstraktı <i>2°Bx Hibiscus extract</i>	1.78 ^b ± 0.35
4°Bx Hibiskus ekstraktı <i>4°Bx Hibiscus extract</i>	1.68 ^b ± 0.86
Önem seviyesi <i>Significance</i>	*

^{a,b} Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir.

^{a,b} Means with different letters within the column indicate differences.

NS Önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

NS Not Significant ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

VE uygulanmış ve kurutulmuş tavuk göğüs eti küplerinin nem, a_w ve pH değerleri

Kurutulmuş et küplerinin nem ve a_w değeri üzerine, emdirim çözeltisinin önemli ($P < 0.05$;

$P < 0.01$) düzeyde etkili olduğu ve hibiskus emdirilmiş örneklerin daha yüksek nem ve a_w değerine sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Vakumlu emdirim uygulanmış ve kurutulmuş tavuk küplerinin nem, a_w , pH değerleri
Table 3. Moisture, a_w , pH values of vacuum impregnated and dried chicken cubes

Emdirim Çözeltisi Impregnation Solution	Nem (%)	a_w	pH
	Moisture (%)	a_w	pH
Kontrol Control	23.62 ^b ± 0.21	0.788 ^b ± 0.013	5.97 ^a ± 0.10
Tuz çözeltisi Salt solution	28.43 ^{ab} ± 1.34	0.777 ^b ± 0.003	6.08 ^a ± 0.04
1°Bx Hibiskus ekstraktı 1°Bx Hibiscus extract	33.77 ^a ± 2.42	0.864 ^a ± 0.002	5.06 ^b ± 0.01
2°Bx Hibiskus ekstraktı 2°Bx Hibiscus extract	35.15 ^a ± 1.49	0.882 ^a ± 0.007	4.72 ^c ± 0.04
4°Bx Hibiskus ekstraktı 4°Bx Hibiscus extract	35.18 ^a ± 2.43	0.857 ^a ± 0.009	4.42 ^d ± 0.01
Önem seviyesi Significance	*	**	**

^{a,b,c,d} Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir.

^{a,b,c,d} Means with different letters within the column indicate differences.

NS Önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

NS Not Significant ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

Kurutulmuş et küplerinin ortalama nem içeriği %31.23±1.63 ve a_w değeri 0.83±0.01 olarak belirlenmiş ve orta nemli gıda sınıfında olduğu (%20-50 nem içeriği ve 0.70-0.90 aralığında su aktivitesi, Huang ve Nip, 2001) tespit edilmiştir. Daha düşük nem değerlerine kurutma işlemi son ürünün duyu kalitesini olumsuz yönde etkileyeceğinden (Modi vd., 2007), literatürle uyumlu olarak küplerin orta nemli olması hedeflenmiştir (Aykın Dinçer, 2020; Jiang vd., 2016).

Bununla birlikte kontrol grubu ve tuz çözeltisi emdirildikten sonra kurutulan et küplerinin nem içeriklerinin hibiskus ekstraktı emdirildikten sonra kurutulan örneklerden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Hibiskus çözeltisindeki partiküllerin tavuk et küplerindeki gözenekleri doldurarak kurutmayı zorlaştırmış olabileceği ve bu örneklerin nem içeriğinin bu nedenle daha yüksek olduğu değerlendirilmiştir.

Kurutulmuş et küplerinin pH değeri üzerine, emdirim çözeltisinin önemli ($P < 0.01$) düzeyde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3). Kontrol grubu ve tuz çözeltisi emdirilmiş küplerin pH değerinin en yüksek olduğu ve bunu hibiskus ekstraktı emdirilmiş örneklerin takip ettiği belirlenmiştir. Emdirim çözeltilerinin pH değerinin farklı olması, son ürünün pH değerini etkilemiştir ve daha asidik (pH 2.17) olan hibiskus ekstraktının emdirildiği et küplerinde daha düşük pH değeri tespit edilmiştir. Ayrıca, konsantrasyon arttıkça hibiskus ekstraktının pH değerinin azalmasına benzer olarak, bu ekstraktlarla muamele edilmiş ve kurutulmuş et küplerinin pH değeri de 5.06'dan 4.42'ye azalmıştır. Hibiskus ekstraktının eklenmesi, ekstraktın asidik karakterinden dolayı üründe pH'yı düşürmüştür. Benzer olarak, köfte örneklerinde hibiskus miktarı (0.1–1.3%) arttıkça, pH değerinin azaldığı bildirilmiştir (Jung ve Joo, 2013). Bozkurt ve Belibağlı (2009) hibiskus ilave edilmiş kavurma örneklerinde pH değerini daha düşük (<6.0) tespit

etmişler ve bunu hibiskusun yüksek miktarda asidik bileşimler içermesiyle ilişkilendirmişlerdir. Benzer şekilde, Gök ve Bor (2016) sebze suyu karışımı (havuç, domates, kabak, siyah havuç, salatalık ve marul) ile 48 saat marine edilmiş hindi göğüs etinin pH değerlerinde azalma tespit etmişlerdir. Erge vd. (2018) ise, elma ve erik konsantreleri ile yapılan tavuk eti marinasyonunda pH değerinin düştüğünü bildirmiştir. Diğer taraftan, sucuk örneklerinin pH değeri üzerine, hibiskus ilavesinin önemli bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Karabacak ve Bozkurt, 2008). Farklı oranlarda (%0, %0.5, %1) hibiskus ekstraktı ilave edilen probiyotik keçi sütü örneklerinin pH

değerinde de önemli bir farklılık tespit edilememiştir (Nuraeni vd., 2014).

VE uygulanmış ve kurutulmuş tavuk göğüs eti küplerinin renk değerleri

L^* , a^* ve b^* değerleri üzerine, emdirim çözeltisinin önemli ($P < 0.01$) düzeyde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4). Tuz çözeltisi emdirilmiş örnekler, kontrol örneğine göre daha yüksek L^* değeri ve daha düşük a^* değerine sahip olmuştur. Tavuk etindeki renk pigmentlerinin tuzlu suda çözünmesine bağlı olarak renk kaybı meydana gelmiş olabilir.

Çizelge 4. Vakumlu emdirim uygulanmış ve kurutulmuş tavuk küplerinin renk değerleri

Table 4. Color values of vacuum impregnated and dried chicken cubes

	L^*	a^*	b^*
Emdirim Çözeltisi <i>Impregnation Solution</i>			
Kontrol <i>Control</i>	37.52 ^b ± 0.27	10.12 ^a ± 0.08	18.06 ^b ± 0.01
Tuz çözeltisi <i>Salt solution</i>	38.97 ^a ± 0.15	8.16 ^b ± 0.04	18.68 ^a ± 0.07
1°Bx Hibiskus ekstraktı <i>1°Bx Hibiscus extract</i>	23.50 ^c ± 0.30	10.47 ^a ± 0.33	10.32 ^c ± 0.19
2°Bx Hibiskus ekstraktı <i>2°Bx Hibiscus extract</i>	21.05 ^d ± 0.09	9.71 ^a ± 0.15	5.77 ^d ± 0.07
4°Bx Hibiskus ekstraktı <i>4°Bx Hibiscus extract</i>	19.35 ^e ± 0.33	4.17 ^c ± 0.29	2.08 ^e ± 0.01
Önem seviyesi <i>Significance</i>	**	**	**

a,b,c,d,e Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir.

a,b,c,d,e Means with different letters within the column indicate differences.

NS Önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

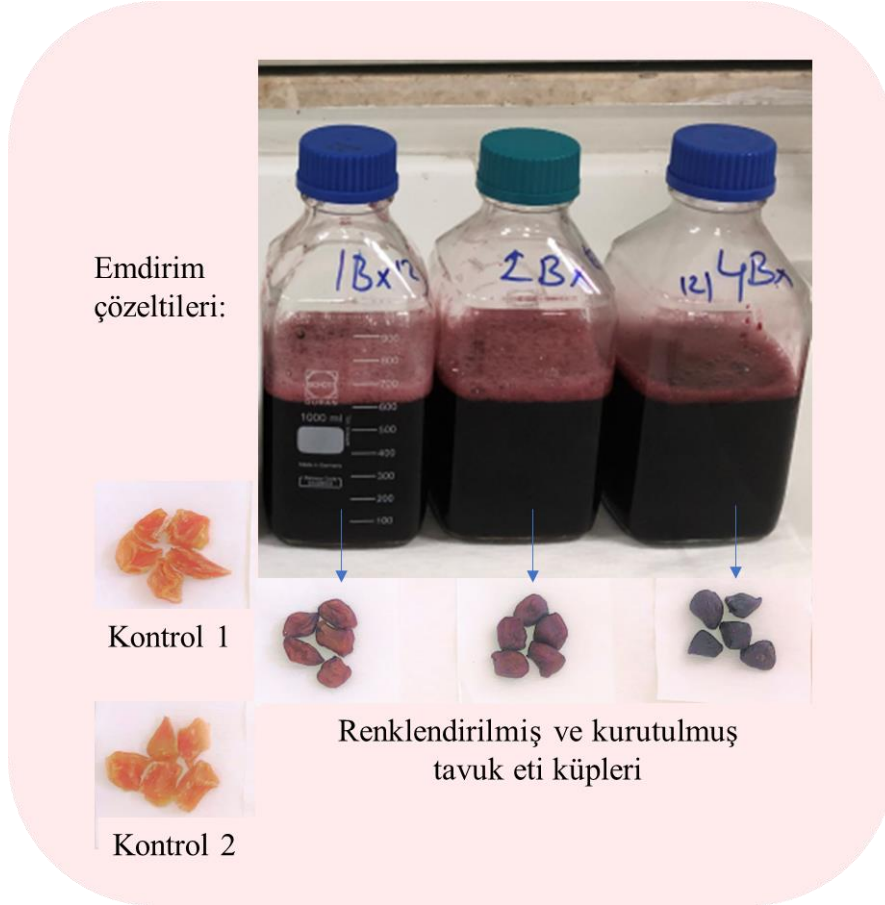
NS Not Significant ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

Hibiskus ekstraktları ile muamele edilen örneklerde konsantrasyon arttıkça L^* , a^* ve b^* değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4, Şekil 1). Örneklerin renk değerlerindeki bu azalma, hibiskus konsantrasyonu arttıkça koyu renkli ekstraktın antosiyanin içeriğinin artmasından kaynaklanmış olabilir. Tüm konsantrasyon düzeylerinde yakın renk değerlerine sahip olan hibiskus ekstraktlarının renk farkı, tavuk etine emdirildiğinde ortaya çıkmış ve konsantrasyon arttıkça et küpleri daha koyu bir mor renge sahip olmuştur. Çalışma sonuçları ile uyumlu olarak, kontrol grubuna

kıyasla %3 hibiskus ekstraktı ile marine edilen örneklerde daha düşük L^* , a^* ve b^* değeri tespit etmiştir (Malelak vd. 2017). Márquez-Rodríguez vd. (2020) tarafından hibiskus ekstraktı ile muamele edilen sığır etlerinin L^* , a^* ve b^* değerlerinin, ekstraktla muamele edilmeyen kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. Hibiskus ekstraktının %1 oranında köfte formülasyonuna dahil edildiği başka bir çalışmada da, tüm renk parametrelerinde azalma tespit edilmiştir (Pérez-Báez vd., 2020). Jung ve Joo (2013) köfte örneklerinde hibiskus miktarı (0.1–1.3%) arttıkça, L^* ve b^* değerlerinin

azaldığını, a^* değerinin ise arttığını bildirmişlerdir. Bozkurt ve Belibağlı (2009) hibiskus ilavesinin pişmiş kavurma örneklerinde L^* değeri üzerinde

etkili olmadığını, ancak a^* ve b^* değerlerini azalttığını bildirmiştir.



Şekil 1. Emdirim çözeltileri ve renklendirilmiş tavuk eti küplerinin görünümü
Figure 1. Appearance of impregnation solutions and colored chicken meat cubes

Hibiskus ekstraktı emdirilmiş ve kurutulmuş tavuk göğüs eti küplerinin toplam monomerik antosiyanin, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri

Toplam monomerik antosiyanin miktarı üzerine, emdirim çözeltisinin önemli ($P < 0.01$) düzeyde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 5). Kontrol grubu ve tuz çözeltisi emdirilmiş küplerde toplam monomerik antosiyanin tespit edilememiştir. Hibiskus ekstraktının konsantrasyonu 1°Bx 'den 4°Bx 'e yükseldiğinde, kurutulmuş küplerin toplam monomerik antosiyanin miktarı 35.37 mg/kg 'dan 50.75 mg/kg 'e yükselmiştir. Bu durum, et küplerinin daha yoğun bir şekilde mor renkli olmasını sağlamıştır. Christian ve Jackson

(2009), *Hibiscus sabdariffa*'nın üç varyetesi ile gerçekleştirdikleri çalışmada toplam monomerik antosiyanin içeriğini 0.02 ile 3.45 mg/g aralığında bildirmişlerdir. Sindi vd. (2014) ise *Hibiscus sabdariffa* için toplam monomerik antosiyanin miktarını 0 ile 6 mg/g arasında bildirmiştir. Bu sonuçlara göre, et küplerine emdirilen antosiyaninlerin (0.04 - 0.05 mg/g) kurutma sırasında sıcaklık ve oksijenin etkisiyle bir miktar parçalanmış olabileceği değerlendirilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarları üzerine, emdirim çözeltisinin önemli ($P < 0.01$) düzeyde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 5). Kontrol grubu ve tuz çözeltisi emdirilmiş küplerde toplam

fenolik madde tespit edilememiştir. Hibiskus ekstraktının konsantrasyonu arttıkça, kurutulmuş küplerin toplam fenolik madde miktarı artmıştır. Benzer olarak, %1 oranında hibiskus ekstraktı içeren sığır köftesi örneklerinin toplam fenolik madde miktarı 211.7 mg GAE/kg olarak belirlenmiştir (Pérez-Báez vd., 2020). Dünya çapında yetiştirilmiş 25 farklı *Hibiskus sabdariffa* türüne ait yaprak örneklerinin toplam fenolik içeriği ortalama 22.92 mg GAE/g olarak

bildirilmiştir (Zhen vd., 2016). Dinçer (2021) hibiskus ekstraktlarının (2°Bx) toplam fenolik madde içeriğini 800 - 840 mg/kg GAE aralığında tespit etmiştir. Gök ve Bor (2016) 14°Bx'lik sebze suyu karışımı ile marine edilen hindi göğüs etinin toplam fenolik madde içeriğini 210.56 mg/kg GAE olarak bildirmişlerdir. Dolayısıyla, vakumlu emdirim tekniği sayesinde et ürünlerinin daha yüksek miktarlarda fenolik madde içerebileceği değerlendirilmiştir.

Çizelge 5. Vakumlu emdirim uygulanmış ve kurutulmuş tavuk küplerinin toplam monomerik antosiyanin, toplam fenolik ve antioksidan aktivite değerleri

Table 5. Total monomeric anthocyanin, total phenolic and antioxidant activity values of vacuum impregnated and dried chicken cubes

	Toplam monomerik antosiyanin (mg/kg)	Toplam fenolik (mg/kg GAE)	Antioksidan aktivite (mg/kg TE)
	<i>Total monomeric anthocyanin (mg/kg)</i>	<i>Total phenolic (mg/kg GAE)</i>	<i>Antioxidant activity (mg/kg TE)</i>
Emdirim Çözeltisi			
Impregnation Solution			
Kontrol	-	-	-
<i>Control</i>			
Tuz çözeltisi	-	-	-
<i>Salt solution</i>			
1°Bx Hibiskus ekstraktı	35.37 ^c ± 0.40	643.06 ^c ± 42.36	2573.54 ^b ± 103.85
<i>1°Bx Hibiscus extract</i>			
2°Bx Hibiskus ekstraktı	45.54 ^b ± 0.65	845.83 ^b ± 11.81	2769.69 ^b ± 115.39
<i>2°Bx Hibiscus extract</i>			
4°Bx Hibiskus ekstraktı	50.75 ^a ± 2.46	1251.39 ^a ± 31.25	4454.31 ^a ± 323.08
<i>4°Bx Hibiscus extract</i>			
Önem seviyesi	**	**	*
<i>Significance</i>			

GAE: gallik asit eşdeğeri, TE: trolox eşdeğeri

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent

^{a,b,c} Sütun içindeki farklı harflerle gösterilen ortalama değerler, farklılıkları göstermektedir.

^{a,b,c} Means with different letters within the column indicate differences.

NS Önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

NS Not Significant ($P > 0.05$); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

Emdirim çözeltisi olarak 1 ve 2°Bx'lik hibiskus ekstraktı kullanıldığında, et küplerinin antioksidan aktivite değerleri arasında istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Tavuk eti küplerinde en yüksek ($P < 0.05$) antioksidan aktivite 4°Bx hibiskus ekstraktı emdirildiğinde tespit edilmiştir (Çizelge 5). Hibiskus ekstraktı polifenoller, organik asitler, antosiyaninler ve flavonoidler gibi biyoaktif bileşikler açısından zengindir. Bu biyoaktif

bileşiklerden antosiyaninler ve flavonoidler ise, ekstraktın antioksidan aktivitesinden sorumludur (Pérez-Báez vd., 2020). Unal vd. (2020) karadut, üzüm ve nar suları ile marine edilmiş tavuk göğüs etlerinin antioksidan aktivitelerinin arttığını bildirmişlerdir. Rupasinghe vd. (2022) mango, ananas ve altın elma suları ile marine edilmiş tavuk kanatlarının antioksidan aktivitesini marine edilmemiş örneklerle göre, yaklaşık 2 kat daha yüksek tespit etmişlerdir. Delfinidin-3-sambiosit

ve siyanidin-3-sambiosit'in hibiskusun antioksidan aktivitesinden de sorumlu başlıca iki antosiyanin olduğu bildirilmiştir (Christian vd., 2006). Bununla birlikte, Zhen vd. (2016) tarafından hibiskus örneklerinin antioksidan aktiviteleri, polifenollerin in vitro ve in vivo olarak radikalleri azaltmasıyla ilişkilendirilmiştir. Başka bir çalışmada, Naji vd. (2021) hibiskus ekstraktlı soğuk çayların antioksidan aktivitelerini DPPH yöntemi ile 323-505 mg/L TE aralığında tespit etmişler ve örneklerin farklı miktarlarda hibiskus içermesinin antioksidan aktivite değerlerine yansımadağını bildirilmiştir.

SONUÇ

Çalışma kapsamında 1, 2 ve 4°Bx olmak üzere farklı konsantrasyonlarda hazırlanan hibiskus sulu ekstraktları tavuk eti küplerinin VE tekniği kullanılarak biyoaktif bileşenlerce zenginleştirilmesinde kullanılmıştır. Gıda endüstrisinde bitki çayı, sıcak ve soğuk içecekler, reçel, şekerlemeler, dondurma, çikolata, tatlandırıcılar, puding ve pasta gibi ürünlerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan hibiskus ekstraktlarının biyoaktif bileşenlerinin yanı sıra, cezbedici rengi tüketici tercihleri üzerinde en önemli etkenlerden biri olan ürün rengine de önemli katkı sağlamaktadır. Bu kapsamda çalışmada emdirim çözeltisi olarak kullanılan hibiskus ekstraktının konsantrasyonu arttıkça, küplerin daha yoğun bir mor renge sahip olduğu ve toplam monomerik antosiyanin, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca hazırlanan ekstraktların asidik karakterde olduğu (pH=2.28-2.41) dikkate alındığında uygulama süreci ve son üründe mikrobiyal yük ve ürünün yapısal özelliklerindeki etkileri de önem arz etmektedir. Sonuç olarak, hibiskus ekstraktları ile muamele edilen tavuk eti küplerinin kurutulduktan sonra da önemli düzeyde biyoaktif bileşen içermesi, zenginleştirme işleminde vakum emdirim işleminin etkili olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte özellikle emdirim çözeltisinin konsantrasyonu başta olmak üzere, çalışılan şartlarının optimize edilmesi nihai ürünün kalitesi üzerine önemli düzeyde katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Akyüz, S., Güneşer, O., Esen, B.N. (2020). Farklı Marinasyon Formülasyonları ile Hazırlanmış Hindi Göğüs Etlerinin Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri. *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2):190–205.

Anonymous. (2022). Beyaz Et Sanayicileri ve Damızlıkçıları Birliği Derneği, Kanatlı Eti Sektörü, İstatistikler, Ankara, Turkey. <https://besd-bir.org/tr/statistikler> Erişim Tarihi: 09.03.2022

Anonymous. (2019). Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği (2018/52). Tarım ve Orman Bakanlığı, 29 Ocak 2019 tarih ve 30670 sayılı Resmi Gazete, Ankara.

AOAC. (2000). Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 17th edition. AOAC, Washington DC.

Aykın Dinçer, E. (2020). Soğuk kurutulmuş tavuk eti dilimlerinin bazı kalite özellikleri. *GIDA*, 45(2):262–274.

Aykın-Dinçer, E., Erbaş, M. (2018). Etin tuzlanması işleminde vakumlu emdirim tekniğinin kullanılması. *GIDA*, 43(1):139–150.

Aykın-Dinçer, E. (2021). Application of ultrasound-assisted vacuum impregnation for improving the diffusion of salt in beef cubes. *Meat Science*, 176:108469.

Aykın-Dinçer, E., Güngör, K.K., Çağlar, E., Erbaş, M. (2021). The use of beetroot extract and extract powder in sausages as natural food colorant. *International Journal of Food Engineering*, 17(1):75–82.

Bampi, M., Domschke, N.N., Schmidt, F.C., Laurindo, J.B. (2016). Influence of vacuum application, acid addition and partial replacement of NaCl by KCl on the mass transfer during salting of beef cuts. *LWT - Food Science and Technology*, 74:26–33.

Bozkurt, H., Belibağlı, K.B. (2009). Use of rosemary and *Hibiscus sabdariffa* in production of kavurma, a cooked meat product. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(7):1168–1173.

- Castañeda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M.E., Rodríguez, J.A., Galán-Vidal, C.A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4):859–871.
- Choi, Y.S., Han, D.J., Choi, J.H., Hwang, K.E., Song, D.H., Kim, H.W., Kim, Y.B., Kim, C.J. (2016). Effect of chicken skin on the quality characteristics of semi-dried restructured jerky. *Poultry Science*, 95(5):1198–1204.
- Chumsri, P., Sirichote, A., Itharat, A. (2008). Studies on the optimum conditions for the extraction and concentration of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) extract. *Songklanakarın Journal of Science & Technology*, 30:133–139.
- Christian, K.R., Jackson, J.C. (2009). Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(7-8):663–667.
- Christian, K., Nair, M., Jackson, J. (2006). Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory activity of Sorrel (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19:778–783.
- de Medeiros, R.A.B., da Silva Júnior, E.V., da Silva, J.H.F., Neto, O.D.C.F., Brandão, S.C.R., Barros, Z.M.P., da Rocha O.R.S., Azoubel, P.M. (2019). Effect of different grape residues polyphenols impregnation techniques in mango. *Journal of Food Engineering*, 262:1–8.
- Demir, H., Çelik, S., Sezer, Y.Ç. (2021). Effect of ultrasonication and vacuum impregnation pretreatments on the quality of beef marinated in onion juice a natural meat tenderizer. *Food Science and Technology International*, in press. DOI: 10.1177/10820132211012919
- Deumier, F., Bohuon, P., Trystram, G., Saber, N., Collignan, A. (2003). Pulsed vacuum brining of poultry meat: experimental study on the impact of vacuum cycles on mass transfer. *Journal of Food Engineering*, 58:75–83.
- Dinçer, C. (2021). Termal ve ultras ses proseslerinin adaçayı ve hibiskus ekstraktlarının bazı kalite özellikleri üzerine etkisi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 34(1):33–39.
- Dinçer, C., Tongur, T., ErKaymaz, T. (2020). Farklı ekstraksiyon yöntemlerinin hibiskus ekstraktlarının kalite özellikleri üzerine etkisinin araştırılması. *Gıda*, 45(3):409–420.
- Dinçer, C. (2022). Modeling of hibiscus anthocyanins transport to apple tissue during ultrasound-assisted vacuum impregnation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(6): e15886.
- Erge, A., Cin, K., Şeker, E. (2018). Erik ve elma suyunun tavuk eti marinasyonunda kullanılması. *GIDA*, 43(6):1040–1052.
- Ergezer, H., Gökçe, R. (2004). Kanatlı etlerinin marinasyon tekniği ile işlenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10(2):227–233.
- Fernández-León, M.F., Fernández-León, A.M., Lozano, M., Ayuso, M.C., Amodio, M.L., Colelli, G., González-Gómez, D. (2013). Retention of quality and functional values of broccoli 'Parthenon' stored in modified atmosphere packaging. *Food Control*, 31(2):302–313.
- Gök, V., Bor, Y. (2016). Effect of marination with fruit and vegetable juice on the some quality characteristics of turkey breast meat. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 18:481–488.
- Guiamba, I., Ahrné, L., Khan, M.A.M., Svanberg, U. (2016). Retention of β -carotene and vitamin C in dried mango osmotically pretreated with osmotic solutions containing calcium or ascorbic acid. *Food and Bioproducts Processing*, 98:320–326.
- Hii, C.L., Itam, C.E., Ong, S.P. (2014). Convective air drying of raw and cooked chicken meats. *Drying Technology*, 32(11):1304–1309.
- Huang, T.C., Nip, W.K. (2001). Intermediate-moisture meat and dehydrated meat. In: *Meat Science and Applications*, Hui, Y.H. (chief ed.), Marcel Dekker Inc., New York, the USA, pp. 403–442.
- Jiang, N., Xu, B., Zhao, L., Huang, M., Zhou, G. (2016). Effects of high-temperature–short time (HTST) drying process on proteolysis, lipid oxidation and sensory attributes of Chinese dry-

- cured chicken. *CyTA—Journal of Food*, 14(3):440–448.
- Jung, E., Joo, N. (2013). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) and soybean oil effects on quality characteristics of pork patties studied by response surface methodology. *Meat Science*, 94(3):391–401.
- Karabacak, S., Bozkurt, H. (2008). Effects of *Urtica dioica* and *Hibiscus sabdariffa* on the quality and safety of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *Meat Science*, 78(3):288–296.
- Kavuşan, H.S., Kerimoğlu, B.Ö., Sharefiabadi, E., Serdaroğlu, M. (2021). Tavuk eti marinasyonunda ardiç (*Juniperus communis* L.) ekstraktı kullanımının etkilerinin araştırılması. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 25(3):390–405.
- Lima, M.M., Tribuzi, G., Souza, J.A.R. de, Souza, I.G., Laurindo, J.B., Carciofi, B.A.M. (2016). Vacuum impregnation and drying of calcium-fortified pineapple snacks. *LWT - Food Science and Technology*, 72:501–509.
- Liu, S., Xu, Q., Li, X., Wang, Y., Zhu, J., Ning, C., Chang, X., Meng, X. (2016). Effects of high hydrostatic pressure on physicochemical properties, enzymes activity, and antioxidant capacities of anthocyanins extracts of wild *Lonicera caerulea* berry. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 36:48–58.
- Luo, W., Tappi, S., Patrignani, F., Romani, S., Lanciotti, R., Rocculi, P. (2019). Essential rosemary oil enrichment of minimally processed potatoes by vacuum-impregnation. *Journal of Food Science and Technology*, 56(10):4404–4416.
- Malelak, G.E.M., Lalel, H.J.D., Kale, P.R., Jelantik, I.G.N. (2017). The Sensory Properties, Color, Microbial, Lipid Oxidation, and Residual Nitrite of Se'i Marinated with Lime and Roselle Calyces Extracts. *Media Peternakan*, 40(3):194–201.
- Márquez-Rodríguez, A.S., Nevárez-Baca, S., Lerma-Hernández, J.C., Hernández-Ochoa, L. R., Nevárez-Moorillon, G.V., Gutiérrez-Méndez, N., Muñoz-Castellanos, L.N., Salas, E. (2020). In vitro antibacterial activity of *Hibiscus sabdariffa* L. phenolic extract and its in situ application on shelf-life of beef meat. *Foods*, 9(8), 1080.
- Mazaheri Kalahrodi, M., Baghaei, H., Emadzadeh, B., Bolandi, M. (2021). The combined effect of asparagus juice and balsamic vinegar on the tenderness, physicochemical and structural attributes of beefsteak. *Journal of Food Science and Technology*, 58(8):3143–3153.
- Modi, V.K., Sachindra, N.M., Nagegowda, P., Mahendrakar, N.S., Narasimha Rao, D. (2007). Quality changes during the storage of dehydrated chicken kebab mix. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(7):827–835.
- Moreno, J., Echeverria, J., Silva, A., Escudero, A., Petzold, G., Mella, K., Escudero, C. (2017). Apple snack enriched with L-arginine using vacuum impregnation/ohmic heating technology. *Food Science and Technology International*, 23(5):448–456.
- Naji, A., Berktaş, S., Çam, M. (2021). Hibiskus (*Hibiscus sabdariffa* L.) Ekstraktı Tozu ile Soğuk Çay Üretimi: Antioksidan Aktivite ve Duyusal Özellikler. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (31):831–836.
- Nuraeni, E., Arief, I., Soenarno, M.S. (2014). Characteristics of probiotic koumiss from goat milk with addition of Roselle extract (*Hibiscus sabdariffa* Linn). *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 39(2): 117–125.
- Pérez-Báez, A.J., Camou, J.P., Valenzuela-Melendres, M., González-Aguilar, G., Viuda-Martos, M., Sebranek, J.G., Tortoledo-Ortiz, O. (2020). Effects and interactions of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), potato peel flour, and beef fat on quality characteristics of beef patties studied by response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9): e14659.
- Ramírez, N., Vega-Castro, O., Simpson, R., Ramirez, C., Nuñez, H. (2021). Effect of pulsed vacuum and laser microperforations on the potential acceleration of chicken meat marination. *Journal of Food Process Engineering*, 44(3):e13627.
- Ramirez-Rodrigues, M. M., Plaza, M. L., Azeredo, A., Balaban, M. O., Marshall, M. R. (2011). Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Food Science*, 76(3):C428-C435.

- Rascón, M.P., Huerta-Vera, K., Pascual-Pineda, L.A., Contreras-Oliva, A., Flores-Andrade, E., Castillo-Morales, M., Bonilla, E., González-Morales, I. (2018). Osmotic dehydration assisted impregnation of *Lactobacillus rhamnosus* in banana and effect of water activity on the storage stability of probiotic in the freeze-dried product. *LWT – Food Science and Technology*, 92:490–496.
- Rupasinghe, R.A., Alahakoon, A.U., Alakolanga, A.W., Jayasena, D.D., Jo, C. (2022). Oxidative Stability of Vacuum-Packed Chicken Wings Marinated with Fruit Juices during Frozen Storage. *Food Science of Animal Resources*, 42(1):61–72.
- Serio, A., Chaves-López, C., Rossi, C., Pittia, P., Rosa, M.D., Paparella, A. (2017). Salting by vacuum brine impregnation in nitrite-free lonza: effect on Enterobacteriaceae. *Italian Journal of Food Safety*, 6:23–27.
- Shiekh, K.A., Benjakul, S., Gulzar, S. (2021). Impact of pulsed electric field and vacuum impregnation with Chamuang leaf extract on quality changes in Pacific white shrimp packaged under modified atmosphere. *LWT- Food Science and Technology*, 149: 111899.
- Sindi, H.A., Marshall, L.J., Morgan, M.R. (2014). Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of *Hibiscus sabdariffa*. *Food Chemistry*, 164:23–29.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A.R., Simonič, M., Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89(2):191–198.
- Unal, K., Alp, H., Babaoglu, A.S., Karakaya, M. (2020). Different properties of chicken and turkey breast fillets marinated with fruit juices. *Fleischwirtschaft*, 100(2):88–93.
- Wang, W.D., Xu, S.Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*, 82(3):271–275.
- Yıldırım, G. (2020). Kışniş ve sarımsak oleoresini ile marine edilmiş tavuk göğüs etlerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tokat, Türkiye, 61 s.
- Yılmaz, F.M., Ersus Bilek, S. (2018). Ultrasound-assisted vacuum impregnation on the fortification of fresh-cut apple with calcium and black carrot phenolics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48:509–516.
- Zhao, X., Chen, L., Wongmaneepratip, W., He, Y., Zhao, L., Yang, H. (2021). Effect of vacuum impregnated fish gelatin and grape seed extract on moisture state, microbiota composition, and quality of chilled seabass fillets. *Food Chemistry*, 354:129581.
- Zhen, J., Villani, T.S., Guo, Y., Qi, Y., Chin, K., Pan, M.H., Ho, C.T., Simon, J.E., Wu, Q. (2016). Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves. *Food Chemistry*, 190:673–680.

ULTRASES DESTEKLİ OZMOTİK DEHİDRASYON ÖN İŞLEMİNİN BALKABAĞI (*Cucurbita moschata*) KURUTMA KİNETİĞİ VE BAZI FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Osman Gül¹, Nilüfer Açıkgöz¹, Latife Betül Gül^{2*}

¹Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kastamonu, Türkiye

²Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Giresun, Türkiye

Geliş / Received: 06.07.2022; Kabul / Accepted: 21.09.2022; Online baskı / Published online: 05.10.2022

Gül, O., Açıkgöz, N., Gül, L.B. (2022). Ultrases destekli ozmotik dehidrasyon ön işleminin balkabağı (*Cucurbita moschata*) kurutma kinetiği ve bazı fonksiyonel özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2022) 47 (5) 874-888 doi: 10.15237/gida.GD22065

Gül, O., Açıkgöz, N., Gül, L.B. (2022). Effect of ultrasound assisted osmotic dehydration pre-treatment on drying kinetics and some functional properties of pumpkin (*Cucurbita moschata*). *GIDA* (2022) 47 (5) 874-888 doi: 10.15237/gida.GD22065

ÖZ

Bu çalışmada balkabağının (*Cucurbita moschata*) kurutma kinetiği ve bazı fonksiyonel özellikleri üzerine ultrases destekli ozmotik dehidrasyon (US-OD) ön işleminin etkisi araştırılmıştır. Örnekler 3 farklı konsantrasyonda (%12.5, %25 ve %50) şeker çözeltisi içeren ultrasonik banyo içerisinde kavitasyon işlemi ile (45 kHz, 90 dakika) dehidre edilmiş ve ardından sıcak havada kurutma yöntemi kullanılarak 60°C sıcaklıkta kurutulmuştur. US-OD işlemi ile birlikte en yüksek su kaybı ve katı madde kazanımı %50'lik ozmotik çözelti kullanılarak dehidre edilen örnekte tespit edilmiştir. US-OD işlemi şeker çözeltisi konsantrasyonuna bağlı olarak kurutma süresini kontrol örneğine göre yaklaşık 180 dakika kısaltmıştır. Bununla birlikte ozmotik çözeltinin şeker konsantrasyonuna bağlı olarak rehidrasyon oranında azalma gözlenmiştir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı (120.08 mg GAE/100 g kuru ağırlık) ve antioksidan kapasite (%38.21) %50'lik ozmotik çözeltide dehidre edilen ve kurutulan örnekte belirlenmiştir. Elde edilen çıktılar matematiksel modellere uyarlandığında US-OD ön işlemi uygulanmış balkabağının kurutulmasını en iyi tanımlayan modelin Page modeli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Balkabağı, kurutma, ultrases, ozmotik dehidrasyon

EFFECT OF ULTRASOUND ASSISTED OSMOTIC DEHYDRATION PRE-TREATMENT ON DRYING KINETICS AND SOME FUNCTIONAL PROPERTIES OF PUMPKIN (*Cucurbita moschata*)

ABSTRACT

In this study, the effect of ultrasound assisted osmotic dehydration (US-OD) pretreatment on drying kinetics and some functional properties of pumpkin (*Cucurbita moschata*) were investigated. The samples were dehydrated by cavitation (45 kHz, 90 minutes) in an ultrasonic bath containing sugar solution with three different concentrations (12.5%, 25% and 50%) and then dried with oven at 60°C. With the US-OD process, the highest water loss and solid gain were detected in the sample

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author

✉: latife.betul@giresun.edu.tr

☎: (+90) 454 310 1740

☎: (+90) 454 310 1749

Osman Gül, ORCID no: 0000-0003-1620-4246

Nilüfer Açıkgöz, ORCID no: 0000-0002-8473-9560

Latife Betül Gül, ORCID no: 0000-0002-4732-7727

dehydrated using osmotic solution with 50% concentration. Depending on the sugar solution concentration of the US-OD process, the drying time was shortened by approximately 180 min compared to the control sample. However, a decrease in the rehydration rate was observed depending on the sugar concentration of osmotic solution. The highest total phenolic content (120.08 mg GAE/100 g dry weight) and antioxidant capacity (38.21%) were determined in the sample dehydrated in osmotic solution with 50% concentration and dried. When the outputs obtained from the study were adapted to the mathematical models, it was concluded that the best describing model drying of the US-OD pre-treated pumpkin was the Page model.

Keywords: Pumpkin, drying, ultrasound, osmotic dehydration

GİRİŞ

Balkabağı, antioksidan, amino asit, polisakkarit, lif ve beta-karoten, vitamin C, E ve B₆ gibi vitaminler ve aynı zamanda potasyum, fosfor, magnezyum, demir ve selenyum gibi mineralleri yüksek oranda bulunduran *Cucurbitaceae* familyasına ait bir meyvedir (Jansrimanee ve Lertworasirikul, 2020; Gliemmo vd., 2009; Nawirska vd., 2009). Taze balkabağı toplam kütledeki 2-10 mg/100 g arası karotenoid, 9-10 mg/100 g arası vitamin C ve 1.03-1.06 mg/100 g arası vitamin E yüksek besinsel içeriğini etkileyen önemli faktördür (Nawirska vd., 2009). Kurutma, az miktarda su içeriği ile kararlı ürünler elde etmek için; gıda muhafaza yöntemi olarak endüstriyel boyutta yaygın şekilde kullanılan önemli, temel bir işlemdir (Carvalho vd., 2020). Gıdadan suyun uzaklaştırılmasıyla enzimatik aktivite ve mikrobiyal gelişim inhibe edilmekte, ürünün ağırlığı düşmekte ve aynı zamanda depolama ve nakliye problemleri azalmaktadır (Ahmad ve Zaidi, 2020). Balkabağı dilimleri genellikle konvektif kurutma yoluyla kurutulmaktadır (Nawirska vd., 2009). Konvektif kurutmanın zaman ve enerji tüketen (Carvalho vd., 2020) ayrıca nihai üründe kimyasal (besinsel değer), fiziksel (çözünabilir katı içeriği) ve duyuşal (tekstür, renk, tat, aroma) gibi bazı kalite parametrelerini olumsuz şekilde etkileyen bir işlem olması sebebiyle bu olumsuz tarafları elemine edici alternatif ön işlemlerin geliştirilmesi gerekmektedir (Bozkir ve Ergün, 2020). Kurutma işleminin ve kurutulmuş ürünün nihai özelliklerinin iyileştirilmesi için yeni alternatif teknikler geliştirmeye dayalı çeşitli çalışmalar literatürde mevcuttur (Ahmad ve Zaidi, 2020; Carvalho vd., 2020). Ultrases (US) ve ozmotik dehidrasyon (OD) uygulamaları bu ön işlemlerdendir (Nowacka vd., 2021; Bozkir ve Ergün, 2020) ve kurutma öncesi meyve ve

sebze için besinsel öğelerinin tutulumu için uygulanan modern tekniklerdir (Tayyab Rashid vd., 2020). US ve OD uygulamaları düşük maliyetli ve komplike olmayan işlem olmalarından dolayı diğer işlemlere göre daha fazla dikkat çekmektedir (Ahmad ve Zaidi, 2020; Bozkir ve Ergün, 2020).

OD, gıdanın uygun konsantrasyon bir çözelti ile direkt teması sonucunda dokulardan kısmi suyun uzaklaştırılması işlemidir (Hosseinzadeh Samani vd., 2021; Jansrimanee ve Lertworasirikul, 2020). Bu işlemde meyve veya sebze hiper-tonik bir çözelti içine daldırılarak hücre duvarlarının yarı geçirgen zar gibi davranması sağlanmaktadır (Hashemi ve Jafarpour, 2021; Mokhtarian vd., 2014). Hiper-tonik çözelti ile intraselüler akışkanlar arasında konsantrasyon farkı olması sebebiyle dokulardan ozmotik çözelti içerisine suyun difüzyon hareketi oluşturulmaktadır. Sonuç olarak hücre suyu ve bazı çözünen bileşenler ozmotik çözelti içerisine sızmakta ve aynı zamanda çözgen de hücreler arasına sızmaktadır (Hashemi ve Jafarpour, 2021; Hosseinzadeh Samani vd., 2021; Nowacka vd., 2021). OD sonrası yapılan kurutma işlemiyle gıda ürününün kalitesinin arttığı kanıtlanmıştır (Rahaman vd., 2019). Ancak önemle bahsetmek gerekir ki ozmotik uygulama esnasında kütle transferi genellikle yavaş gerçekleşmektedir (Azarpazhooh vd., 2020; Shekar ve Javadi, 2019). Bu yüzden uygulama süresince veya öncesinde kütle transfer hızını arttırmak için vurgulu vakum, vurgulu elektrik alan, yüksek hidrostatik basınç, radyasyon, merkezkaç kuvveti, ultrases gibi OD ile kombine bir dizi teknik geliştirilmiştir (Nowacka vd., 2021; Azarpazhooh vd., 2020; Prithani ve Dash, 2020).

Ultrases (US), insan kulağının işitme eşiğinden daha yüksek bir frekansa sahip (18 kHz–100

MHz) ses dalgaları tarafından üretilen enerji şeklindedir. Ses dalgaları belirli frekans, uzunluk ve genlik ile karakterize edilmektedir (Nowacka vd., 2021). Gıda işlemede genellikle fiziksel ve kimyasal etkisine bağlı olarak 20 kHz ile 1 MHz dalga boyu aralığında değişen US uygulamaları gerçekleştirilmektedir. US destekli OD işlemi (US-OD) gıda materyali yüzeyindeki ultrasonik etkiyi ve ozmotik basınç etkisini kombine ederek dehidrasyon esnasında kütle aktarımını hızlandırmaktadır (Bchir vd., 2020). US-OD ile sıvı fazda kaviteler oluşmakta ve meydana gelen mikro ajitasyon ile kütle transferinin hızı artmakta ve zar yüzeyinde katı difüzyon kalınlığı azalmaktadır. Katı fazda, alternatif sıkışmalar ve genişlemeler sünger benzeri bir etki ile sonuçlanmakta; böylece katı ortamdan suyun akışını kolaylaştıran mikrokanallar oluşmaktadır (Sakooei-Vayghan vd., 2020). Ayrıca gözeneklerde sıkışan gazın genişmesi ile ozmotik çözelti tarafından doldurulacak boş gözeneklerin oluşmasına yol açmaktadır (Pantelidou vd., 2021).

Metabolitler ve antioksidanlar gibi biyoaktif bileşiklerin ve bazı diğer fitokimyasalların tüketimi insan sağlığı için çok önemlidir (Rahaman vd., 2019). US-OD işlemi düşük enerji maliyeti, ürünlerdeki biyoaktif bileşenlerin muhafazası, proses zamanını ve maliyetini azaltması avantajlarına bağlı olarak gıda muhafazası ve işlenmesinde mükemmel bir yaklaşım olabilmektedir (Bchir vd., 2020). Literatürde çeşitli meyve ve sebzelerin kurutulmasından önce ön işlem olarak US-OD'nun su ve kuru madde kaybının kinetiği üzerine etkisinin araştırıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur (Rahaman vd., 2019; Goula vd., 2017; Corrêa vd., 2015). Ancak bunlar arasında US-OD uygulaması ile kurutma sonrası üründe besinsel kalite ve fonksiyonel özelliklerin incelendiği sınırlı sayıda araştırma mevcuttur (Hashemi ve Jafarpour, 2021; Rahaman vd., 2019). Dolayısıyla bu çalışmada kurutma öncesi balkabağında US-OD uygulamasının ozmotik difüzyon parametreleri (su kaybı ve şeker kazanımı), kurutma kinetiği ve biyoaktif bileşiklerin tutulumu üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Kimyasallar

Bu çalışmada kullanılan Folin-Ciocalteu (FC) ayracı, Gallik asit, 2,2-defenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve diğer tüm kimyasallar ve çözümler Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) ve Merck (Darmstadt, Germany) firmalarından temin edilmiştir.

Balkabağı örneklerinin hazırlanması

Taze balkabağı Kastamonu ilinde hasat zamanından hemen sonra (Ekim, 2021) yerel marketten temin edilmiştir. Dikkatlice kontrol edildikten sonra yıkanmış, tohumlarından ayıklanmış ve dilimlere ayrılarak kabukları soyulmuştur. Kabuk kısmına yakın yerler ise dilimlerden ayrılmıştır. Balkabağı dilimleri 0.5 mm kalınlığında ve 30 mm çapında silindirik dilimler şeklinde analize hazırlanmıştır. Örneklerde renk değişimlerinin önüne geçebilmek için ağzı kapalı bir kavanoz içerisinde +4°C'de saklanmıştır.

US-OD ön işleminin uygulanması

OD işlemi için kullanılacak çözelti, gıda olarak tüketilebilir sükröz ve destile su kullanılarak %12.5, %25 ve %50 (a/h) konsantrasyonlarında hazırlanmıştır. Çalışılan bu konsantrasyonlara ön denemeler sonucu karar verilmiştir. Hazırlanan balkabağı dilimleri, sıcaklığı 30°C'ye ayarlanmış belirlenen konsantrasyonlarda ozmotik çözelti içeren beherlere çözelti:katı oranı 4:1 (h/a) olacak şekilde aktarılmıştır (Bozkir vd., 2019). Kontrol örneği olarak sadece destile su kullanılmıştır. Sonikasyon işlemi 45 kHz frekansında 90 dakika süreyle ultrasonik banyo (Isolab) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. US işlemi süresince sıcaklık termometre ile kontrol edilmiştir. Ozmotik çözelti homojen şekilde dehidrasyon işlemi olması amacıyla her 2 dakikada bir karıştırılmıştır. Dehidrasyon süresince her 15 dakikada bir ve dehidrasyon sonunda balkabağı dilimleri çözümlerden çıkarılmış ve ozmotik çözeltinin örneklerin üzerinden uzaklaştırılması için absorbant bir kağıt ile nazikçe kurulanmış ve tartılmıştır (Sakooei-Vayghan vd., 2020).

OD esnasında örnekler ve sükröz çözeltisi arasındaki kütle transferi hesaplamaları su kaybı

(*SK*), kuru madde kazanımı (*KK*) ve ağırlık kaybı (*AK*) parametreleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. *SK*'nin hesaplanabilmesi için de örnekler US-OD sonrası sonra örnekler tartılmıştır. *KK* ve *AK*'nin belirlenebilmesi için de örnekler US-OD sonrası 105 °C'de sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuş ve ardından ağırlık ölçümü yapılmıştır. Balkabağı örnekleri arasındaki kütle transferini değerlendirmek için *SK*, *KK* ve *AK* sırasıyla (1), (2) ve (3) numaralı eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır (Bozkir ve Ergün, 2020):

$$SK = \frac{m_i Z_i - m_f Z_f}{m_i} * 100 \quad (1)$$

$$KK = \frac{m_i S_i - m_f S_f}{m_i} * 100 \quad (2)$$

$$AK = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100 \quad (3)$$

Burada m_i örneklerin başlangıç ağırlığı iken m_f işlem sonu ağırlıkları (g), Z_i yaş ağırlık üzerinden örneklerin başlangıç nem miktarları iken Z_f işlem sonundaki ağırlıkları (g su/g), S_i örneklerin başlangıçtaki toplam kuru madde üzerinden kütle fraksiyonunu, S_f ise dehidrasyon işlemi sonrasındaki toplam kuru madde üzerinden kütle fraksiyonunu (g kuru madde/g) ifade etmektedir.

Sıcak havada kurutma

US-OD uygulanan balkabağı örneklerinin nem içerikleri %10'un altına düşene kadar laboratuvarında etüv (Mommert, Almanya) kullanılarak 60 °C'de (Bozkir ve Ergün, 2020) 600 dakika süresince kurutulmuştur. Kurutma işlemi boyunca örneklerin ağırlıkları sabit ağırlığa gelene kadar belirli aralıklarla tartılmıştır. Kurutma tamamlandıktan sonra örneklerin sahip olduğu nem içerikleri belirlenmiştir.

Kurutma kinetiği

Kurutma kinetiği örneklerin ağırlık kaybı üzerinden hesaplanmıştır. Her bir örneğin kuru madde miktarı son nem içeriğinden ve ağırlıklarından yola çıkılarak hesaplanmış; kurutma sırasında örneklerden elde edilen nem verileri (4) numaralı eşitlik kullanılarak kurutma oranına (*MR*) dönüştürülmüştür (Li vd., 2020; Elhussein ve Şahin, 2018):

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_0 - M_e} \quad (4)$$

Burada M_t , t anındaki nem miktarını ve M_e denge nem miktarını ifade etmektedir. M_0 başlangıçtaki nem miktarını ifade etmektedir.

Balkabağı dilimlerinin kurutma kinetiğini açıklamak için verilerden elde edilen kurutma eğrileri, ürünlerin kurutulmasında yaygın olarak kullanılan yedi adet ince-tabaka kurutma kinetik modeline uygulanmıştır. Bunlar Newton (5), Page (6), Modiye Page (7), Logaritmik (8), Henderson ve Pabis (9), Wang ve Singh (10) ve İki terimli (11) modeller olarak aşağıda ifade edilmektedir:

$$MR = \exp(-kt) \quad (5)$$

$$MR = \exp(-kt^n) \quad (6)$$

$$MR = \exp(-(kt)^n) \quad (7)$$

$$MR = a \exp(-kt) + b \quad (8)$$

$$MR = a \exp(-kt) \quad (9)$$

$$MR = 1 + at + bt^2 \quad (10)$$

$$MR = a_1 \exp(-k_1 t) + a_2 \exp(-k_2 t) \quad (11)$$

Bu modellerin parametrelerini belirlemek için lineer olmayan bir regresyon işlemi kullanılmıştır. Balkabağı örneklerinin kurutma eğrilerine uygulanan modellerin uyumluluğu belirleme katsayısı (R^2), indirgenmiş ki-kare (χ^2) ve hataların ortalama karekökü (*RMSE*) ile değerlendirilmiştir. Bu parametreler aşağıda verilen eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2}{N-z} \quad (12)$$

$$RMSE = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (MR_{pre,i} - MR_{exp,i})^2 \right]^{1/2} \quad (13)$$

Burada $MR_{exp,i}$ test için deneysel olarak boyutsuz nem oranını; $MR_{pre,i}$ tahmini boyutsuz nem oranını; N , gözlem sayısını ve z model sabitini ifade etmektedir. En düşük χ^2 ve *RMSE* değeri ile en yüksek R^2 değerlerine sahip olan model, çalışmada ince tabaka kurutma karakteristiğini en iyi tanımlayan model olarak seçilmiştir.

Rehidrasyon

Rehidrasyon analizi Santos vd. (2021) tarafından verilen yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

US-OD uygulanmış ve kurutulmuş balkabağı örneklerinin rehidrasyon kinetikleri, tartımı yapılan örneğin 25°C'de örnekten 40 kat daha fazla destile suya daldırılmasıyla belirlenmiştir. Rehidrasyon kinetiği için numuneler sudan çıkarılmış, süzölmüş ve filtre kağıdı ile yüzeysel olarak kurulanmış, tartılmış ve tekrar suya daldırılmıştır. Bu işlem ilk 30 dakika boyunca 15 dakikada bir, daha sonra sabit ağırlığa ulaşana kadar her 30 dakikada bir tekrarlanmıştır. Rehidrasyon işlemine sabit ağırlığa gelene kadar devam edilmiştir. Rehidrasyon oranı (RR), (14) numaralı eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Wang vd., 2019):

$$RR = \frac{W_t}{W_0} \quad (14)$$

Burada W_t (g), t anında rehidre edilen örneklerin ağırlığını; W_0 (g) ise kuru örneklerin ağırlığını ifade etmektedir.

Kuru örneklerin rehidrasyon kinetikleri Peleg modeli (15) üzerine uyarlanmıştır (Peleg, 1988):

$$M(t) = M_0 + \frac{t}{k_1 + k_2 * t} \quad (15)$$

Bu denklemde $M(t)$ rehidrasyon esnasında belirli bir zamanda kuru madde üzerinden nem miktarını ifade ederken (g su/g kuru madde); M_0 başlangıçtaki nem miktarını; k_1 ve k_2 ise suyu absorbe etme oranı ve miktarı ile ilgili parametreleri ifade etmektedir.

Toplam fenolik madde miktarı

US-OD uygulanmış kuru balkabağı örneklerinin toplam fenolik madde miktarını belirlemek için Tekin ve Baslar (2018) tarafından verilen ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Taze ve rehidre edilen kurutulmuş örnekler (5 g) 1:10 oranında metanollü su (80:10, h/h) çözeltisi ile karıştırılmış ve ultra-Turrax (IKA, T18 Basic, Almanya) ile 5 dakika süreyle 1500 rpm hızında homojenize edilmiştir. Takiben örnekler oda sıcaklığında 2 saat süre çalkalayıcı yardımı ile çalkalanmıştır. Ardından karışım 4000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş (Nüve NF 800, Türkiye) ve süpernatant toplanarak filtre edilmiştir. Elde edilen ekstrakt hem toplam fenolik madde miktarı hem de antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Ekstraktın toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodu ile tespit edilmiştir. Bunun için 5 mL ekstrakt 2.5 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu fenol ayracı ve 2 mL sulu Na_2CO_3 (%35) çözeltisi ile karıştırılmış ve 30 sn süre ile vortekslenmiştir. Karışım oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika süre ile bekletilmiş ve ardından 760 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800, Japonya) absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı, 5-50 mg/L standart gallik asit çözeltisi kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi ile ($R^2=0.998$) hesaplanmış ve kuru ağırlık üzerinden (mg GAE/100 g kuru ağırlık) gallik asit eşdeğeri cinsinden ifade edilmiştir.

Antioksidan aktivite kapasitesi

US-OD uygulanmış kurutulmuş balkabağı örneklerinin antioksidan aktivitesi, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal-süpürme aktivite (DPPH) yöntemi ile belirlenmiştir. DPPH radikal süpürme aktivitesinin belirlenebilmesi için 0.1 mL ekstrakte edilmiş örnek 4.9 mL DPPH çözeltisi (0.1 mM metanol) ile karıştırılmış; elde edilen karışım oda sıcaklığında 30 dakika süreyle bekletilmiş ve ardından 517 nm dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir (Singh vd., 2002). Sonuçlar "% inhibisyon" olarak verilmiştir.

İstatistiksel analiz

US-OD işlemi ve analizler 2 tekerrürlü ve 2 paralelli olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Tüm veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Sonuçlar SPSS istatistiksel paket programı (21.0 Versiyonu, SPSS Inc., Chicago) kullanılarak ANOVA ile değerlendirilmiş ve örnekler arasındaki farklılıklar Duncan testi ile %5 güven aralığında tespit edilmiştir. Sigma Plot programı (versiyon 10.0) lineer olmayan regresyon analizi yoluyla matematiksel modelleri deneysel verilere uyarlamak için kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

US-OD ön işleminin balkabağının kütle transferi üzerine etkisi

Ozmotik dehidrasyon esnasında çözünabilir kuru maddenin çözeltiden gıdaya difüzyonu ve gıdadan çözeltiye suyun difüzyonu olacak şekilde iki tip kütle transferi gerçekleşmektedir. Ozmotik basınç

farkı, kütle transferini etkileyen ilk kuvvet olup ikincisi ise konsantrasyon farkıdır. US uygulaması hücre yıkımı için yaygın olarak kullanılmakta ve kuru madde kazanımı ile su kaybını hızlandırmaktadır. US uygulamasından sonra mikroskopik kanallar meydana gelmekte ve bu da suyun difüzyonunu kolaylaştırmaktadır (Bozkir ve Ergün, 2020). Kütle transferinin ürün ve ozmotik ajanın tipi, ozmotik çözeltinin konsantrasyonu, dehidrasyon süresi ve dehidrasyon esnasında ozmotik çözeltinin sıcaklığı gibi bazı parametrelerden etkilendiği bilinmektedir (Atique Rahman vd., 2015; Abraão vd., 2013). Balkabağı dilimlerinde US-OD işleminin kütle transferi üzerine etkisi su kaybı (*SK*), kurumadde kazanımı (*KK*) ve ağırlık kaybı (*AK*) parametreleri hesaplanarak belirlenmiş olup sonuçlar Çizelge

1’de verilmiştir. Literatür verileri ile uyumlu olacak şekilde çizelge üzerinden US-OD işleminin bu parametreler üzerinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Beklenildiği gibi yüksek sükröz konsantrasyonu US-OD süresince *SK* değerinde artışa neden olmuştur ($P < 0.05$). En yüksek *SK* değeri en yüksek sükröz konsantrasyonuna sahip hiper-tonik çözeltinin kullanıldığı dehidrasyon işleminde; en düşük su kaybının ise kontrol örneğinde olduğu gözlemlenmiştir. Benzer bir çalışmada örneklerde artan su kaybı değerinin, ozmotik çözelti içerisinde çözünebilir toplam kuru madde konsantrasyonunun artışına bağlı olarak gerçekleşen yüksek ozmotik basınç ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Rodrigues vd., 2009).

Çizelge 1. US-OD uygulamasının su kaybı (*SK*), katı madde kazanımı (*KK*) ve ağırlık kaybı (*AK*) parametreleri üzerine etkisi

Table 1. The effect of US-OD application on water loss (*WL*), solid gain (*SG*) and weight loss (*WL*) parameters

Ozmotik dehidrasyon ortamı	<i>SK</i> (%)	<i>KK</i> (%)	<i>AK</i> (%)
Kontrol (Saf su)	2.502±0.552 ^d	-4.262±0.007 ^d	6.764±0.546 ^b
%12.5	7.397±0.714 ^c	0.791±0.026 ^c	6.606±0.688 ^b
%25	10.919±0.300 ^b	2.592±0.112 ^b	8.328±0.188 ^a
%50	13.420±0.543 ^a	5.115±0.504 ^a	8.305±0.039 ^a

^{a-d} Aynı sütündeki farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

^{a-d} Different letters in the same column are statistically significant ($P < 0.05$).

Kuru madde kazanımları su kaybı ile uyumlu olacak şekilde gerçekleşmiştir. Benzer şekilde Garcia-Noguera vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada, kuru madde kazanımındaki artışın uygulamada kullanılan özeltinin konsantrasyonundaki artışa bağlı olduğu ifade edilmiştir. Ozmotik çözeltinin kullanılmadığı kontrol örneğinde kuru madde kazanımının -4.262±0.007 olarak tespit edildiği; yani kuru madde kaybı olduğu dikkate çarpmaktadır. Çalışmamıza benzer şekilde Corrêa vd. (2015) çalışmalarında destile su kullanarak US uyguladıkları örneklerinin tümünde kurumadde kazanımını negatif değerlerde tespit etmişlerdir.

En yüksek su kaybı ve katı madde kazanımı %50’lik ozmotik çözelti kullanıldığında sağlanmıştır. Bu durum yüksek ozmotik basınçtan

ve işlem sırasında meyve dokusunda meydana gelen değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Ultrason işlemi ile birlikte mikrokanalların meydana gelmesi doku boyunca su ve şekerin kütle transferini kolaylaştırmaktadır. US-OD işlemi ile birlikte mikrokanalların oluşumu ve hücrelerin parçalanmasıyla şeker molekülleri gibi büyük moleküllerin hücreye difüzyonuna karşı direncin azalmasına neden olmakta ve katı madde kazanımı artmaktadır (Fernandes vd., 2008).

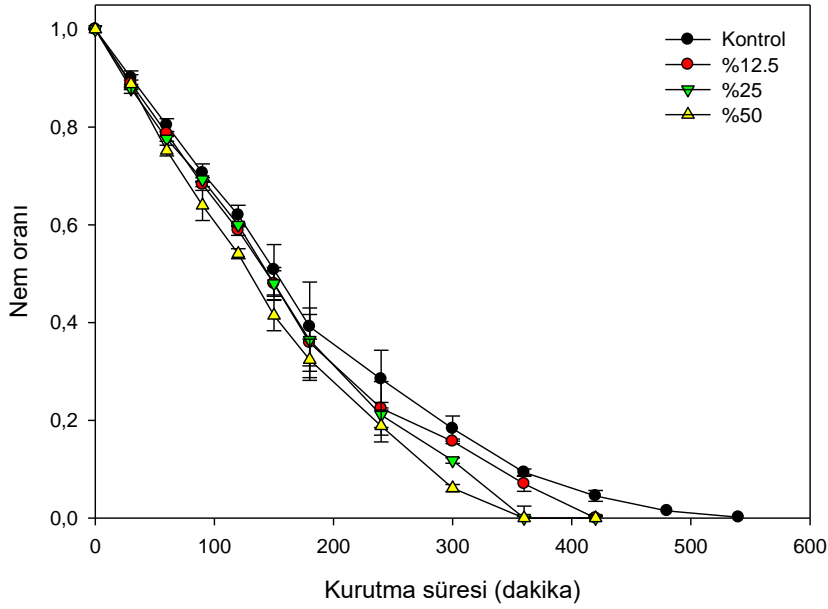
Ağırlık kaybı sonuçları incelendiğinde en fazla ağırlık kaybının %25’lik sükröz çözeltisinde, en düşük ağırlık kaybının ise %12.5 konsantrasyonda hazırlanan sükröz çözeltisinde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada elde ettiğimiz verilerle uyumlu olarak; yapılan önceki çalışmalarda US uygulaması ile ozmotik dehidrasyon

uygulamasının ağırlık kaybını artırdığı belirlenmiştir (Bozkir vd., 2019; Fernandes ve Rodrigues, 2008).

Balkabağı örneklerinin sıcak havada kurutulması

US-OD uygulanmış balkabağı örneklerinin nem ve kurutma oranı Şekil 1'de verilmiştir. Grafik incelendiğinde beklenildiği gibi ozmotik dehidrasyon işleminin kurutmayı hızlandırdığı görülmektedir. Kurutmanın ilk aşamalarında

($t < 160$ dakika), tüm ultrason destekli ozmotik dehidrasyon işlemleri için kurutma eğrileri birbirine benzer eğilim göstermiştir. Ancak bu süreden sonra, kontrol örneğinin kuruma hızında sabit bir azalma eğilimi gözlenirken, US-OD ön işlemine tabi tutulmuş örnekler ise 240 dakikaya kadar yüksek kuruma hızlarını korumuşlardır. Bununla birlikte, 240 dakikadan sonra dehidrasyon ortamı için kullanılan şeker konsantrasyonuna bağlı olarak kurutma hızında farklılıklar gözlenmiştir.



Şekil 1. Balkabağı örneklerinin kurutma süresince nem oranı
Figure 1. Moisture rate of pumpkin samples during drying

Yalnızca su ile US uygulanan örnekte hedef nem içeriğine 540 dakikada ulaşıldığı tespit edilmiş; bu sürenin ozmotik dehidrasyon işlemi uygulanan örneklerde azaldığı ve aynı zamanda artan şeker konsantrasyonuna bağlı olarak da kurutma işleminin daha kısa sürede sonuçlandığı saptanmıştır. Dehidrasyon ortamı olarak şeker çözeltisi kullanıldığında kurutma süresi %12.5 ve %25 oranları için 420 dakika, %50 oranı için 360 dakika olarak tespit edilmiş olup kontrol örneğine kıyasla kurutma süresinde %22.22 ile %33.33 aralığında azalma gözlenmiştir. Benzer şekilde farklı araştırmacılar tarafından sıcak havada kurutma öncesi US-OD ön işleminin; ön işlem

uygulanmayan örneklere göre kurutma süresini kısalttığı saptanmıştır (Bozkir ve Ergün, 2020; Liu vd., 2014; Garcia-Noguera vd., 2010). Kek vd. (2013), guava meyvesinin sıcak havada kurutulmasından önce meyveye uygulanan US destekli ozmotik dehidrasyon ön işleminin toplam kurutma süresini %33 oranında kısalttığını rapor etmişlerdir. Bir diğer çalışmada, Garcia-Noguera vd. (2010) çileklerin 60°C'de kurutma işleminden önce 50 °Brix sükröz çözeltisinde 30 dakika süreyle US-OD uygulanması sonucu örneklerin kuruma hızının en yüksek olduğunu saptamışlardır. US-OD ön işleminin kurutma süresinde azalmaya neden olması sıcak hava ile

kurutma esnasında uzaklaştırılacak düşük su miktarı ile açıklanabilmektedir. Ayrıca meyvede US-OD uygulaması esnasında meydana gelen yapısal değişiklikler de kurutma süresini etkileyen önemli etkenlerdir. Bazı araştırmacılar US-OD esnasında meydana gelen mikro kanalların kurutma sırasında su difüzyonunu hızlandırdığını ve buna bağlı olarak da kurutma süresinin kısaldığını rapor etmişlerdir (Bozkir vd., 2019).

Kurutma kinetiği

Balkabağı örneklerinin kurutma davranışını tanımlamak için elde edilen deneysel veriler yedi farklı modele uyarlanmış ve sonuçlar Çizelge 2’de verilmiştir. Belirleme katsayısı (R^2), indirgenmiş ki-kare (χ^2) ve hataların ortalama karekökü (RMSE) değerleri hesaplanmış ve oluşturulan

modellerinin performansını değerlendirmek için kullanılmıştır. Balkabağı örneklerinin kurutulmasının tahmininde, modellerin yüksek belirleme katsayısı (>0.95), düşük indirgenmiş ki-kare değerleri (4.06×10^{-3}) ve hataların ortalama karekökü (<0.07) değerleri uygulanan bütün kurutma modellerinin balkabağı örneklerinin kurutma davranışı için uyumlu olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte R^2 , χ^2 ve RMSE dikkate alındığında Page modelinin bütün örneklerin kurutma davranışını temsil eden en iyi model olduğu söylenebilir. Benzer şekilde nar taneleri (Horuz ve Maskan, 2013), şeftali dilimleri (Zhu ve Shen, 2014) ve sarımsak püresinin (İlter vd., 2018) kurutulmasında page modelin en uygun sonuçları verdiği rapor edilmiştir.

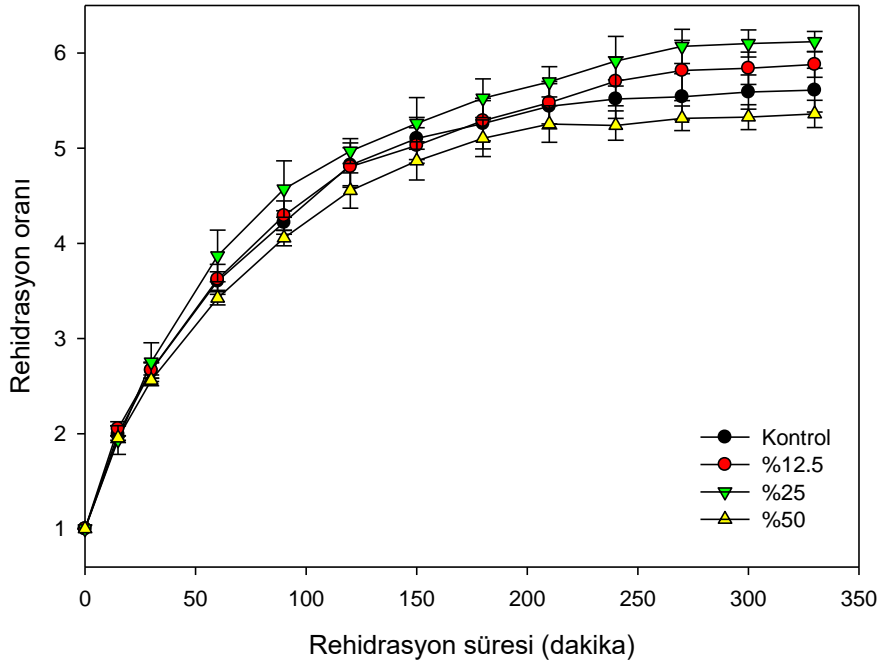
Çizelge 2. Seçilmiş kurutma modelleri, model sabitleri ve istatistiksel değerler (R^2 , RMSE ve χ^2)
 Table 2. Selected drying models, model constants and statistical values (R^2 , RMSE and χ^2)

Ozmotik dehidrasyon ortamı	Model	R^2	RMSE	$\chi^2(10^{-3})$	Model sabitleri
Kontrol	Newton	0.9691	0.05	2.545	$k=0.005$
	Page	0.9979	0.014	0.192	$k=0.0005; n=1.355$
	Modifiye Page	0.9979	0.014	0.202	$k=0.0051; n=1.353$
	Logaritmik	0.9802	0.043	1.854	$k=0.0054; a=1.0688; b=1.82 \times 10^{-9}$
	Henderson ve Pabis	0.9882	0.049	1.719	$k=0.0054; a=1.0688$
	Wang ve Singh	0.9975	0.015	0.238	$a=-0.0036; b=3.69 \times 10^{-6}$
	İki terimli	0.9802	0.043	1.854	$k_1=0.0054; k_2=0.0054; a_1=0.5558; a_2=0.513$
%12.5 konsantrasyonda US-OD	Newton	0.9692	0.051	2.586	$k=0.0054$
	Page	0.9963	0.017	0.21	$k=0.0008; n=1.3735$
	Modifiye Page	0.996	0.018	0.031	$k=0.0055; n=1.3741$
	Logaritmik	0.9762	0.048	2.355	$k=0.0059; a=1.0661; b=4.56 \times 10^{-12}$
	Henderson ve Pabis	0.9762	0.041	2.209	$k=0.0059; a=1.0661$
	Wang ve Singh	0.9967	0.016	0.273	$a=-0.0041; b=4.13 \times 10^{-6}$
	İki terimli	0.9762	0.048	2.355	$k_1=0.0059; k_2=0.0058; a_1=0.6532; a_2=0.4129$
%25 konsantrasyonda US-OD	Newton	0.9545	0.063	4.068	$k=0.0056$
	Page	0.9921	0.026	0.408	$k=0.0009; n=1.4773$
	Modifiye Page	0.9929	0.029	0.718	$k=0.0057; n=1.4712$
	Logaritmik	0.9626	0.061	3.716	$k=0.0061; a=1.0718; b=6.97 \times 10^{-12}$
	Henderson ve Pabis	0.9626	0.06	3.7	$k=0.0061; a=1.0722$
	Wang ve Singh	0.9954	0.032	0.412	$a=-0.004; b=3.98 \times 10^{-6}$
	İki terimli	0.9623	0.061	3.716	$k_1=0.0061; k_2=0.006; a_1=0.6246; a_2=0.4477$
%50 konsantrasyonda US-OD	Newton	0.9655	0.0559	3.131	$k=0.0062$
	Page	0.9955	0.0145	0.21	$k=0.001; n=1.3658$
	Modifiye Page	0.9952	0.02	0.405	$k=0.0062; n=1.4202$
	Logaritmik	0.9729	0.049	2.46	$k=0.0067; a=1.0718; b=1.98 \times 10^{-9}$
	Henderson ve Pabis	0.9729	0.045	2.419	$k=0.0067; a=1.0718$
	Wang ve Singh	0.9908	0.013	0.178	$a=-0.0046; b=5.28 \times 10^{-6}$
	İki terimli	0.9732	0.049	2.46	$k_1=0.0067; k_2=0.007; a_1=0.073; a_2=0.007$

Page modeldeki kinetik parametrelerden biri olan ve kütle transferi ile ilişkili olan k değeri 0.001 ile 0.0008 arasında bulunmuştur ve ozmotik dehidrasyonda şeker konsantrasyonunun artışına bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Kurutma esnasındaki kütle transferi ile ilişkili olan parametrelerden bir diğeri olan n değeri (Simpson vd., 2017), kontrol örneği için 1.355 olarak hesaplanırken; US-OD uygulanmış olan örnekler için 1.3658 ile 1.4773 aralığında saptanmıştır. Genel olarak hesaplanan n değerleri 1'den büyük olup, şeker çözeltisinde dehidre olan örneklerin n değerleri kontrol örneğine göre daha yüksek bulunmuştur. Simpson vd. (2017) n değerinin 1'den büyük olması durumunda süper difüze olma karakterine işaret etmektedir.

Rehidrasyon kinetiği

Rehidrasyon, kurutma ve öncesinde yapılan uygulamalar esnasında meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimleri göstermekte (Jia vd., 2019) olup; kurutulmuş ürünlerin fizikokimyasal karakteristik özelliklerindeki değişimin ölçütü olarak kullanılan önemli bir karakteristik tanımlamadır (Wang vd., 2018). Kurutma metodu, ön işlem uygulaması, rehidrasyon ortamı ve sıcaklığın kurutulmuş gıda ürünüde rehidrasyonunu etkileyen önemli faktörler olduğu bilinmektedir (Aral ve Bese, 2016). US-OD ön işlem uygulanan ve sıcak hava ortamında kurutulan balkabağı örneklerinin rehidrasyon oranları Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Kurutulmuş balkabağı örneklerinin rehidrasyon oranları

Figure 2. Rehydration rates of dried pumpkin samples

Genel olarak, zamana bağlı olarak tüm örnekler nem kazanmış ve rehidrasyon oranları tüm örnekler için rehidrasyonun başlangıcında dik bir şekilde artma eğilimi göstermiştir. Grafik incelendiğinde başlangıçtaki hızlı nem çekme özelliğinin zamanla yavaşladığı gözlemlenmiştir. Bütün örneklerin nem kazanma eğilimi 15.

dakikaya kadar benzerlik göstermiş olup bundan sonra farklılaşma tespit edilmiştir. %50 konsantrasyonda US-OD ön işlemi uygulanmış örneğin ve yalnızca US uygulanmış örneğin 200 dakikada, %25 ve %12.5 konsantrasyonda US-OD ön işlemi uygulanmış örneğin 275 dakikada rehidrasyon oranında doyma noktasına geldiği

gözlenmiştir. Bchir vd. (2020) nar tanelerinde US-OD ön işlemleri uygulayarak kuruttukları örneklerinin rehidrasyon aşamasında benzer davranışı sergilediğini belirtmişlerdir. Aynı şekilde Fan vd. (2019) ve Amami vd. (2017) de sırasıyla kurutulmuş çilek ve karnabaharda yaklaşık sonuçları gözlemlemişlerdir.

Grafik incelendiğinde rehidrasyon oranı, dehidrasyon çözeltisi konsantrasyonunun %25'e kadar artmasına bağlı olarak artış göstermiştir. Şeker konsantrasyonunun %50'ye artırılması ile birlikte rehidrasyon oranı kontrol örneğine kıyasla azalma göstermiş olup düşük rehidrasyon oranı US-OD sırasında yüzeyde kalan fazla şekerden dolayı emilebilecek su miktarının düşük olması ile ilişkilendirilmektedir (Noshad vd., 2012). Benzer şekilde Sakooei-Vayghan vd. (2020) dehidrasyon uygulanmış kayısı örneklerinin ön işlem uygulanmamış kontrol örneğine kıyasla daha iyi rehidrasyon özelliğine sahip olduklarını ve bu durumun ozmotik dehidrasyon sırasında örneklerin merkezi dokularının genişlemesinden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Amami vd. (2017) US-OD ön işlemi ile birlikte düşük katı kazanımının kurutma sırasında maksimum büzölmeye neden olabileceğini ve buna bağlı olarak US-OD ön işlem uygulanmış örneklerin

daha iyi su içerebileceğini rapor etmişlerdir. Diğer taraftan Noshad vd. (2012) US-OD ön işlem uygulanmış ve kurutulmuş yaban mersini örneklerinin daha düşük rehidrasyon oranına sahip olduğunu ve bunun nedeninin rehidrasyon sırasında absorbe olabilen su miktarının azalmasına yol açan dehidre meyvelerin üzerinde bulunan şekerden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

US-OD ön işlemi uygulanmış ve sıcak hava ile kurutulmuş balkabağı örneklerinin rehidrasyon kinetiğini tanımlamak için Peleg modeli uygulanmıştır. Peleg modelinin uyumluluğu ve elde edilen k_1 ve k_2 tahmini verileri Çizelge 3'te verilmiştir. Genel olarak, belirleme katsayısının oldukça yüksek olması ($R^2 > 0.99$), Peleg modelinin kurutulmuş balkabağı örneklerinin rehidrasyon davranışını başarıyla tanımladığını göstermektedir. Peleg hız sabiti k_1 kütle aktarım hızı ile ilişkilidir ve bu değer ne kadar düşükse, başlangıçtaki rehidrasyon hızı o kadar yüksektir. En düşük k_1 değeri %25 şeker konsantrasyonunda dehidre olan örnekte elde edilmiş olup diğer örneklerle karşılaştırıldığında su absorpsiyon kapasitesi daha yüksektir. Gıdaların absorpsiyon kabiliyeti ile ters orantılı olan k_2 değeri en yüksek %50 şeker konsantrasyonunda dehidre olan örnekte elde edilmiştir.

Çizelge 3. Rehidrasyon verilerinin Peleg modeline uyumluluğu ve elde edilen model parametreleri

Table 3. Compatibility of the rehydration data with the Peleg model and the model parameters obtained

Ozmotik dehidrasyon ortamı	R^2	RMSE	$\chi^2(10^{-3})$	k_1	k_2
Kontrol	0.9959	0.084	7.071	11.344	0.173
%12.5 konsantrasyonda US-OD	0.9992	0.038	1.469	12.576	0.164
%25 konsantrasyonda US-OD	0.9989	0.043	1.848	11.302	0.155
%50 konsantrasyonda US-OD	0.9951	0.063	3.971	12.263	0.182

Toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite

Taze ve kurutulmuş balkabağı örneklerinin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan kapasiteleri Çizelge 4'te görülmektedir. Genel olarak dehidrasyon işleminde şeker çözeltisinin kullanılması ve konsantrasyonun farklılaşması örneklerin toplam fenolik madde miktarlarında önemli değişikliğe neden olmuştur ($P < 0.05$). Bununla birlikte, kontrol ve %12.5 şeker konsantrasyonunda dehidre edilmiş örneğin fenolik madde miktarı taze (kurutulmamış)

örnekten daha düşük bulunmuştur. Benzer şekilde Bozkir vd. (2019) tarafından US-OD ön işleminin kontrol grubuna kayısla Trabzon hurması örneklerinde toplam fenolik madde miktarında azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Toplam fenolik madde miktarındaki azalma US-OD sırasında fenolik bileşiklerin ozmotik çözeltiye fiziksel geçişi ile açıklanabilir. Diğer taraftan ozmotik dehidrasyon sırasında ultrases uygulaması fenolik bileşiklerin azalmasında da rol oynayabilmektedir (Kroehnke vd., 2021). Şeker konsantrasyonunun %25 ve üzerinde artırılması

kurutulmuş örneklerdeki toplam fenolik madde içeriğinin önemli düzeyde artmasına neden olmuştur. Bu artışın nedeni ultrases işlemi ile birlikte yüksek konsantrasyonlarda şeker kullanımının hücre dokularındaki porların

oluşmasına neden olması ve buna bağlı olarak ekstraksiyon sırasında ekstrakte edilebilir bileşiklerin miktarının artması olabilir (Amami vd., 2017).

Çizelge 4. Taze ve kurutulmuş balkabağı örneklerinin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite özellikleri

Table 4. Total phenolic content and antioxidant capacity properties of fresh and dried pumpkin samples

Ozmotik dehidrasyon ortamı	Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/100 g kuru ağırlık)	DPPH (% inhibisyon)
Taze	100.43±5.45 ^b	28.16±1.69 ^c
Kontrol	85.57±3.21 ^c	24.05±1.11 ^d
%12.5 konsantrasyonda US-OD	89.28±2.95 ^c	27.21±1.96 ^{cd}
%25 konsantrasyonda US-OD	104.5±4.04 ^b	31.69±2.61 ^b
%50 konsantrasyonda US-OD	120.08±9.28 ^a	38.21±1.96 ^a

^{a-d} Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

^{a-d} Different letters in the same column are statistically significant ($P < 0.05$).

Kurutulmuş kabak örneklerinin antioksidan aktivite sonuçları toplam fenolik madde miktarları ile benzer eğilim göstermiştir. Taze kabak örneğinin DPPH radikal süpürme aktivitesi %28.16 olarak belirlenmiş olup kontrol ve %12.5 şeker konsantrasyonunda dehidre edilen örnekte daha düşük (sırası ile %24.05 ve %27.21) tespit edilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite (%38.21) ise %50 şeker içerisinde dehidre edilen örnekte saptanmıştır. Benzer sonuçlar literatürde yer alan çalışmalarda da elde edilmiştir (Amami vd., 2017; Wojdyło vd., 2009).

SONUÇ

Bu çalışmada, balkabağı dilimlerine sıcak hava ile kurutma işleminden önce farklı şeker konsantrasyonlarına sahip ortamlarda ultrases ile dehidrasyon uygulanmıştır. Ozmotik dehidrasyon işleminin kabak dilimlerinin kurutma fenomeni üzerine etkili olduğu, kurutulmuş örneklerin özelliklerinde değişiklikler meydana getirdiği gözlenmiştir. Dehidrasyon işlemiyle artan şeker konsantrasyonuna bağlı olarak su kaybının ve katı madde kazanımının arttığı ve buna bağlı olarak kurutma süresinin önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Diğer taraftan %25 şeker konsantrasyonuna kadar dehidre ortamında işlem uygulanan balkabağı örneklerinin rehidrasyon

özelliğinin iyileştiği, ancak daha yüksek şeker konsantrasyonunun rehidrasyon özelliğini önemli düzeyde azalttığı gözlenmiştir. Bununla birlikte en yüksek toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite %50 şeker çözeltisi ortamında dehidre edilen örneklerde saptanmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu araştırma makalesi ile 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. Çalışmanın tasarlanması Osman Gül tarafından yapılmış olup analizler ile makalenin yazımı ve düzenlenmesinde yazarlar eşit katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

Abraão, A. S., Lemos, A. M., Vilela, A., Sousa, J. M., Nunes, F. M. (2013). Influence of osmotic dehydration process parameters on the quality of candied pumpkins. *Food and Bioprocess Technology*, 91(4), 481-494, doi:10.1016/j.fbp.2013.04.006.

Ahmad, F., Zaidi, S. (2020). Osmotic Dehydration and Ultrasound Assisted Osmotic

- Dehydration of Fruits and Vegetables: A Review. *International Journal of Tropical Agriculture*, 38(4), 417-421.
- Amami, E., Khezami, W., Mezrigui, S., Badwaik, L. S., Bejar, A. K., Perez, C. T., Kechaou, N. (2017). Effect of ultrasound-assisted osmotic dehydration pretreatment on the convective drying of strawberry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 36, 286-300, doi:10.1016/j.ultsonch.2016.12.007.
- Aral, S., Bese, A. V. (2016). Convective drying of hawthorn fruit (*Crataegus* spp.): Effect of experimental parameters on drying kinetics, color, shrinkage, and rehydration capacity. *Food Chemistry*, 210, 577-584, doi:10.1016/j.foodchem.2016.04.128.
- Atiqure Rahman, S. M., Enamul Hoque, M., Rahman, S., Hasanuzzaman, M. (2015). Osmotic dehydration of pumpkin using response surface methodology - influences of operating conditions on water loss and solute gain. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 5(5), 1-6.
- Azarpazhooh, E., Sharayei, P., Ramaswamy, H. S. (2020). Optimization of ultrasound-assisted osmotic treatment of Aleo vera gel impregnated with grape pomace phenolic compounds using response surface methodology. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 22(3), 202-212.
- Bchir, B., Bouaziz, M. A., Ettaib, R., Sebi, H., Danthine, S., Blecker, C., Besbes, S., Attia, H. (2020). Optimization of ultrasound-assisted osmotic dehydration of pomegranate seeds (*Punica granatum* L.) using response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9), doi:10.1111/jfpp.14657.
- Bozkir, H., Ergün, A. R. (2020). Effect of sonication and osmotic dehydration applications on the hot air drying kinetics and quality of persimmon. *LWT - Food Science and Technology*, 131, 109704, doi:10.1016/j.lwt.2020.109704.
- Bozkir, H., Rayman Ergun, A., Serdar, E., Metin, G., Baysal, T. (2019). Influence of ultrasound and osmotic dehydration pretreatments on drying and quality properties of persimmon fruit. *Ultrasonics Sonochemistry*, 54, 135-141, doi:10.1016/j.ultsonch.2019.02.006.
- Carvalho, G. R., Rojas, M. L., Silveira, I., Augusto, P. E. D. (2020). Drying accelerators to enhance processing and properties: ethanol, isopropanol, acetone and acetic acid as pre-treatments to convective drying of pumpkin. *Food and Bioprocess Technology*, 13(11), 1984-1996, doi:10.1007/s11947-020-02542-6.
- Corrêa, J. L. G., Justus, A., de Oliveira, L. F., Alves, G. E. (2015). Osmotic dehydration of tomato assisted by ultrasound: evaluation of the liquid media on mass transfer and product quality. *International Journal of Food Engineering*, 11(4), 505-516, doi:10.1515/ijfe-2015-0083.
- Elhussein, E. A. A., Şahin, S. (2018). Drying behaviour, effective diffusivity and energy of activation of olive leaves dried by microwave, vacuum and oven drying methods. *Heat and Mass Transfer*, 54, 1901-1911, doi:10.1007/s00231-018-2278-6.
- Fan, K., Zhang, M., Bhandari, B. (2019). Osmotic-ultrasound dehydration pretreatment improves moisture adsorption isotherms and water state of microwave-assisted vacuum fried purple-fleshed sweet potato slices. *Food and Bioprocess Technology*, 115, 154-164, doi:10.1016/j.fbp.2019.03.011.
- Fernandes, F. A. N., Rodrigues, S. (2008). Application of ultrasound and ultrasound-assisted osmotic dehydration in drying of fruits. *Drying Technology*, 26(12), 1509-1516, doi:10.1080/07373930802412256
- Fernandes, F. A. N., Linhares, F. E., Rodrigues, S. (2008). Ultrasound as pre-treatment for drying of pineapple. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(6), 1049-1054, doi:10.1016/j.ultsonch.2008.03.009.
- Garcia-Noguera, J., Oliveira, F. I. P., Gallão, M. I., Weller, C. L., Rodrigues, S., Fernandes, F. A. N. (2010). Ultrasound-assisted osmotic dehydration of strawberries: effect of pretreatment time and ultrasonic frequency. *Drying Technology*, 28(2), 294-303, doi:10.1080/07373930903530402.
- Gliemmo, M. F., Latorre, M. E., Gerschenson, L. N., Campos, C. A. (2009). Color stability of pumpkin (*Cucurbita moschata*, Duchesne ex Poiret) puree during storage at room temperature:

- effect of pH, potassium sorbate, ascorbic acid and packaging material. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 196-201.
- Goula, A. M., Kokolaki, M., Daftsiou, E. (2017). Use of ultrasound for osmotic dehydration. The case of potatoes. *Food and Bioprocess Technology*, 105, 157-170, doi:10.1016/j.fbp.2017.07.008.
- Hashemi, S. M. B., Jafarpour, D. (2021). Antimicrobial and antioxidant properties of Saturn peach subjected to ultrasound-assisted osmotic dehydration. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(3), 2516-2523, doi:10.1007/s11694-021-00842-9.
- Horuz, E., Maskan, M. (2013). Hot air and microwave drying of pomegranate (*Punica granatum L.*) arils. *Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 285-293, doi:10.1007/s13197-013-1032-9.
- Hosseinzadeh Samani, B., Khodadadi, A., Rostami, S., Lorigooini, Z. (2021). Investigation and optimization of the effect of osmotic-ultrasound drying pretreatment on qualitative properties and process energy consumption of *Cornus mas*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(5), doi:10.1111/jfpp.15377.
- İlter, I., Akyl, S., Devseren, E., Okut, D., Koç, M., Kaymak Ertekin, F. (2018). Microwave and hot air drying of garlic puree: drying kinetics and quality characteristics. *Heat and Mass Transfer*, 54(7), 2101-2112, doi:10.1007/s00231-018-2294-6.
- Jansrimanee, S., Lertworasirikul, S. (2020). Synergetic effects of ultrasound and sodium alginate coating on mass transfer and qualities of osmotic dehydrated pumpkin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 69, 105256, doi:10.1016/j.ultsonch.2020.105256.
- Jia, Y., Khalifa, I., Hu, L., Zhu, W., Li, J., Li, K., Li, C. (2019). Influence of three different drying techniques on persimmon chips' characteristics: A comparison study among hot-air, combined hot-air-microwave, and vacuum-freeze drying techniques. *Food and Bioprocess Technology*, 118, 67-76, doi:10.1016/j.fbp.2019.08.018.
- Kek, S. P., Chin, N. L., Yusof, Y. A. (2013). Direct and indirect power ultrasound assisted pre-osmotic treatments in convective drying of guava slices. *Food and Bioprocess Technology*, 91, 495-506, doi:10.1016/j.fbp.2013.05.003.
- Li, Y., Wang, X., Wu, Z., Wan, N., Ming, Y. (2020). Dehydration of hawthorn fruit juices using ultrasound-assisted vacuum drying. *Ultrasonics Sonochemistry*, 68, doi:10.1016/j.ultsonch.2020.105219.
- Kroehnke, J., Szadzińska, J., Radziejewska-Kubzdela, E., Biegańska-Marecik, R., Musielak, G., Mierzwa, D. (2021). Osmotic dehydration and convective drying of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*)—The influence of ultrasound on process kinetics and product quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 71, 105377, doi:10.1016/j.ultsonch.2020.105377.
- Liu, Y., Wu, J., Chong, C., Miao, S. (2014). Ultrasound assisted osmotic dehydration as pretreatment for hot-air drying of carrot. *Food Science and Technology Research*, 20(1), 31-41, doi:10.3136/fstr.20.31.
- Mokhtarian, M., Heydari Majd, M., Koushki, F., Bakhshabadi, H., Daraei Garmakhany, A., Rashidzadeh, S. (2014). Optimisation of pumpkin mass transfer kinetic during osmotic dehydration using artificial neural network and response surface methodology modelling. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 6(2), 201-214, doi:10.3920/qas2012.0121.
- Nawirska, A., Figiel, A., Kucharska, A. Z., Sokół-Łetowska, A., Biesiada, A. (2009). Drying kinetics and quality parameters of pumpkin slices dehydrated using different methods. *Journal of Food Engineering*, 94, 14-20, doi:10.1016/j.jfoodeng.2009.02.025.
- Noshad, M., Mohebbi, M., Shahidi, F., Ali Mortazavi, S. (2012). Multi-objective optimization of osmotic-ultrasonic pretreatments and hot-air drying of quince using response surface methodology. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2098-2110, doi:10.1007/s11947-011-0577-8.
- Nowacka, M., Dadan, M., Tylewicz, U. (2021). Current applications of ultrasound in fruit and vegetables osmotic dehydration processes.

- Applied Sciences*, 11(3), 1269, doi:10.3390/app11031269.
- Pantelidou, D., Gerogiannis, K., Goula, A. M., Gonas, C. (2021). Ultrasound-assisted osmotic dehydration as a method for supplementing potato with unused chokeberries phenolics. *Food and Bioprocess Technology*, 14(12), 2231-2247, doi:10.1007/s11947-021-02720-0.
- Peleg, M. (1988). An empirical model for the description of moisture sorption curves. *Journal of Food Science*, 53(4), 1216-1217.
- Prithani, R., Dash, K. K. (2020). Mass transfer modelling in ultrasound assisted osmotic dehydration of kiwi fruit. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 64, 102407, doi:10.1016/j.ifset.2020.102407.
- Rahaman, A., Zeng, X. A., Kumari, A., Rafiq, M., Siddeeg, A., Manzoor, M. F., Baloch, Z., Ahmed, Z. (2019). Influence of ultrasound-assisted osmotic dehydration on texture, bioactive compounds and metabolites analysis of plum. *Ultrasonics Sonochemistry*, 58, 104643, doi:10.1016/j.ultsonch.2019.104643.
- Rodrigues, S., Oliveira, F. I. P., Gallão, M. I., Fernandes, F. A. N. (2009). Effect of immersion time in osmosis and ultrasound on papaya cell structure during dehydration. *Drying Technology*, 27(2), 220-225, doi:10.1080/07373930802605883.
- Sakooei-Vayghan, R., Peighambaroust, S. H., Hesari, J., Soltanzadeh, M., Peressini, D. (2020). Properties of dried apricots pretreated by ultrasound-assisted osmotic dehydration and application of active coatings. *Food Technology and Biotechnology*, 58(3), 249-259, doi:10.17113/ftb.58.03.20.6471.
- Santos, K. C., Guedes, J. S., Rojas, M. L., Carvalho, G. R., Augusto, P. E. D. (2021). Enhancing carrot convective drying by combining ethanol and ultrasound as pre-treatments: Effect on product structure, quality, energy consumption, drying and rehydration kinetics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105304, doi:10.1016/j.ultsonch.2020.105304.
- Shekar, F., Javadi, A. (2019). The Effect of Ultrasound-Assisted Osmotic Dehydration pretreatment on the convective drying of apple slices (var. Golab). *Journal of Food Biosciences and Technology*, 9(2), 83-94.
- Simpson, R., Ramírez, C., Nuñez, H., Jaques, A., Almonacid, S. (2017). Understanding the success of Page's model and related empirical equations in fitting experimental data of diffusion phenomena in food matrices. *Trends in Food Science & Technology*, 62, 194-201, doi:10.1016/j.tifs.2017.01.003.
- Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N., Jayaprakasha, G. K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 81-86.
- Tayyab Rashid, M., Ahmed Jatoi, M., Safdar, B., Wali, A., Muhammad Aadil, R., Sarpong, F., Ma, H. (2020). Modeling the drying of ultrasound and glucose pretreated sweet potatoes: The impact on phytochemical and functional groups. *Ultrasonics Sonochemistry*, 68, 105226, doi:10.1016/j.ultsonch.2020.105226.
- Tekin, Z. H., Baslar, M. (2018). The effect of ultrasound-assisted vacuum drying on the drying rate and quality of red peppers. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 132(2), 1131-1143, doi:10.1007/s10973-018-6991-7.
- Wang, J., Xiao, H.-W., Ye, J.-H., Wang, J., Raghavan, V. (2019). Ultrasound pretreatment to enhance drying kinetics of kiwifruit (*actinidia deliciosa*) slices: Pros and cons. *Food and Bioprocess Technology*, 12(5), 865-876, doi:10.1007/s11947-019-02256-4.
- Wang, Y., Li, X., Chen, X., Li, B., Mao, X., Miao, J., Zhao, C., Huang, L., Gao, W. (2018). Effects of hot air and microwave-assisted drying on drying kinetics, physicochemical properties, and energy consumption of chrysanthemum. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 129, 84-94, doi:10.1016/j.cep.2018.03.020.
- Wojdyło, A., Figiel, A., Oszmianski, J. (2009). Effect of drying methods with the application of vacuum microwaves on the bioactive

compounds, color, and antioxidant activity of strawberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1337-1343.

Zhu, A., Shen, X. (2014). The model and mass transfer characteristics of convection drying of peach slices. *International Journal of Heat and Mass*

Transfer, 72, 345-351, doi:10.1016/j.ijheatmasstransfer.2014.01.001.

“KEÇİBOYNUZU ÖZÜ” ADI ALTINDA SATIŞA SUNULAN ÜRÜNÜN BAZI KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE KEÇİBOYNUZU PEKMEZİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Alev Yavuz Küçük^{1,2}, Serap Duraklı Veliöğlu^{2*}

¹Tarım ve Orman Bakanlığı İstanbul Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, İstanbul, Türkiye
²Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Tekirdağ, Türkiye

Geliş / Received: 15.03.2022; Kabul / Accepted: 04.08.2022; Online baskı / Published online: 10.10.2022

Yavuz-Küçük, A., Duraklı-Veliöğlu, S. (2022). “Keçiboynuzu Özü” adı altında satışa sunulan ürünün bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve keçiboynuzu pekmezi ile karşılaştırılması. *GIDA* (2022) 47 (5) 889-903 doi: 10.15237/gida.GD22033

Yavuz-Küçük, A., Duraklı-Veliöğlu, S. (2022). Determining some chemical properties of the product marketed under the name of “Carob Extract” and comparison with carob pekmez. *GIDA* (2022) 47 (5) 889-903 doi: 10.15237/gida.GD22033

ÖZ

Keçiboynuzu pekmezi, meyvenin tekniğine uygun olarak işlenmesi, ekstraksiyonu ve berraklaştırılması ile elde edilen şıranın, açık kazan veya vakum altında koyulaştırılmasıyla elde edilen geleneksel Türk gıdasıdır. “Keçiboynuzu özü” ise “keçiboynuzu meyvesinden soğuk ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen şıranın düşük sıcaklıkta konsantre edilmesiyle elde edilmiş özü” olarak tanımlanmakta ve son yıllarda keçiboynuzu pekmezi alternatif yeni bir ürün olarak piyasada bulunmaktadır. Bu çalışmada, piyasadaki temin edilen keçiboynuzu özlerinin, genel özelliklerine ek olarak, HMF, şeker, toplam fenolik bileşik ve mineral madde içeriklerinin belirlenmesi ve bu özelliklerin keçiboynuzu pekmezleri ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Analizler sonucunda, keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örnek gruplarına ait toplam fenolik bileşik değerleri sırasıyla 5.80-18.00 mg GAE/g ve 0.10-18.40 mg GAE/g aralığında, HMF değerleri ise sırasıyla, 0.79-50.25 mg/kg ve 1.25-68.77 mg/kg aralığında tespit edilmiştir. İki gruba ait örneklerin belirlenen tüm özellikleri arasında istatistiksel olarak ($P > 0.05$) önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, ilgili yasal düzenlemelere zemin hazırlayabilecektir.

Anahtar kelimeler: keçiboynuzu, keçiboynuzu pekmezi, keçiboynuzu özü, toplam fenolik madde

DETERMINING SOME CHEMICAL PROPERTIES OF THE PRODUCT MARKETED UNDER THE NAME OF “CAROB EXTRACT” AND COMPARISON WITH CAROB PEKMEZ

ABSTRACT

Carob pekmez is a traditional Turkish food obtained by processing, extracting, clarifying the fruit, and thickening the obtained syrup in an open cauldron or under vacuum. “Carob extract” is defined as “the extract produced by concentrating the fruit syrup obtained by cold extraction method at low temperatures” and has been marketed as an alternative to carob pekmez. This study aimed to determine the HMF, sugar, total phenolics, and mineral contents in addition to the general properties

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: svelioğlu@nku.edu.tr

☎: (+90) 282 250 2166

☎: (+90) 282 250 9929

Alev Yavuz Küçük; ORCID no: 0000-0002-5846-7530

Serap Duraklı Veliöğlu; ORCID no: 0000-0002-9161-6286

of "carob extract" and to compare these results with carob pekmez. The total phenolics of pekmez and extract sample groups were between 5.80-18.00 mg GAE/g, and 0.10-18.40 mg GAE/g, and the HMF values were between 0.79 -50.25 mg/kg, and 1.25-68.77 mg/kg, respectively. No significant difference ($P > 0.05$) was detected between the two sample groups. The results will be able to lay the groundwork for the legislation regarding the products released as "carob extract".

Keywords: carob, carob pekmez, carob extract, total phenolics

GİRİŞ

Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.), daha çok Portekiz, İspanya, İtalya, Fas ve Türkiye gibi Akdeniz ikliminin görüldüğü ülkelerde yetişen ve şeker içeriği yüksek olan bir meyvedir (Turhan vd., 2007; Pazır ve Alper, 2016; FAO, 2021). Türkiye’de sadece Akdeniz ve Ege bölgesinde yetişen keçiboynuzunun (Guler ve Gubbuk, 2020), ülkemizde 2020 yılında 18806 ton üretildiği tahmin edilmektedir (FAO, 2021). Çocuk ve yetişkin beslenmesinde önemli bir yere sahip olan keçiboynuzu, yüksek şeker içeriğinin yanında çeşitli vitaminler, mineraller, fenolik maddeler ve lif açısından da zengindir (Kumazawa vd., 2002; Pazır ve Alper, 2016; Rodríguez-Solana vd., 2021). Akdeniz ülkelerinde, geleneksel tıpta da kullanılan keçiboynuzu meyvesi ve ürünleri, antioksidan, antibakteriyel özellikleri ve sağlık etkileri ile de ilgi çekmektedir (Kumazawa vd., 2002; Agrawal vd., 2011; Tetik vd., 2011; Othmen vd., 2021; Evran vd., 2022). Zengin bileşimi nedeniyle birçok kullanım alanı bulunan keçiboynuzu meyvesi, Türkiye’de yaygın olarak geleneksel bir gıda ürünü olan pekmez üretiminde değerlendirilir.

Pekmez; meyveden, tekniğine uygun olarak özütlenen ve berraklaştırılan şıranın açıkta veya vakum altında konsantre edilmesiyle elde edilen bir gıda ürünü olarak tanımlanmaktadır (Anonymous, 2017). Keçiboynuzu pekmezinin üretimi de temel olarak, ekstraksiyon, durultma ve konsantrasyon aşamalarından oluşmaktadır. Keçiboynuzu meyveleri, 5 ve 7 mm’lik küçük parçalara ayrılıp, 85 °C’de sıcak su ile ekstrakte edilir. Keçiboynuzu parçaları yaklaşık 3 saat boyunca ters akışla ekstrakte edildikten sonra, elde edilen ekstrakt, berraklaştırılır ve 50-60 °C arasında vakumlu evaporatör kullanılarak konsantre edilir. Berrak ekstrakt 65-70 Briks’e kadar konsantre edilir ve mikrobiyal gelişmeyi ve bozulmayı önlemek için 85 °C’de pastörize edilir (Tetik vd., 2010).

Son yıllarda, düşük sıcaklıkta işlendiği ifade edilerek, “keçiboynuzu özü” adı altında piyasaya sunulan ürünün üretiminde de keçiboynuzu meyvesinin kullanıldığı görülmektedir. Doğal yaşama, geleneksel ürünlere ve doğal meyveli farklı gıdalara olan ilgi ve talebin giderek artması, piyasada bu tür ürünlerin artışına neden olmuştur (Karakavuk, 2014). Piyasada keçiboynuzu pekmezine alternatif olarak bulunan ve “keçiboynuzu özü” adı ile pazarlanan ürün, üreticileri tarafından, “keçiboynuzu meyvesinden soğuk ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen şıranın düşük sıcaklıklarda evaporasyon yöntemleri ile elde edilmiş özü” olarak tanımlanmaktadır. Yeni gıda ürünü, işlev ve fayda bakımından eski üründen daha üstün özelliklere sahip olup onun yerini alabilen bir üründür (Stanton vd., 1994). “Keçiboynuzu özü”, bu tanıma uygun olan yeni bir ürün olarak algılanabilir. Ancak keçiboynuzu özünün bileşimini, ürün özelliklerini, keçiboynuzu pekmezi ile farkını ortaya koyan bir çalışma bulunmamaktadır. Türk Gıda Mevzuatında da “keçiboynuzu özü” adı ile tanımlı bir ürün bulunmamakta, ürün ile ilgili herhangi bir standart veya tebliğ yer almamaktadır. Pekmez ve benzeri ürünler, bazı meyvelerin arzındaki yüksek fiyatlar veya zorlukların yanı sıra yüksek üretim girdilerinden dolayı, diğer birçok gıda maddesinde olabildiği gibi hem ülkemizde hem de dünyada, taklit ve tağşişe konu olabilmektedir (Şimşek vd., 2004, Tosun, 2014, Naderi-Boldajı vd., 2018). Bahsedilen nedenlere ek olarak, keçiboynuzu özünün üretim prosesinde belirli bir standardizasyon oluşturulmamış olması, denetim eksikliğini beraberinde getirecek ve özellikle çocuklar, hamileler gibi hassas tüketici grupları için ön plana çıkan ürün, taklit-tağşişe açık hale gelebilecektir. Keçiboynuzu özünün özelliklerinin belirlenmesi, bu ürün ile ilgili yasal düzenlemelere temel teşkil edebilir. Bu nedenle bu çalışmanın amacı; keçiboynuzu pekmezine alternatif olarak piyasada bulunan “keçiboynuzu özü” adı ile

pazarlanan ürünün, renk, asitlik, protein miktarı, kül miktarı gibi genel özelliklerine ek olarak, 5-Hidroksimetilfurfural (HMF), şeker, toplam fenolik madde ve mineral madde içeriğinin belirlenmesi, bu özelliklerin keçiboynuzu pekmezleri ile karşılaştırılması ve keçiboynuzu özünün beslenme açısından öneminin değerlendirilmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada ülkemizde satışa sunulan 12 farklı markaya ait keçiboynuzu özü kullanılmıştır. 12 farklı keçiboynuzu pekmezi de temin edilerek, örneklerin özellikleri belirlenmiş ve karşılaştırma yapılmıştır. Örnekler analiz edilinceye kadar 4°C'de karanlıkta muhafaza edilmiştir.

Yöntem

Örneklerin pH değerleri, Türk Standardı (TS) 3792 Üzüm Pekmezi Standardı'na göre belirlenmiştir (Türk Standartları Enstitüsü, 2012). Suda çözünür kuru madde (SÇKM) değerleri, AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 1984'e göre belirlenmiş ve sonuçlar % (m/m) olarak verilmiştir.

Renk ölçümünde, Konica Minolta renk tayin cihazı (Chroma meter CR- 5, Konica Minolta, Japonya) kullanılmıştır. L* (100: beyaz, 0: siyah), a* (+ kırmızı, - yeşil) ve b* (+ sarı, - mavi) değerleri ölçülmüştür.

Titrasyon asitliği değerleri, TS 1125 ISO 750 yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve değerler sitrik asit cinsinden (sitrik a.c.), % olarak verilmiştir. Formol sayısı, TS EN 1133'e göre (Türk Standartları Enstitüsü, 1996), toplam kül miktarları ise TS 3792'ye (Türk Standartları Enstitüsü, 2012) göre belirlenmiştir. Protein miktarları, AOAC 992.15-1992 yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir (AOAC, 1992).

Örneklerin toplam fenolik bileşik miktarının belirlenmesinde, Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmış (Singleton ve Rossi, 1965), sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g olarak verilmiştir. HMF miktarının tespitinde ise TS 6178 ISO 7466

metodundan yararlanılmıştır (Türk Standartları Enstitüsü, 2002).

Sakkaroz miktarının tespitinde AOAC 980.13-1980 metodu kullanılmıştır (AOAC, 1980). Analiz, izokratik koşullarda Agilent 1260 Infinity Refraktif İndeks Dedektörlü (RID) (Agilent, ABD) Agilent 1260 Infinity marka HPLC sistemi (Agilent, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 20 µL'dir. Waters Carbohydrate High Performance (Waters - Bondapak carbohydrate column, İrlanda) paslanmaz çelik kolon (300 x 4.0 mm, 4 µm) kullanılmıştır. Mobil faz 1 mL/dk. akış hızında %20 ultra saf su + %80 asetonitril'dir. Rutubetinden arındırıldıktan sonra 0.0001 g hassasiyetle tartılmış saf sakkaroz standardından %2'lik çözelti hazırlanarak stok standart çözelti elde edilmiştir. Ana stok standarttan seyreltilerek, % 0.05 – 0.1 – 0.5 – 1 ve 2'lik çalışma standartları hazırlanmıştır. Her standarttan 3'er enjeksiyon yapılarak elde edilen değerler kalibrasyon grafiğinin oluşturulmasında kullanılmıştır.

Mineral madde analizi öncesi yaklaşık 0.5 g pekmez örneği teflon kaplara alınmıştır. Üzerine 0.1 mol/L nitrik asitten 8 mL eklenerek, Cem Mars 6 marka mikrodalga fırında organik içerikler yakılmış (ilk 20 dk. 210°C, 15 dk. sabit sıcaklık ve son 15 dk. soğutma) ve çözündürme işlemi yapılmıştır. Çözündürme işlemi sonrasında elde edilen çözelti, Sartorius marka 125 mm'lik filtre kağıtlarından süzülmuş ve ultra saf su ile 25 mL'ye seyreltilmiştir. Seyreltme işlemi sonrası elde edilen berrak çözelti Agilent 7700 ICP- MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi) cihazına (Agilent, ABD) verilmiş ve Electron Multiplier Detektörde ölçümü yapılarak mineral madde analizi gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel Analizler

Örneklere uygulanan analizler üçer paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özünde pH, toplam fenolik bileşik, kül vb. parametrelerin farklılaşmasını incelemek amacıyla uygun analiz türüne karar vermek için öncelikle normal dağılım varsayımı test edilmiştir. Parametrelerin normal dağılım incelenmesinde Kolmogorov Smirnov, Shapiro-Wilks testleri ve

çarpıklık-baskılık istatistikleri ile bu istatistiklere ait standart hata değerleri birlikte değerlendirilmiştir. Normal dağılımın sağlandığı durumlarda bağımsız örneklem t-testi, sağlanmadığı durumlarda ise Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Örneklerin pH, SÇKM, asitlik, toplam kül, formol sayısı, protein ve sakkaroz değerleri
Örneklere ait pH, SÇKM, asitlik, toplam kül, formol sayısı, protein sonuçları Çizelge 1' de verilmiştir. Keçiyoynuzu pekmezi örneklerinin pH değerleri ortalama 5.12 olarak, keçiyoynuzu özü örneklerinin pH değerleri ise ortalama 5.11 olarak tespit edilmiştir. Keçiyoynuzu pekmezi ve keçiyoynuzu özü örnek gruplarına ait ortalama pH değerleri t-testi ile karşılaştırılmış ve iki gruba ait pH değerleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P > 0.05$). Pekmez benzeri ürünlerde pH değerini etkileyen çeşitli faktörler vardır. Meyvenin tür, çeşit ve olgunlaşma durumu, mevsimsel özellikler, üretim yöntemi önemli ölçüde pH'yı değiştirebilmektedir. Karakavuk (2014), tarafından yapılan çalışmada,

üzüm özü örneklerinin pH değerinin ve titrasyon asitliğinin, meyve çeşidi ve üretimde kullanılan sıcaklık gibi faktörlere bağlı olduğu tespit edilmiştir. Buna rağmen mevcut çalışmada, iki örnek grubunun ortalama pH değerlerinin birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. Elde edilen değerler, literatür ile uyumludur (Aksu ve Nas, 1996; Şengül vd., 2007; Turhan vd., 2007). Keçiyoynuzu pekmezi örneklerinin asitlik değerleri, ortalama %0.61; keçiyoynuzu özü örneklerinin asitlik değerleri ise ortalama %0.66 olarak bulunmuştur. İki örnek grubuna ait ortalama asitlik değerleri t-testi ile karşılaştırılmış ve iki gruba ait asitlik değerleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($P > 0.05$). TS 13717 Keçiyoynuzu Pekmezi Standardında, titrasyon asitliği % (sitrik a.c.); 0.9-0.12 olarak verilmiştir (Türk Standartları Enstitüsü, 2016). Şengül vd. (2007) keçiyoynuzu pekmezi için asitlik değerini % (sitrik a.c.) 0.60 olarak; Şimşek (2000) ise % (sitrik a.c.) 0.55-0.60 aralığında bildirmiştir. Keçiyoynuzu pekmezi ve özü örneklerine ait değerler, keçiyoynuzu pekmezi için literatürde verilen değerler ile uyumludur (Şimşek, 2000; Şengül vd., 2007).

Çizelge 1. Örneklerin bazı kimyasal özellikleri
Table 1. Some chemical characteristics of the samples

Örnek/Sample	pH	Suda Çözünür Kuru Madde/ Total Soluble Solids (%)	Asitlik/ Acidity (%sitrik asit cinsinden/ citric acid equivalent)	Toplam kül/ Total ash (%)	Formol sayısı/ Formol number (100 ml/0.1 M NaOH)	Protein/ Protein content (%)	
Keçiyoynuzu Pekmezi/ Carob molasses	Ortalama/ Mean	5.12	74.5	0.61	2.9	156.1	1.27
	S.S./ S.D. ¹	0.11	2.83	0.17	0.45	49.45	0.50
	Min-Max	4.90-5.28	69.0-79.4	0.39-0.90	1.7-3.4	86.7-261.7	0.17-1.81
Keçiyoynuzu Özü/ Carob Extract	Ortalama/ Mean	5.11	76.8	0.66	2.6	165.8	1.42
	S.S./ S.D. ¹	0.12	3.52	0.22	0.79	51.70	0.54
	Min-Max	4.87-5.39	69.0-81.2	0.31-0.91	0.7-3.5	86.7-263.3	0.37-2.13

¹: S.S. Standart Sapma/ S.D. Standard Deviation

Keçiyoynuzu özü örneklerine ait SÇKM değerleri (Çizelge 1), keçiyoynuzu pekmezi örneklerine ait ortalama değerden daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla %76.8 ve %74.5), ancak iki örnek

grubuna ait SÇKM değerleri t-testi ile karşılaştırıldığında ortalamalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$). Şimşek (2000) tarafından yapılmış olan bir

çalışmada keçiboynuzu pekmezinin SÇKM değeri %71.2-72.3 aralığında tespit edilmiştir. Keçiboynuzu pekmezinin ortalama SÇKM değeri Tetik vd. (2010) tarafından %71.50 olarak, Şengül vd., (2007) tarafından ise %72 olarak bildirilmiştir.

Keçiboynuzu pekmezi ve özü örneklerinin toplam kül değeri (Çizelge 1) ortalamaları sırasıyla %2.9 ve %2.6 olarak bulunmuştur. Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örnek gruplarına ait toplam kül değerleri Mann Whitney U-testi ile karşılaştırıldığında, iki gruba ait toplam kül değerleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P > 0.05$). Kül miktarı meyvenin cinsine ve yetiştiği bölgeye göre değişmektedir. Şenay (2009) tarafından yapılan ve 3 farklı keçiboynuzu çeşidinin kimyasal bileşiminin belirlendiği çalışmada, sisam, etli ve yabani cinsi keçiboynuzlarının % kül içerikleri sırasıyla 2.91, 3.11 ve 3.28 olarak tespit edilmiştir. Karkacier ve Artık (1995), yirmi iki farklı bölgeden aldıkları keçiboynuzu meyveleri üzerine yaptıkları araştırmada toplam kül değerini %2-3 arasında bildirmişlerdir. Şengül vd., (2007) keçiboynuzu pekmezinde kül değerini %2.48; Şimşek vd., (2000) ise %1.33-1.62 olarak bildirmiştir.

Pekmez örneklerinin formol sayısı değerleri (100 mL/0.1 M NaOH) ortalama 156.1 olarak, öz örneklerinin formol sayısı değerleri (100 mL/0.1 M NaOH) ise ortalama 165.8 olarak bulunmuştur (Çizelge 1). Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örnek gruplarına ait formol sayısı değerleri t-testi ile karşılaştırılmış ve iki gruba ait formol sayısı değerleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P > 0.05$). Elde edilen değerler, Tetik vd., (2010)'nin yapmış oldukları çalışmada keçiboynuzu pekmezi için elde edilen değerden yüksektir. TS 13717 standardına göre keçiboynuzu pekmezinin formol sayısı değeri, (100 mL için mL 0.1 M NaOH), en az 50 olarak belirtilmiştir (TSE, 2016). Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örnek gruplarına ait ortalama protein değerleri sırasıyla, %1.27 ve %1.42 olarak tespit edilmiş olup, sonuçlar t-testi ile karşılaştırılmış ve iki gruba ait protein değerleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$). Çalışmada tespit edilen protein oranı değerleri,

literatürde keçiboynuzu pekmezi için % 1.2 - 2.3 (Ekşi ve Artık, 1984; Turhan ve Karhan, 2004; Tetik vd., 2010) aralığında verilen değerler ile uyumludur. Pekmezin protein miktarı, üretimde kullanılan meyveye bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Şenay (2009)'ın yapmış olduğu çalışmada, sisam, etli ve yabani cinsi keçiboynuzu meyvelerinin protein içerikleri farklı (% protein içerikleri sırasıyla; 4.76, 3.01 ve 2.48) bulunmuştur.

Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örnek gruplarına ait ortalama sakkaroz değerleri sırasıyla %20.45 ve %20.11 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). İki örnek grubuna ait sakkaroz değerleri t-testi ile karşılaştırıldığında iki gruba ait sakkaroz değerleri arasında istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$). Pekmezlerdeki sakkaroz değeri, kullanılan meyveye, üretim yöntemine, uygulanan ısıl işleme ve süresine bağlı olarak değişebilmektedir. Keçiboynuzu, enerji içeriği yüksek bir meyve olup %52-%62 aralığında toplam şeker içermektedir (Pazır ve Alper, 2016). Pekmez üretimi prosesinde koyulaştırma işlemi, vakum ya da açık kazan yöntemiyle suyun buharlaştırılması esasına dayanır. Konsantrasyon işlemi, açık kazanda yüksek ısıda yapılırsa, pekmezdeki şekerin %5-10 kadarı karamelize olmaktadır (Batu ve Aktan, 1992). Literatürde, keçiboynuzu pekmezinin sakkaroz değeri ile ilgili farklı bilgiler bulunmaktadır. Şengül vd., (2007) tarafından yapılan çalışmada keçiboynuzu pekmezinin sakkaroz değeri %22.11, Tetik vd., (2010) tarafından yapılan çalışmada ise %45 olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada da keçiboynuzu pekmezinin sakkaroz değeri % 40.36 - 44.38 aralığında tespit edilmiştir (Şimşek, 2000). Erbil (2020) tarafından analiz edilen geleneksel keçiboynuzu pekmezi örneklerinin fruktoz içeriği %9.00-%20.80, glukoz içeriği %12.98-%18.74, sakkaroz içeriği %0.91-%16.61, maltoz içeriği %0-%23.52 aralığında; endüstriyel pekmez örneklerinin ise fruktoz içeriği %16.44-%32.64, glukoz içeriği %9.12-%29.43, sakkaroz içeriği %0.97-%25.61 ve maltoz içeriği %0-%8.61 aralığında bulunmuştur.

Keçiboynuzu pekmezinde bulunan toplam şekerin, büyük çoğunluğunu sakkaroz oluşturmaktadır (Ekşi ve Artık, 1984; Tetik vd., 2010). 2016 yılında yayımlanan ‘TS 13717 Keçiboynuzu Pekmezi Standardı’nda, keçiboynuzu pekmezinin sakkaroz içeriği %20-40 olarak belirtilmiştir (Türk Standartları Enstitüsü, 2016). Bu çalışmada keçiboynuzu pekmezi için %4.31-37.15, keçiboynuzu özü için %0.69-39.71 aralığında tespit edilen değerlerden bazıları, %20 sakkaroz değerinden çok daha düşüktür. Bu durumun, kullanılan meyve çeşidinden ve/veya

üretim yöntemine göre kısmen sakkarozun karamelize olmasından kaynaklanabileceği düşünülse de, pekmez ve öz örneklerinde tespit edilen %0.69. %4.31 gibi düşük sakkaroz düzeyleri, bu şekilde açıklanamamaktadır. Dolayısıyla, bu çalışmada analiz edilen örneklerde, tespit edilen düşük sakkaroz düzeyleri, glukoz/fruktoz şurubu gibi indirgen şeker içeren şuruplar kullanılarak pekmez ve/veya keçiboynuzu özü örneklerinde yapılmış olası tağşişi akla getirmektedir.

Çizelge 2. Örneklerin sakkaroz, HMF ve toplam fenolik bileşik içerikleri
Table 2. Saccharose, HMF and total phenolic compound contents of the samples

Örnek/ Sample	Sakkaroz/ Saccharose (g/100g)	HMF/ HMF (mg/kg)	Toplam fenolik bileşik / Total phenolic compounds (mg GAE/g)	
Keçiboynuzu	Ortalama/ Mean	20.45	11.33	11.84
Pekmezi/	S.S./ S.D. ¹	7.84	14.33	3.84
Carob molasses	Min-Max	4.31-37.15	0.79-50.25	5.80-18.00
Keçiboynuzu Özü/	Ortalama/ Mean	20.11	14.18	10.35
Carob Extract	S.S./ S.D. ¹	11.58	18.27	5.59
	Min-Max	0.69-39.71	1.25-68.77	0.10-18.40

¹: S.S. Standart Sapma/ S.D. Standard Deviation

Bazı kayıtdışı üreticiler tarafından yapılan olası tağşişin en yaygın örneklerinden biri, orijinal pekmez numunelerine düşük maliyetli şeker kaynaklarının eklenmesiyle ve gerektiğinde karamel ilavesi ile orijinal ürün görüntüsünün taklit edilmesidir (Şimşek vd., 2004; Tosun 2014; Yılmaz ve Afşar, 2012; Durmaz vd., 2018; Yaman ve Duraklı Veliöğlu, 2019). Bu amaçla pekmezin üretimi sırasında veya sonrasında farklı oranlarda glukoz, fruktoz, maltoz şurupları ve sakkaroz eklendiği veya şeker şurupları, renklendirici, aroma verici gibi katkılarla pekmezin şeker profili, rengi, yapısı ve tadı taklit edilerek pekmez adı altında satılabildiği ifade edilmektedir (Şimşek vd., 2004; Tosun, 2014). Pekmez ve benzeri ürünlerde taklit/tağşişi tespit etmek için hassas analitik yöntemler kullanılmakta olup (Yılmaz ve Afşar, 2012; Boyacı vd., 2015; Li vd., 2017; Durmaz vd., 2018; Yaman ve Duraklı Veliöğlu, 2019), sadece sakkaroz miktarına dayanarak olası taklit/tağşişi tespit etmek mümkün değildir. Ancak sakkaroz miktarının çok düşük olmasının, olası taklit/tağşişe işaret edebileceği de açıktır.

Tosun ve Keleş (2008), dut pekmezine farklı şeker şurupları ilave ederek hile belirleme yöntemlerini araştırdıkları çalışmalarında, glukoz şurubu katılan pekmez örneklerinde SÇKM, HMF ve viskozite değerlerinin arttığını rutubet, invert şeker, sakkaroz, pH, özgül ağırlık, toplam şeker, kül ve iletkenlik değerlerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Şeker pancarı ile yapılan tağşişin belirlenmesinde şeker bileşenleri analizinin önemli olduğu ancak, üretim sırasında şekerin inversiyon işlemine uğratılarak fruktoz/glukoz oranının standartta belirtilen limitlere ayarlanmasıyla, bu yöntemin tağşişi tespit etmekte yetersiz kalabileceği ifade edilmiştir (Tosun ve Keleş, 2012). Erbil (2020) tarafından yapılan çalışmada elde edilen şeker bileşimi ve karbon izotop analiz sonuçlarına göre, analiz edilen keçiboynuzu örneklerinin birçoğuna şeker şurubu ve/veya farklı meyve pekmezi katılmak sureti ile tağşiş yapıldığının anlaşıldığı ifade edilmektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örneklerine ait

kimyasal özelliklerin farklı değerler aldığı görülmekte ise de, bu farkların istatistiki olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Örneklerdeki olası taşıması belirlemek, mevcut çalışmanın amaçları arasında bulunmadığından, bu amaca yönelik analiz yapılmamıştır. Dolayısıyla her iki gruba ait örneklerin hepsinin sonuçları, ilgili ortalamaların hesaplanmasında ve istatistiki değerlendirmede kullanılmıştır. Olası taşımalı ürünlerin mevcudiyeti, ortalamalardaki farklılığın nedeni olabilir. Ayrıca, iki örnek grubu arasındaki farklılığın nedeni prosesteki farklılıkların yanında, ürünlerin üretilmiş olduğu meyvenin özelliklerindeki farklılıklar da olabilir. Çünkü keçiboynuzu meyvesinin kimyasal bileşimi, bitkinin türüne, yetiştiği bölgeye, iklime, hasat zamanına göre değişmektedir (Owen vd., 2003; İpumbu, 2008).

Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özünün HMF içerikleri

Örneklere ait HMF değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Keçiboynuzu pekmezi örneklerinin HMF değerleri, 0.79-50.25 mg/kg aralığında değişmiş olup, ortalama 11.33 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Keçiboynuzu özü örneklerinin HMF değerleri ise 1.25-68.77 mg/kg aralığında tespit edilmiş olup, ortalama 14.18 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örnek gruplarına ait HMF değerleri Mann Whitney U-testi ile karşılaştırılmış ve iki gruba ait HMF değerleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$). HMF, Maillard reaksiyonunda ara ürün olarak (Ames, 1992) veya gıdalara uygulanan ısı işlemler sırasında asidik koşullar altında şekerlerin doğrudan dehidrasyonu (Kroh, 1994) oluşan furanik bir bileşiktir. Meyvelerin doğal bileşim unsurları içerisinde (Telatar, 1985) ve ısı işlem uygulanmamış ürünlerde (Aksar, 1984) HMF bulunmamaktadır.

Son yıllarda yapılan *in vivo* çalışmalarla, HMF'nin genotoksik potansiyeli bulunduğu rapor edilmektedir (Capuano ve Fogliano, 2011). Gıda ürünlerinde HMF miktarı, ürünün içerdiği şeker türü, miktarı, pH değeri, su aktivitesi gibi faktörlerin yanında ürüne uygulanan ısı işlem sıcaklığı, depolama sıcaklığı, depolama süresi gibi birçok faktöre bağlıdır. Genel olarak, HMF birçok işlenmiş ürün için kalite göstergesi olarak

kullanılabilir ve HMF varlığı, üretim sırasında yüksek sıcaklıkta ısı işlem uygulaması ve/veya yüksek sıcaklıkta depolamanın kanıtı olarak nitelendirilir (Kayahan, 1982; Özhan vd., 2010; Tetik vd., 2010; Capuano ve Fogliano, 2011; Oral vd., 2012).

Mevcut çalışmada keçiboynuzu pekmezi ve özü örneklerine ait HMF değerlerinin benzer olması, üretim koşullarının da benzer olduğunu akla getirmektedir. Şimşek ve Artık (2002) tarafından yapılan çalışmada, keçiboynuzu pekmezinde HMF miktarı, 4.1-7.0 mg/kg aralığında bildirilmiştir. Keçiboynuzu pekmezinde HMF değerini, Şengül vd., (2007) 21.32 mg/kg, Turhan vd., (2007) 1.53 mg/kg, Tetik vd., (2010) 12.25 mg/kg olarak tespit etmiştir. Yiğit (2016) tarafından yapılan çalışmada ise, piyasadan satın alınan keçiboynuzu pekmezi örneklerinin ortalama HMF içeriği 24.2 mg/kg olarak belirlenmiştir. Mevcut çalışmada analiz edilen örnek gruplarına ait ortalama HMF değerlerinin, keçiboynuzu pekmezi için önceki çalışmalarda tespit edilen değerlere benzer olduğu ifade edilebilir ancak bazı örneklerde, literatürde keçiboynuzu pekmezi için verilen değerlerden daha yüksek HMF değerlerinin de saptanmış olduğu görülmektedir (Çizelge 2). Ayrıca yeni üretilmiş ve piyasaya arz edilmiş, dolayısıyla uzun süre depolanmamış olduğu bilenen bir keçiboynuzu özü örneğinde 68.77 mg/kg düzeyinde HMF tespit edilmesi, bu örneğe yüksek sıcaklıkta ısı işlem uygulanmış olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum da keçiboynuzu özünün üretiminde düşük sıcaklık uygulamalarının kullanıldığı iddiası ile çelişmektedir. Dahası, keçiboynuzu meyvesinin düşük asitlik düzeyi nedeniyle, yüksek sıcaklıkta uzun süre ısı işlem sonrasında dahi keçiboynuzu pekmezinde HMF miktarının düşük olduğu rapor edilmiştir (Tetik vd., 2010). Erbil (2020) tarafından yapılan çalışmada da, keçiboynuzu meyvesinden üretilen pekmez örneklerinin genelinde HMF miktarının düşük bulunduğu ifade edilmektedir. Bunun nedeninin ise yüksek pH içeriğinin yanı sıra keçiboynuzu meyvesinin yüksek fenolik madde içeriğinin, keçiboynuzu pekmezinde HMF oluşumunu azaltıcı yönde etki göstermesi olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca keçiboynuzu meyvesindeki yüksek C vitamini

içeriğinin de, HMF oluşumunu baskılayıcı yönde etki gösterebileceği ifade edilmiştir (Erbil, 2020). Tosun ve Keleş (2012) tarafından yapılan çalışmada, glukoz ve/veya yüksek fruktozlu mısır şurubu ile pekmezde yapılan tağşişte, örneklerin HMF değerinin arttığı ve sakkaroz içeriğinin azaldığı ifade edilmektedir. Tosun ve Keleş (2012) tarafından açıklanan duruma benzer şekilde, sakkaroz miktarının %4.31 ve %14.29, HMF değerinin ise sırasıyla 30.10 ve 50.25 mg/kg olarak belirlendiği pekmez örneklerinde, şeker şurupları ile tağşiş yapılmış olabileceği akla gelmektedir. Bu nedenle, keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örneklerinde yüksek olan HMF düzeylerinin olası tağşişe işaret ettiği düşünülmektedir. Erbil (2020) tarafından yapılan çalışmada da hem geleneksel hem de endüstriyel üretim yöntemleriyle elde edilmiş pekmez örneklerinde, çeşitli yöntemlerle tağşiş yapılmış olduğunun tespit edildiği ve piyasada yüksek HMF içerikli ürünlerin de bulunduğu bildirilmiştir.

Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özünün toplam fenolik bileşik içeriklerinin karşılaştırılması

Örneklerin toplam fenolik bileşik içerikleri Çizelge 2'de verilmiştir. Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örnek gruplarına ait değerler, sırasıyla 5.80-18.00 mg GAE/g ve 0.10-18.40 mg GAE/g aralığında değişim göstermiştir. Pekmez örneklerinin toplam fenolik bileşik değerleri ortalama 11.84 mg GAE/g; öz örneklerinin toplam fenolik bileşik değerleri ise ortalama 10.35 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örnek gruplarına ait toplam fenolik bileşik değerleri t-testi ile karşılaştırılmış ve iki gruba ait toplam fenolik bileşik değerleri arasında istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$).

Keçiboynuzu meyvesindeki polifenoller, son zamanlarda çok çeşitli sağlık faydaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir (Pazır ve Alper, 2016; Christou vd., 2021). Ayaz vd., (2007) tarafından yapılan bir çalışmada; keçiboynuzu pekmezinin toplam fenolik bileşik miktarı 13.51 mg GAE/g, Tetik vd., (2010)'nin yaptığı çalışmada ise toplam fenolik bileşik miktarı 1.62 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Mevcut çalışmada tespit edilen

ortalama değerler, Ayaz vd., (2007) tarafından tespit edilen değere yakın ancak Tetik vd., (2010) tarafından raporlanan değerden oldukça yüksektir. Toplam fenolik bileşik içeriği, üretim sıcaklığına, üretim süresine, meyvenin yapısına ve yetiştirilme şartlarına bağlı olarak değişmektedir. Meyvenin olgunluk düzeyinin de fenolik bileşik içeriğine önemli etkisinin olduğu bildirilmektedir (Christou vd., 2021). Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar, iki farklı proses ile elde edildiği iddia edilen iki ürün grubu için, fenolik madde kayıplarının eşdeğer olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, yüksek sıcaklık uygulanmadığı iddia edilen keçiboynuzu özü örnekleri içerisinde, toplam fenolik bileşik miktarı 0.10 ± 0.00 mg GAE/g olan örnekte, tespit edilen bu düşük fenolik madde içeriğinin nedeninin, proses kaynaklı fenolik madde kaybı olamayacağı düşünülmektedir. Aynı örneğin sakkaroz miktarının 0.69 ± 0.34 olduğu da göz önünde bulundurulduğunda, bu durumun olası taklit/tağşişe işaret edebileceği ifade edilebilir.

2016 yılında yayımlanan TS 13717 Keçiboynuzu Pekmezi Standardında, Briks % en az 70; pH 4.5-6; sakkaroz %20-40; toplam kül % en çok 3.5; HMF (mg/kg) en çok 30; titrasyon asitliği (sitrik asit cinsinden) %0.12-0.9 olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar incelediğinde 1 adet pekmez ve 1 adet öz örneğinin °Briks değerleri; 1 adet öz örneğinin asitlik değeri; 2 adet pekmez ile 1 adet öz örneğinin HMF değerleri; 4 adet pekmez ile 6 adet öz örneğinin sakkaroz değerlerinin TS 13717, Keçiboynuzu Pekmezi Standardına (Türk Standartları Enstitüsü, 2016) uygun olmadığı görülmüştür. Bunun nedeni olarak ürünlerin standart koşullarda üretilmemiş olması ve/veya ürünlerde yapılmış olan olası taklit/tağşiş düşünülebilir. Özellikle sakkaroz içeriğinde sayıca fazla olan uygunsuzluklar, ürünlerin üretiminde ciddi aksaklıkların olduğunu göstermektedir.

Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özünün renk değerlerinin karşılaştırılması

Konica Minolta renk tayin cihazı (Chroma meter CR- 5, Konica Minolta, Japonya) kullanılarak yapılan renk ölçümünde, örneklere ait L*, a*, b* değerleri belirlenmiştir. L* değeri, açıklık-koyuluk değerini ifade etmekte, pozitif (+) a*

Keçiboynuzu özü ve keçiboynuzu pekmezinin bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi

değeri kırmızılık, negatif a* (-) değeri ise yeşillik oranını; pozitif (+) b* değeri sarılık, negatif (-) b* değeri ise mavilik oranını vermektedir (Dobrzansk

ve Rybczynsk, 2002). Örneklere ait renk analizi sonuçları Çizelge 3' de verilmiştir.

Çizelge 3. Örneklerin renk sonuçları
Table 3. Color values of the samples

Örnek/ Sample		Renk/Color		
		L*	a*	b*
Keçiboynuzu Pekmezi/ Carob molasses	Ortalama/ Mean	0.42	0.58	0.12
	S.S./ S.D. ¹	1.01	0.89	0.82
	Min-Max	0.01 - 3.60	-0.04-2.35	-0.25-2.66
Keçiboynuzu Özü/ Carob Extract	Ortalama/ Mean	0.46	2.39	0.52
	S.S./ S.D. ¹	1.22	6.81	2.09
	Min-Max	0.02 - 4.26	-0.07-23.51	-0.23-7.05

¹: S.S. Standart Sapma/ S.D. Standard Deviation

Pekmezler için ölçülen L* değeri ortalama 0.42; a* değeri ortalama 0.58 ve b* değeri ortalama 0.12 olarak bulunmuştur. Özlerde ise L* değeri ortalama 0.46; a* değeri ortalama 2.39 ve b* değeri ortalama 0.52 olarak bulunmuştur. Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örnek gruplarına ait ortalama L*, a* ve b* değerleri Mann Whitney U-testi ile karşılaştırılmıştır. İki gruba ait bu değerler arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Şengül vd., (2007) tarafından, keçiboynuzu pekmezi ile yapılan çalışmada, L* değeri 19.35; a* değeri +4.35; b* değeri -6.01 olarak tespit edilmiştir. Şimşek (2000) tarafından yapılan çalışmada ise keçiboynuzu pekmezinin L*, a*, b* değerleri sırasıyla, 16.45 – 19.25; 0.58 – 0.68 ve 0.46 – 0.55 aralığında verilmiştir. Tetik vd., (2010) ise keçiboynuzu pekmezinde L* değerini 16.33; a* değerini 1.29; b* değerini 1.21 olarak bildirmiştir. Toker vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada ise, farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan keçiboynuzu pekmezi örneklerinin L* değerleri 1.25-2.79, a* değerleri 0.72- 2.37, b* değerleri ise 0.64-2.85 aralığında tespit edilmiştir. Bu çalışmada tespit edilen L* değerlerinin, Şengül vd., (2007), Şimşek (2000) ve Tetik vd., (2010) tarafından rapor edilen değerlerden daha düşük olduğu, Toker vd. (2013) tarafından tespit edilen değerlere yakın olduğu, a* ve b* değerlerinin ise , literatürde verilen değerlerle uyumlu olduğu görülmektedir. Renk değerleri; meyvenin çeşidi, olgunluk derecesi, sıcaklık, depolama süresi gibi çeşitli etkenlere göre değişiklik gösterebilir. Bunun yanında renk

üzerinde en önemli faktörlerden biri de pekmez üretim yöntemidir. Açık kazanda yüksek ısıda konsantrasyon uygulamasında meydana gelen karamelizasyon olayı, pekmezin koyu renginin nedenidir (Batu ve Aktan, 1992). L* değerlerinin literatürdeki sonuçlar ile arasındaki farkın bir nedeni de kullanılan ölçüm yöntemi olabilir. Proseste uygulanan sıcaklık ve süreye bağlı olarak rengin koyulaşması yani L* değerinde düşüş gözlemlenmektedir. Karakavuk (2014) tarafından, üzüm özü üretiminin 65 °C, 75 °C ve 85 °C ve 100 °C'de gerçekleştirildiği çalışmada da, L* değerinin sıcaklık arttıkça önemli ölçüde düştüğü belirlenmiştir. Aynı çalışmada, b* değerinin tür, çeşit, olgunluk derecesi gibi faktörlere göre oldukça fazla değiştiği bildirilmiş, a* değerinin ise antosiyanin varlığı ile paralel olduğu tespit edilmiştir.

Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özünün mineral madde değerlerinin karşılaştırılması

Çizelge 4'te örneklere ait mineral madde sonuçları verilmiştir. Örneklerin mineral madde dağılımı incelendiğinde, Na ve K minerallerinin diğer minerallere kıyasla daha yüksek miktarda olduğu görülmüştür. Ayrıca ortalama sonuçların iki ürün grubu arasında benzer olduğu tespit edilmiştir. Keçiboynuzu meyvesi, oldukça yüksek oranda mineral madde içeriğine sahip olup özellikle potasyum (843-1215 mg/kg) ve kalsiyum (251 - 361 mg/kg) bakımından zengin olarak bilinmektedir (Pazır ve Alper, 2016).

Çizelge 4. Mineral madde analiz sonuçları
Table 4. Results of the mineral analysis

Örnek/ Sample		Mineraller/Minerals (mg/kg)					
		Na	Ca	Fe	Mg	P	K
Keçiboynuzu	Ortalama/ Mean	1246.11	818.92	10.20	431.78	588.82	9616.34
Pekmezi/ Carob	S.S./S.D. ¹	556.02	198.64	21.57	107.61	176.65	2366.45
pekmez	Min-Max	180.20 -	380.55 -	2.20 -	205.80 -	297.62 -	4600.53 -
		2121.72	1093.46	78.54	582.83	780.74	12357.24
Keçiboynuzu Özü/ Carob	Ortalama/ Mean	1385.29	873.57	5.14	429.72	579.02	9172.44
Extract	S.S./S.D.	1424.19	283.71	3.66	141.71	220.93	3128.15
	Min-Max	15.90 -	145.56 -	1.81 -	29.65-	40.74 -	481.62 -
		5302.09	1213.68	15.16	580.23	807.27	11975.54
Örnek/ Sample		Mineraller/Minerals (µg/kg)					
		Se	B	Co	Cu	Zn	
Keçiboynuzu	Ortalama/ Mean	9.95	442.92	52.85	475.11	3102.07	
Pekmezi/ Carob	S.S./S.D.	5.09	149.49	11.58	144.69	860.42	
pekmez	Min-Max	5.59 - 21.15	231.93 -	30.00 -	334.69 -	1990.65 -	
			728.79	67.34	734.44	4879.56	
Keçiboynuzu Özü/ Carob	Ortalama/ Mean	8.34	458.25	43.27	495.91	2752.33	
Extract	S.S./S.D.	3.70	139.83	14.77	192.01	791.94	
	Min-Max	2.75 - 13.12	146.21 -	19.72 -	253.75 -	683.78 -	
			694.94	66.48	805.24	3446.99	
Örnek/ Sample		Mineraller/Minerals (µg/kg)					
		Hg	As	Pb	Sn	Cd	Cr
Keçiboynuzu	Ortalama/ Mean	4.45	30.56	51.91	18.03	1.40	40.85
Pekmezi/ Carob	S.S./S.D.	1.19	61.77	36.81	8.41	0.39	21.47
pekmez	Min-Max	2.81 -	2.98 -	28.95 -	7.63 -	0.75 -	23.80 - 103.59
		6.49	210.17	163.16	33.55	1.94	
Keçiboynuzu Özü/ Carob	Ortalama/ Mean	4.59	24.27	53.37	22.53	1.75	46.54
Extract	S.S./S.D.	1.81	46.71	29.97	15.34	0.84	43.10
	Min-Max	2.82 -	1.81 -	25.94 -	4.77 -	0.39 -	17.28 - 175.94
	8.16	131.85	131.96	52.84	3.80		

¹: S.S. Standart Sapma/ S.D. Standard Deviation

Keçiboynuzu pekmezi ve keçiboynuzu özü örnek gruplarına ait ortalama mineral değerleri As, Cr, Pb, Zn, Ca, Na, Fe, P, Mg ve K sonuçları için Mann Whitney U-testi, diğer mineraller için ise t-testi kullanılarak karşılaştırılmış ve tüm mineraller için iki ürün grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$).

Mineral madde dağılımı incelendiğinde, keçiboynuzu pekmezlerinin ve özlerinin yüksek oranda potasyum ve sodyum içerdiği tespit edilmiştir. Potasyum, insan vücudu için hayati önem taşıyan bir mineraldir. Vücudun hücre duvarlarının %98'i K içermektedir. Sodyumla birlikte vücuttaki su dengesinin kurulmasını sağlamaktadır (Karadeniz, 2004; İnan ve Gül,

2001; Cashman, 2006). Potasyum eksikliğinde ise hipertansiyon, kalp ritim bozukluğu ve halsizlik gibi durumlar görülmektedir (Tapiero vd., 2003). Tetik vd., (2010) tarafından yapılan çalışmada, keçiboynuzu pekmezindeki K, Ca, P, Mg, Na, Fe, Cu, Zn ve Mn mineral değerleri, sırasıyla (mg/100g): 1057; 314.9; 77.8; 55.6; 17.1; 1.4; 0.5; 0.4 ve 0.3 olarak bildirilmiştir. Şimşek (2000) ise keçiboynuzu pekmezinde yer alan mineralleri, fosfor (mg/100 g) 52-60; demir (mg/100 g) 0.31-0.38; bakır (mg/100 g) 0.30-0.42; çinko (mg/100 g) 0.10-0.14; potasyum (mg/100 g) 410-447; sodyum (mg/100 g) 12-16; magnezyum (mg/100 g) 47-54; kalsiyum (mg/100 g) 130-144 olarak bildirmiştir. İzgi (2011) tarafından yapılmış çalışmada, keçiboynuzu pekmezlerine ait Na değeri (mg/kg) 14.00; Ca değeri (mg/kg) 135.00; Fe değeri 0.34; Mg (mg/kg) değeri 50.00; K değeri 423 ve P değeri ise (mg/kg) 55.00 olarak bulunmuştur. Biçer (2018) tarafından yapılan çalışmada da 7 adet keçiboynuzu pekmezi incelenmiş ve Se değerleri 4.60-9.76 mg/L aralığında; Na değerleri 180.3-539.5 mg/L aralığında; Ca değerleri 136.5-239.8 mg/L aralığında; Fe değerleri 1.941-16.15 mg/L aralığında; Mg değerleri 79.88-28.54 mg/L aralığında; K değerleri 3392.1-764.7 mg/L aralığında; B değerleri 0.216-13.53 mg/L aralığında ve Zn değerleri 0.683-3.186 mg/L aralığında bulunmuştur.

Mineral madde analizi sonuçlarının farklı değerlerde bulunmasının nedeni olarak, keçiboynuzu meyvesinin yetiştiği toprağın element içeriği, meyvelerin tipi, proses aşamalarının etkisi (Tounsi vd., 2020) gibi faktörler gösterilebilir. TGK Bulaşanlar Yönetmeliği'nde yer alan toksik metallere Pb; meyveler için en çok 0.10 mg/kg olarak sınırlandırılmıştır (Anonymous, 2011). Elde edilen sonuçlara göre, 1 adet keçiboynuzu pekmezi örneği dışındaki bütün örneklerin bu yönetmeliğe uygun olduğu görülmüştür. Aynı yönetmelikte Hg için, gıda takviyelerinde bulunmasına izin verilen maksimum miktar, 0.10 mg/kg'dır. Keçiboynuzu özü olarak piyasaya sürülen bazı örneklerin etiket incelemeleri yapıldığında gıda takviyesi olarak tanımlandıkları görülmüştür. Bu açıdan bakılınca, çalışmada tespit edilen Hg içeriklerinin de, takviye

gıdalar için belirtilen sınır değerden çok daha düşük olduğu görülmektedir.

SONUÇ

Piyasadan temin edilen örneklerin incelenmesi sonucunda elde edilen bulgulara göre; keçiboynuzu özleri ile keçiboynuzu pekmezlerinin fiziksel ve kimyasal değerleri arasında istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). İki grup arasındaki sonuçlarda önemli bir farkın olmaması, bu iki ürün grubunun üretim proseslerinde de anlamlı farklılıkların olmadığına göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu nedenle iki gruba ait örneklerin de aynı tarz ürün olduğu düşünülebilir. Ancak bu durum, üzüm pekmezi ve üzüm özü örnekleri için düşünüldüğünde, Türk Gıda Kodeksi Üzüm Pekmezi Tebliği'ndeki (Anonymous, 2017), “*Bu Tebliğ kapsamındaki ürünlerin adlandırılmasında ‘özü, özütü, konsantresi, ekstraktı’ gibi ifadeler kullanılmama*” maddesi ile bu isimlendirmenin, kesin bir şekilde yasaklandığı görülmektedir. Elde edilen sonuçların, literatürde keçiboynuzu pekmezi için bildirilmiş değerlerle arasındaki farkın, keçiboynuzu meyvesinin çeşidi, olgunluk derecesi ve yetiştirildiği bölgenin özelliklerindeki farklılıklar gibi birçok faktörden kaynaklandığı söylenebileceği gibi, ürünlerin standart koşullarda üretilmemiş olmasından veya ürünlerde yapılmış olası taklit/tağşişten de kaynaklanabileceği ifade edilmelidir.

Ülkemiz Gıda Mevzuatında, “keçiboynuzu özü” adı ile tanımlı bir ürün, dolayısıyla bu ürün ile ilgili düzenlemelerin yer aldığı herhangi bir standart veya tebliğ bulunmamaktadır. Bu durumun bir denetim eksikliğine neden olabileceği ve özellikle de çocuklar, hamileler gibi hassas tüketici grupları için ön plana çıkan ürünün, taklit-tağşişe açık hale gelebileceği düşünülmektedir. Piyasada bulunabilecek taklit-tağşişli ürünler, insan sağlığını tehdit edebileceği gibi dürüst üreticiler için de sorun teşkil etmektedir.

Ne yediğini bilmek her tüketicinin hakkıdır ve bu nedenle “keçiboynuzu özü” ismiyle veya benzer isimlerle piyasaya sürülen ürünler ile ilgili yasal düzenlemelere ihtiyaç bulunmaktadır. Türk Gıda Kodeksinde, Keçiboynuzu Pekmezi ile ilgili yapılacak yasal düzenlemelerde, ‘özü, özütü,

konsantresi, ekstraktı gibi ifadelerin kullanılmayacağı kesin bir şekilde belirtilmelidir. Bununla birlikte, doğal ürünlere, gıda takviyelerine olan ilginin her geçen gün arttığı gerçeği de göz önünde bulundurularak, mevzuattaki boşluk giderilmeli, ilgili üretim prosesleri standartlaştırılmalı ve ürün özellikleri belirlenmelidir. Buna istinaden denetimler sıklaştırılmalı ve uygun olmayan ürünleri üreten işletmelere gerekli yasal işlemler yapılmalıdır.

Bu çalışmayla piyasada bulunan keçiboynuzu özlerinin bazı kimyasal kalite özellikleri ve besin değerleri tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçların, keçiboynuzu özü ile ilgili yapılacak çalışmalara kaynak teşkil edebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, piyasada yer bulan bu ürün ile ilgili yasal düzenlemelere de zemin hazırlayabilecektir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

Çalışma, Alev YAVUZ KÜÇÜK'ün yüksek lisans tez çalışmasından üretilmiş olup, Alev YAVUZ KÜÇÜK, çalışma fikrinin oluşmasında, deneylerin planlanması ile yapılışında görev almış ve makale metnini oluşturmuştur. Serap DURAKLI VELİÖĞLÜ, danışman olarak çalışma fikrinin oluşmasında, deney tasarımının oluşturulmasında, verilerin değerlendirilmesinde ve makale taslağının kontrolünde/düzenlenmesinde görev almıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

TEŞEKKÜR

Yazarlar, bu çalışmadaki analizlerin gerçekleştirilmesini sağlayan T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı İstanbul Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'ne teşekkür eder.

KAYNAKLAR

Agrawal, A., Mohan, M., Kasture, S., Foddis, C., Frau. M.A., Loi, M.C., Maxia, A. (2011). Antidepressant activity of *Ceratonia Siliqua* L. fruit extract, a source of polyphenols. *Natural Product*

Research 25(4): 450-456. doi: 10.1080/14786419.2010.527447.

Aksar, A. (1984). Flavour changes during production and storage of fruit juices. *FLÜSSİGES OBST* 51: 564-569.

Aksu, M.İ., Nas, S. (1996). Dut pekmezi üretim tekniği ve çeşitli fiziksel-kimyasal özellikleri. *Gıda Teknolojisi Derneği Dergisi* 21(2): 83-88.

Ames, J.M. (1992). *The Maillard reaction*. In: Biochemistry of food proteins, Hudson, B.J.F. (ed.), Elsevier, London, UK, 99-153 p.

Anonymous (2011). Türk Gıda Kodeksi, Bulaşanlar Yönetmeliği, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Anonymous (2017). Türk Gıda Kodeksi, Üzüm Pekmezi Tebliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 30 Haziran 2017 tarih ve 30110 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

AOAC (1992). Official Method 992.15, Crude Protein in Meat and Meat Product, Including Pet Foods, Combustion Method, First Action. Washington DC, the USA.

AOAC (1980). Official Method 980.13, Fructose, Glucose, Lactose, Maltose and Sucrose in Milk Chocolate, Liquid Chromatographic Method, First Action. Washington DC, the USA.

Ayaz, F.A., Torun, H., Ayaz, S., Correia, P.J., Alaiz, M., Sanz, C., Gruz, J., Strnad, M., (2007). Determination of chemical composition of Anatolian carob pod (*Ceratonia siliqua* L.): sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. *Journal of Food Quality* 30: 1040-1055, doi: 10.1111/j.1745-4557.2007.00176.x.

Batu, A., Aktan, N. (1992). Kuru üzümlerden pekmez yapılmasında şıraya uygulanan asit gidericilerin miktarı üzerine bir araştırma, *GIDA* 17(2): 143-150.

Biçer, Ü.N.S. (2018). Karaman'da üretilen bazı pekmez çeşitlerinin ağır metal içeriklerinin ICP-OES ve AAS metotlarıyla belirlenmesi. Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Karaman, Türkiye.

- Boyacı, I.H., Temiz, H.T., Genis, H.E., Soykut, E.A., Yazgan, N.N., Güven, B., Uysal, R.S., Bozkurt, A.G., İlaslan, K., Torun, Ö. (2015). Dispersive and FT-Raman spectroscopic methods in food analysis. *RSC Advances* 5: 56606–56624, doi: 10.1039/C4RA12463D.
- Capuano, E., Fogliano, V. (2011). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies, *LWT - Food Science and Technology* 44(4): 793-810, doi: 10.1016/j.lwt.2010.11.002.
- Cashman, K.D. (2006). Milk minerals (Including trace elements) and bone health. Review. *International Dairy Journal* 16: 1389-1398, doi: 10.1016/j.idairyj.2006.06.017.
- Christou, A., I.J., Stavrou, Kapnissi-Christodoulou, C.P. (2021). Continuous and pulsed ultrasound-assisted extraction of carob's antioxidants: Processing parameters optimization and identification of polyphenolic composition. *Ultrasonics Sonochemistry* 76: 105630, doi: 10.1016/j.ultsonch.2021.105630.
- Dobrzanski, B., Rybczyński, R. (2002). Colour change of apple as a result of storage. Shelf-life and bruising. *International Agrophysics* 16: 261-268.
- Durmaz, G., İzci, Y., Yilmaztekin, M., Cam, M. (2018). Adulteration in pekmez and detection methods. 4th International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, 19–21 April 2018, Cyprus, 4 p.
- Ekşi, A., Artık, N. (1984). Pestil nasıl yapılır. *Bilim ve Teknik* 17 (198): 32- 34.
- Erbil, D. (2020). Endüstriyel ve geleneksel yöntemlerle üretilmiş farklı pekmez çeşitlerinin bazı fizikokimyasal ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye
- Evrans, Ş., Tayyarcan, E. K., Acar-Soykut, E., Guven, B., Duraklı-Velioglu, S., Boyacı, İ. H. (2022). Investigation of phage and molasses interactions for the biocontrol of *E. coli* O157:H7. *Canadian Journal of*
- Microbiology*. 68(1): 55-65. <https://doi.org/10.1139/cjm-2021-0211>.
- FAO (2021). Food and agriculture data. Crops and livestock products. www.fao.org/faostat/en/#data/QCL (Accessed: 12.08.2022).
- Guler, G., Gubbuk, H. (2020). Current situation of carob in Turkey. *Acta Horticulturae* 1280: 247-254, doi:10.17660/ActaHortic.2020.1280.34.
- İpumbu, L. (2008). Composition analysis of locally cultivated carob (*Ceratonia siliqua*) cultivars and development of nutritional food products for a range of market sectors. PhD Thesis, Stellenbosch University The Department of Food Science, Western Cape Winelands, South Africa
- İnan, Y., Gül, M. (2001). *Biyokimya*. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, Türkiye.
- İzgi, N. (2011). Ev yapımı andız pekmezinin bileşimi, reolojik özellikleri, antioksidan ve antimikrobiyel aktivitelerinin belirlenmesi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye
- Karadeniz, T. (2004). *Şifalı meyveler (Meyvelerle beslenme ve tedavi şekilleri)*. Burcan Ofset Matbaacılık. Ordu. ISBN: 9752888674. 208 s.
- Karakavuk, E. (2014). Üzümden 'Üzüm Özü' adında yeni bir ürün eldesi üzerine bir araştırma. Tunceli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tunceli, Türkiye
- Karkacier, M., Artık, N. (1995). Keçiboynuzunun (*Ceratonia siliqua* L.) fiziksel özellikleri, kimyasal bileşimi ve ekstraksiyon koşulları. *GIDA* 20 (3): 131-136.
- Kayahan, M. (1982). *Üzüm şirasının pekmeze islenmesinde meydana gelen terkip değişimleri üzerinde araştırmalar*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, Türkiye, Bilimsel Araştırma ve İncelemeler 472.
- Kroh, L.W. (1994). Caramelisation in food and beverages. *Food Chemistry* 51, 373-379.
- Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M., Nakayama, T. (2002). Antioxidant activity of polyphenols in carob pods.

Journal of Agriculture and Food Chemistry 50: 373-377, doi: 10.1021/jf010938r.

Li, S., Zhang, X., Shan, Y., Su, D., Ma, Q., Wen, R., Li, J. (2017). Qualitative and quantitative detection of honey adulterated with high-fructose corn syrup and maltose syrup by using near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 218: 231-236, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.105.

Naderi-Boldaji M., Mishra P., Ahmadpour-Samani M., Ghasemi-Varnamkhasti M., Ghanbarian D., Izadi Z., (2018). Potential of Two Dielectric Spectroscopy Techniques and Chemometric Analyses for Detection of Adulteration in Grape Syrup. *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation* 127: 518-524, doi: 10.1016/j.measurement.2018.06.015.

Oral, R.A., Doğan, M., Toket, Ö.S., Sarioğlu K. (2012). 5-hydroxymethyl furfural formation and reaction kinetics of different pekmez samples effect of temperature and storage, *International Journal of Food Engineering* 8 (4): 1-14, doi: 10.1515/1556-3758.2560.

Othmen, K.B., Garcia-Beltrán, J.M., Elfalleh, W., Haddad, M., Esteban, M.A. (2021). Phytochemical compounds and biological properties of carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) extracts at different ripening stages, *Waste and Biomass Valorization* 12: 4975-4990, doi: 10.1007/s12649-021-01352-x

Owen, R.W., Haubner, R., Hull, W.E., Erben, G., Spiegelhalder, B. and Bartsch, H. (2003). Isolation and elucidation of the major individual polyphenols in carob fiber. *Food and Chemical Toxicology* 41: 1727-1738, doi: 10.1016/s0278-6915(03)00200-x.

Özhan, B., Karadeniz, F., Erge, H.S. (2010). Effect of storage on nonenzymatic browning reactions in carob pekmez. *International Journal of Food Science and Technology* 45: 751-757, doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02190.x.

Pazır, F., Alper, Y. (2016). Keçiboynuzu meyvesi (*Ceratonia Siliqua* L.) ve sağlık. *Akademik Gıda* 14 (3): 302-306.

Rodríguez-Solana, R., Romano, A., Moreno-Rojas, J.M. (2021). Carob pulp: A nutritional and

functional by-product worldwide spread in the formulation of different food products and beverages. A review. *Processes* 9: 1146, doi: 10.3390/pr9071146.

Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16(3): 144-158.

Stanton, W.J., Etzel M.J, Walker B.J, (1994). *Fundamentals of marketing*, 10 th Ed. McGraw-Hill, Inc, New York.

Şenay, F. (2009). Keçiboynuzundan sıvı şeker üretimi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye.

Şengül, M., Ertugay, M.F., Şengül, M., Yüksel, Y. (2007). Rheological characteristic of carob molasses, *International Journal of Food Properties* 10: 39-46, doi: 10.1080/10942910600627996.

Şimşek, A. (2000). Farklı hammaddelerden üretilen pekmezlerin bileşimi üzerine araştırma. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek lisans Tezi, Ankara, Türkiye.

Şimşek, A., Artık, N., Baspınar, E. (2004). Detection of raisin concentrate (Pekmez) adulteration by regression analysis method, *Journal of Food Composition and Analysis* 17(2): 155-163, doi: 10.1016/S0889-1575(03)00105-4.

Şimşek, A., Artık, N. (2002). Değişik meyvelerden üretilen pekmezlerin bileşim unsurları üzerine araştırma. *GIDA* 27(6): 459-467.

Tapiero, H., Townsend, D.M., Tew, K.D. (2003). Trace elements in human physiology and pathology copper. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 57: 386- 398, doi: 10.1016/s0753-3322(03)00012-x.

Telatar, Y. (1985). Elma suyu ve konsantrelerinde hidrosimetilfurfural (HMF). Farklı elma çeşitlerinin elma suyu ve konsantresine işlenmesi sürecinde HMF oluşumu. *GIDA* 10 (4): 195-201.

Tetik, N., Turhan, İ., Karhan, M., Öziyici, H.R. (2010). Characterization of, and 5-

- Hydroxymethylfurfural concentration in carob pekmez. *GIDA* 35 (6): 417-422.
- Tetik, N., Turhan, İ., Öziyici, H.R., Karhan, M. (2011). Determination of d-pinitol in carob syrup, *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 62(6): 572-576, doi: 10.3109/09637486.2011.560564.
- Tosun, M., Keleş, F. (2008). Dut Pekmezine Değişik Şeker Şurupları Katılarak Yapılan Hileleri Belirleme Yöntemlerinin Araştırılması. Türkiye 10. Gıda Kongresi 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, 169.
- Tosun, M., Keleş, F. (2012). Testing methods for mulberry pekmez adulterated with different sugar syrups. *Academic Food Journal* 10(1): 17-23.
- Tosun, M. (2014). Detection of adulteration in mulberry pekmez samples added various sugar syrups with ¹³C/ ¹²C isotope ratio analysis method. *Food Chemistry* 165: 555-559, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.136.
- Tounsi, L., Ghazala, I., Kechaou, N. (2020). Physicochemical and phytochemical properties of Tunisian carob molasses. *Food Measurement and Characterization* 14: 20–30, doi: 10.1007/s11694-019-00263-9.
- Toker, O.S., Dogan, M., Ersöz, N.B., Yılmaz, M.T. (2013). Optimization of the content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) formed in some molasses types: HPLC-DAD analysis to determine effect of different storage time and temperature levels. *Industrial Crops and Products* 50: 137– 144, doi: 10.1016/j.indcrop.2013.05.030.
- Turhan, İ., Karhan, M. (2004). Doğal bir ürün; Keçiboynuzu. *Dünya Gıda* 12: 76-79.
- Turhan, İ., Tetik, N., Karhan, M. (2007). Keçiboynuzu pekmezinin bileşimi ve üretim aşamaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 2: 39-44.
- Türk Standartları Enstitüsü. (1996). Meyve ve sebze suları formol sayısı tayini standardı (TS EN 1133). Ankara, Türkiye.
- Türk Standartları Enstitüsü. (2002). Meyve ve sebze ürünleri 5-HMF içeriğinin tayini standardı (TS 3792). Ankara, Türkiye.
- Türk Standartları Enstitüsü. (2002). Meyve ve sebze ürünleri- Titrasyon asitliği tayini standardı (TS 1125 ISO 750). Ankara, Türkiye.
- Türk Standartları Enstitüsü. (2012). Üzüm pekmezi standardı (TS 3792). Ankara, Türkiye.
- Türk Standartları Enstitüsü. (2016). Keçiboynuzu pekmezi standardı (TS 13717). Ankara, Türkiye.
- Yaman N., Duraklı Velioglu S. (2019). Use of Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spectroscopy in combination with multivariate methods for the rapid determination of the adulteration of grape, carob and mulberry pekmez. *Foods* 8(7):231, doi: 10.3390/foods8070231.
- Yılmaz, M., Afsar, H. 2012. An approach to determination of geographical origin and authenticity of grape and some grape products using SNIF-NMR®. *Sigma* 30: 102–112.
- Yiğit, M. (2016). Üzüm, dut ve keçiboynuzu pekmezlerinin 5-Hidroksimetilfurfural ve bazı mineral içeriklerinin belirlenmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme Bilimleri Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye.



DEPOLAMA SICAKLIĞININ TÜRK KAHVESİNİN KAFEİN, KLOROJENİK ASİT VE YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Gülderen COŞGUN, Mehmet TORUN*

¹Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / Received: 16.06.2022; Kabul / Accepted: 07.10.2022; Online baskı / Published online: 10.10.2022

Coşgun, G, Torun, M. (2022). Depolama sıcaklığının Türk kahvesinin kafein, klorojenik asit ve yağ asidi kompozisyonu üzerine etkisi. *GIDA* (2022) 47 (5) 904-915 doi: 10.15237/gida.GD22059

Coşgun, G, Torun, M. (2022). The effect of storage temperature on caffeine, chlorogenic acid and fatty acid composition of Turkish coffee. GIDA (2022) 47 (5) 904-915 doi: 10.15237/gida.GD22059

ÖZ

Bu çalışmada, Türk kahvesi boyutlarını temsil eden çok ince (47.13-54.64 µm), ince (89.25-119.88 µm) ve ince-orta (248.77-312.23 µm) olmak üzere farklı öğütme derecelerine sahip kahvelerin 5, 25 ve 45 °C'lerde 28 günlük depolama periyodunda (0., 14. ve 28. gün) klorojenik asit miktarı, kafein miktarı ve yağ asidi bileşimi üzerindeki değişim incelenmiştir. Kahvenin biyoaktif özelliklerinden sorumlu bileşenleri olan klorojenik asit ve kafein depolama koşullarına bağlı olarak sırasıyla 1.05-1.38 g/100g KM ve 1.49-1.80 g/100g KM arasında değişmiştir. Kahve örneklerinde başlıca yağ asitleri olarak linoleik asit (%41.86-42.89) ve palmitik asit (%33.23-36.36) belirlenmiş, ayrıca oleik asit (%10.59-11.47), stearik asit (%7.38-8.48) ile iz miktarlarda miristik asit, margarik asit, elaidik asit, cis-11 eikosenoik asit, arşidik asit ve behenik asitler de tespit edilmiştir. Kahve örneklerinin sahip oldukları partikül boyutu ve depolama sıcaklığı farklılığının yağ asidi bileşim oranları üzerinde belirgin bir değişikliğe neden olmadığı, ancak depolama süresi boyunca miktarlarında belirgin azalmalar olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Türk kahvesi, öğütme derecesi, depolama koşulları, klorojenik asit, kafein, yağ asidi

THE EFFECT OF STORAGE TEMPERATURE ON CAFFEINE, CHLOROGENIC ACID AND FATTY ACID COMPOSITION OF TURKISH COFFEE

ABSTRACT

In this study, coffees with different grinding degrees, including very fine (47.13-54.64 µm), fine (89.25-119.88 µm) and fine medium (248.77-312.23 µm), representing the dimensions of Turkish coffee, were stored at 5, 25 and 45 °C for 28 days. The changes in chlorogenic acid content, caffeine content and fatty acid composition were investigated during storage period (0th, 14th, 28th day). Chlorogenic acid and caffeine, which are the components responsible for the bioactive properties of coffee, varied between 1.05-1.38 g/100g DM and 1.49-1.80 g/100g DM, respectively, depending on the storage conditions. Linoleic acid (41.86-42.89%) and palmitic acid (33.23-36.36%) were determined as the main fatty acids in coffee samples, as well as oleic acid (10.59-11.47%), stearic acid (7.38-8.48%) and trace amounts of myristic acid, margaric acid, elaidic acid, cis-11 eicosenoic acid, arachidic acid and behenic acids were also detected. It was observed that the difference in particle size and storage temperature of the coffee samples did not cause a significant change on the fatty

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ torun@akdeniz.edu.tr

☎ (+90) 242 310 6520

☎ (+90) 242 310 6306

Gülderen Coşgun; ORCID no: 0000-0002-6689-943X

Mehmet Torun; ORCID no: 0000-0002-6287-2993

acid composition ratios, but there were significant decreases in their amounts during the storage period.

Keywords: Turkish coffee, grinding degree, storage conditions, chlorogenic acid, caffeine, fatty acid

GİRİŞ

Kahve sudan sonra en fazla tüketilen alkolsüz içeceklerden biri olup tüketimi gün geçtikçe artmaktadır. Tüketimindeki yaygınlık kahvenin ticaretine de yansımış ve kahve petrolden sonra en yüksek ticaret hacmine sahip ürün olmuştur (Butt ve Sultan, 2011). Dünyada 2020 yılında 10.520.820 ton kahve üretimi yapılmış, bu üretimin yaklaşık %40'lık kısmı Brezilya tarafından gerçekleştirilirken; Vietnam, Kolombiya, Endonezya ve Etiyopya da diğer önemli kahve üreticisi ülkeler olmuştur (Anonymous, 2021). Kahvenin 100'den fazla türü olmasına rağmen arabica (*Coffea arabica* L. var. arabica) ve robusta (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner var. robusta) olarak bilinen türleri ticarete konu olmaktadır (Cagliani vd., 2013). Aromasının daha iyi ve kafein içeriğinin daha düşük olmasına bağlı olarak acılığının daha az olması nedeniyle arabica türü, robustaya göre daha çok tercih edilmektedir. Nitekim ticareti robustaya göre daha fazla yapılan arabicanın ekonomik değeri de daha yüksektir (Zhu vd., 2021). Kahvenin içim özelliği üzerinde hasat öncesi (yetiştigi bölgenin rakımı, toprak özellikleri, günlük sıcak değişimi, yağış miktarı, gübreleme, budama uygulamaları ve hasat metodu) ve hasat sonrası (pulp ayırma, kurutma, kabuk soyma, temizleme, ayıklama, sınıflama, kavurma, öğütme, depolama ve pişirme) işlemler etkili olup, fiziksel özellikler (çekirdek boyutu, ağırlığı, öğütme derecesi), kimyasal özellikler (kafein, trigonelin, klorojenik asit, aroma vb.) ve duyuşsal özellikler içim kalitesini oluşturmaktadır (Bote ve Vos, 2017; Haile ve Kang, 2020). Kahve hasadı meyveler (kahve kirazları) tam olgunluğa ulaştığında yapılmakta, istenmeyen fermentasyon ve mikroorganizma gelişimini engellemek için meyveler hızlı bir şekilde işlenmektedir (De Melo Pereira vd., 2019). Kahve meyvesinde meyve etinin uzaklaştırılmasının amaçlandığı kabuk soyma işleminde kuru, yaş ve yarı kuru işleme olarak bilinen üç farklı yöntemden biri kullanılmakta, her bir yöntemle elde edilen kahvenin içim lezzeti de farklılık göstermektedir. Meyve etinin uzaklaştırılmasından sonra yeşil

kahve çekirdeği üretim prosesinin en kritik aşamalarından olan kurutma işleminde güneşte kurutma veya mekanik kurutma yöntemiyle çekirdeklerin nem içeriği %10-12 seviyelerine kadar azaltılmaktadır (Taveira vd., 2015). Kahvenin arzu edilen karakteristik aroması ve lezzetinin oluşabilmesi için yeşil kahve çekirdekleri kavurma işlemine tabi tutulmaktadır. Kavurma işlemi ile kahveye özgü aroma kazandırılmakta aynı zamanda koyu bir renk, öğütme ve ekstraksiyon için kırılğan, gözenekli doku elde edilmektedir (Schenker ve Rothgeb, 2017). Kahvenin bileşimi türü, yetiştiği bölgenin rakımı, toprak tipi, iklimi, işlenme şekli, çekirdeğin kavurma derecesine göre farklılık göstermekte olup, bileşimindeki en önemli değişim kavurma sırasında meydana gelmektedir (Wintgens, 2009; Cano-Marquina vd., 2013; Borém ve Shuler, 2014; Folmer, 2016; Schenker ve Rothgeb, 2017). Yeşil kahve çekirdeği temel olarak karbonhidratlar, azot içeren bileşikler (özellikle protein, trigonellin ve kafein), lipidler, organik asitler ve sudan oluşmakta olup, kavurma sırasında gerçekleşen bir dizi reaksiyon sonucunda kahvenin lezzet profili oluşmaktadır (Baggenstoss vd., 2008). Kavurulmuş kahve çekirdeklerini içecek olarak tüketmek için çekirdeklerin öğütülerek küçük parçalara ayrılması gerekmektedir. Kahve kavrulduktan sonra en az 12-18 saat sonra gerçekleştirilen bu işlem ile kahve çekirdeklerinin yüzey alanı artırılmakta ve bu durum yapısında bulunan çözünür maddeler, aroma ve diğer lezzet bileşenlerinin suya geçişini hızlandırmaktadır (Girginol, 2017).

Günümüzde ülke, yöre ve tüketici isteklerine göre farklı şekillerde demlenip sunulan kahve, ülkemizde kendine özgü bir hazırlama şekliyle daha çok Türk kahvesi şeklinde tüketilmektedir. Türk kahvesi pişirme işleminde partikül boyutu elde edilecek içeceğin özellikleri üzerindeki en önemli etkiye sahip değişkenlerden biridir. Kahve terminolojisinde çok ince (50-75 µm), ince (76-125 µm), ince-orta (240-400 µm), orta (401-500 µm), orta-kalın (600-800 µm), kalın (1000-1200 µm), çok kalın (1201-1500 µm) olarak adlandırılan öğütme dereceleri tanımlanmış (Anonymous,

2020) ve tüketici tercih ettiği demleme şekline göre öğütülmüş olan toz kahveleri tedarik etmektedir. Tüketici tarafından genellikle düşük miktarlarda temin edilen öğütülmüş kahveler, ambalajlarının açılmasını takiben tüketilmeye başlanmakta ve nispeten kısa sürelerde depolanmakta ve bu periyot ikincil raf ömrü olarak adlandırılmaktadır. Tüm gıdalarda olduğu gibi kahvede de depolama koşullarına bağlı olarak depolama süresi boyunca kalite kayıpları ve değişimleri meydana gelebilmektedir. Kavrulmuş kahve düşük su aktivitesinden dolayı mikrobiyal açıdan stabil bir ürün olsa da bileşimindeki aroma, yağ ve biyoaktif bileşenlerin ısı, oksijen, ışık vb. çevresel koşullara hassas olması depolama koşullarını önemli hale getirmektedir. Nitekim bu çalışmada çok ince (47.13-54.64 μm), ince (89.25-119.88 μm) ve ince-orta (248.77-312.33 μm) olmak üzere farklı öğütme derecelerine sahip kahvelerin 5, 25 ve 45 °C'lerde 28 günlük depolama periyodundaki klorojenik asit miktarı, kafein miktarı ve yağ asidi bileşimindeki değişim incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan Brezilya orijinli arabica çeşidi kavrulmuş ve öğütülmüş kahve örnekleri İstanbul'da faaliyet gösteren Anisah Gıda Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti.'den temin edilmiştir. Türk kahvesi için özelliğine uygun olarak orta derecede kavrulan (185-200 °C'de 15 dakika) kahve çekirdekleri firma tarafından 6 farklı boyutta öğütülmüştür (Çizelge 1). Örneklerin boyutları ölçülmüş ve öğütme derecelerine göre 1. örnek (47.13-54.64 μm), 2. örnek (89.25-119.88 μm), 3. örnek (134.27-245.93 μm), 4. örnek (248.77-312.23 μm), 5. örnek (326.38-426.99 μm), 6. örnek (434.33-594.74 μm) olduğu görülmüştür. Türk kahvesi için kütlece toplam partiküllerin %70-75'inin 75-125 mikron olması gerektiği bildirildiğinden (Özgür, 2012) dolayı çalışmada materyal olarak 1 (47.13-54.64 μm), 2 (89.25-119.88 μm) ve 4 (248.77-312.23 μm) numaralı örnekler kullanılmıştır.

Çizelge 1. Farklı derecelerde öğütülmüş kahve örneklerinin partikül boyutları

Table 1. Particle size distribution of coffee samples ground at different degree

Örnek Kodu Sample Code	Partikül Boyut Dağılımı (μm)* Particle Size Distribution (μm)*
1	47.13-54.64
2	89.25-119.88
3	134.27-245.93
4	248.77-312.23
5	326.38-426.99
6	434.33-594.74

*Partiküllerin %50'si verilen aralıkta bulunmaktadır./ * Shows that 50% of the particles in these size range.

Kahve örneklerinin depolanması

Çalışmada 3 farklı partikül boyutuna sahip kahve örnekleri 3 farklı depolama sıcaklığında (5, 25 ve 45°C) depolanmış ve depolama süresinin 0, 14 ve 28. günlerinde örneklerde klorojenik asit miktarı, kafein miktarı ve yağ asidi bileşimi analizleri yapılmıştır. Bu amaçla 3 farklı partikül boyuna ait kahve örnekleri (su aktivitesi değeri ~ 0.150) 50 mL'lik cam kavanozlar içerisine 25'er g tartılarak depolanmaya alınmıştır.

Partikül boyutu ölçümü

Firma tarafından gönderilen 6 farklı boyuttaki öğütülmüş toz kahve örneklerinin parçacık

boyutlarının belirlenmesinde, lazer ışığı kırınım prensibi ile çalışan parçacık boyutu analiz cihazı (Malvern, Mastersize 2000, Birleşik Krallık) kullanılarak 10 farklı ölçüm yapılmış olup elde edilen sonuçların ortalamaları alınmıştır.

Su aktivitesi

Kahve örneklerinin, su aktivitesi değeri su aktivitesi ölçüm cihazı (AquaLab 4TE, ABD) ile oda sıcaklığında (25°C) ölçülmüştür. Ölçüm kabına yerleştirilen örneklerin su aktivitesi değeri, ortam denge nisbi nemine ulaştıktan sonra cihaz ekranından okunmuştur.

Klorojenik asit ve kafein miktarı

Kahve yapısında bulunan biyoaktif bileşenlerden kafein ve klorojenik asit, Wang vd. (2000) ve Salman (2017) tarafından uygulanan metotların modifiye edilmesiyle belirlenmiştir. Analiz için 0.5 g toz kahve örnekleri 50 mL distile su ile 80°C'deki çalkalamalı su banyosunda 150 rpm'de 30 dk ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda örnekler kaba filtre kağıdından filtre edilmiş, elde edilen ekstraktlar 0.45µm'lik membran filtreden geçirilip 20 µL örnek HPLC-DAD (Shimadzu, Japonya) sistemine enjekte edilmiştir. Bileşenlerin ayrımı C-18 kolonda (InertSustain AQ-C18), 30°C sıcaklıkta, 1 mL/dk sabit akış hızında %0.1 ortafosforik asit içeren su (A) ve %0.1 ortafosforik asit içeren metanol (B) kullanılarak gradient elüsyon altında gerçekleştirilmiştir. Elüsyon programı A mobil fazı için 0. dak. %80, 5. dak. %76, 7. dk %60 ve 20. dk %80 olarak ayarlanmış, analiz 23 dk sürmüştür. Bileşenlerin tanımlanmasında saf standartlar (kafein 280 nm, klorojenik asit 325 nm) kullanılmış, konsantrasyonları ise dış standart yöntemi ile hesaplanmıştır.

Yağ ekstraksiyonu

Toz kahve örneklerinin yağ asidi bileşimini belirlemek amacıyla kahve yağı ekstraksiyonu Cong vd. (2020) tarafından uygulanan metodun modifiye edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 12.5 g toz kahve 250 mL'lik kavanozlara aktarılmış üzerine 100 mL petrol eteri ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım 35 kHz genlikteki 25°C'deki 320 W'lık ultrasonik su banyosunda (RK 100 H, Bandelin Sonorox, Berlin, Almanya) 30 dk süreyle ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda karışım 50 mL falkon tüplerine alınıp 25 °C sıcaklıkta 10.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında kahve yağı içeren süpernatantın içerdiği petrol eteri döner buharlaştırıcı (IKA RV 10 Control V, Almanya) kullanılarak ekstraktan uzaklaştırılmıştır. Evaporasyon aşamasında 45°C sıcaklık ve 50 rpm dönüş hızı kullanılmıştır. Evaporasyon sonunda elde edilen kahve yağlarında petrol eteri kalıntısı olmasına karşın yağ içeren balonlar 60 °C'lik etüvde 10 dk bekletilmiş süre sonunda yağlar 2 mL'lik epondorflara alınarak -18 °C'de analiz gününe kadar saklanmıştır.

Yağ asidi bileşimi

Ekstrakte edilen kahve yağı örnekleri 4 °C'de çözündürüldükten sonra 30 s vortekslenmiş ve 0.1 g örnek tüpe tartılmıştır. Amerikan Yağ Kimyacıları Cemiyeti'nin (AOCS) yağ asidi esterifikasyon metoduna göre örnek üzerine 2 mL heptan ilave edilmiş ve 30 s vortekslenmiştir. 0,2 mL 2 N'lik metanolik KOH tüpe aktarılmış ve tekrardan 30 s vortekslenmiş tüpler berraklaşınca kadar bekletilmiş, metil esterleri içeren berrak faz 20 kat seyrelterek vialle alınmıştır (AOCS, 1999). Hazırlanan örnekler Raba vd. (2018) tarafından uygulanan metodun modifiye edilmesiyle GC-MS (QP2010-Plus, Shimadzu, Kyoto, Japonya) kullanılarak analiz edilmiştir. Bileşenlerin ayrımı için TRB5-MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) kolon kullanılmış olup sıcaklık programı: 150 °C'de 2 dk bekleme, 10 °C/dk artışla 200 °C'ye yükselme, 200°C'de 2 dk bekleme, 3°C/dk artışla 220'ye yükselme, 220 °C'de 3 dk bekleme, 3°C/dk artışla 240°C'ye yükselme ve bu sıcaklıkta 5 dk bekleme olarak uygulanmıştır. Taşıyıcı gaz hızı 0.80 mL/dk olup, enjeksiyon sıcaklığı 250°C ve iyon kaynağı sıcaklığı 200°C olarak kullanılmıştır. Örneklerin yağ asidinin tanımlanmasında C₇-C₂₄ alkan standardının metotta aynı şartlarda yürütülmesi ile cihaz yazılımı (GC-MS solution 5.60) kullanılarak ve Wiley 10 ve NIST 02 kütüphaneleriyle alıkonma indeksleri karşılaştırılarak gerçekleştirilmiştir

İstatistiksel analiz

Çalışma faktöriyel deneme desenine (3 öğütme derecesi x 3 depolama sıcaklığı x 3 depolama süresi x 2 tekerrür) göre gerçekleştirilmiştir. Sonuçların ortalamaları "The SAS system for Windows V7" (Cary, NC, ABD) isimli istatistiksel yazılım programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş, farklı bulunan sonuçlarda Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır (Düzgüneş vd., 1987).

BULGULAR VE TARTIŞMA**Klorojenik asit miktarı**

Kahvenin sağlık üzerine olumlu etki gösteren en önemli bileşenlerden biri klorojenik asit olup, polifenoller grubundaki bu bileşen trans-sinamik ve kuinik asitin esterleri formundadır (Pimpley

vd., 2020). Farklı boyutlardaki kahvenin depolama sıcaklığına bağlı olarak depolama süresince klorojenik asit miktarının 1.05-1.38 g/100 g KM arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 2). Bennat vd. (1994) tarafından farklı ticari kahve örneklerinin klorojenik asit miktarının değişimini konu alan çalışmada örneklerin klorojenik asit miktarının 0.81-2.70 g/100g KM arasında değiştiği görülmüştür. Arabica türüne ait kahvelerin klorojenik asit miktarlarının

yetiştirildiği bölgeye göre değişiminin araştırıldığı bir çalışmada ise örneklerin klorojenik asit miktarı 1.65-2.15 g/100g KM arasında belirlenmiştir (Farah ve Donangelo, 2006). Elde edilen sonuçlar literatürde yer alan sonuçlarla büyük oranda benzerlik göstermekle birlikte aradaki farklılıkların kahvenin yetiştirilme koşulları, işlenme farklılıkları (yaş işleme ve kuru işleme) kavurma derecesi, partikül boyutu ve ekstraksiyon şartlarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 2. Farklı partikül boyutlarında öğütülmüş, farklı sıcaklıklarda depolanan kahve örneklerinin depolama süresine bağlı klorojenik asit içeriği (g/100 g KM)

Table 2. Chlorogenic acid content of coffee samples ground in different particle sizes and stored at different temperatures, depending on the storage time (g/100 g DM)

Partikül boyutu <i>Particle size</i>		Çok ince <i>Very fine</i>	İnce <i>Fine</i>	İnce-orta <i>Fine-medium</i>
Sıcaklık <i>Temperature</i>	Süre (Gün) <i>Time (Day)</i>			
5 °C	0	1.38 ^a ABa±0.00	1.29 ^b ABa±0.05	1.19 ^c ABa±0.00
	14	1.30 ^a ABa±0.01	1.28 ^b ABa±0.02	1.33 ^c ABa±0.04
	28	1.28 ^a ABb±0.15	1.24 ^b ABb±0.02	1.07 ^c ABb±0.00
25 °C	0	1.38 ^a Ba±0.00	1.29 ^b Ba±0.05	1.19 ^c Ba±0.00
	14	1.21 ^a Ba±0.01	1.21 ^b Ba±0.02	1.25 ^c Ba±0.03
	28	1.30 ^a Bb±0.07	1.25 ^b Bb±0.03	1.05 ^c Bb±0.01
45 °C	0	1.38 ^a Aa±0.00	1.29 ^b Aa±0.05	1.19 ^c Aa±0.00
	14	1.28 ^a Aa±0.00	1.34 ^b Aa±0.00	1.36 ^c Aa±0.00
	28	1.33 ^a Ab±0.07	1.25 ^b Ab±0.02	1.05 ^c Ab±0.01

Farklı harfler ortalamaların P<0.05 seviyesinde fark olduğunu göstermekte olup, 1. sıradaki küçük harf partikül boyutuna, 2. sıradaki büyük harf sıcaklığa, 3. sıradaki küçük harf ise depolama süresine bağlı farklılığı göstermektedir.

Different letters indicate the difference in the mean at the P<0.05 level, lower case letter in the 1st row indicates the difference depending on the particle size, uppercase letter in the 2nd row, and lowercase letter in the 3rd row depending on the storage time.

Kahve örneklerinin klorojenik asit miktarının partikül boyutunun artması ile azaldığı ve depolama süresince de azaldığı belirlenmiştir. Beklenildiği şekliyle partikül boyutunun küçülmesiyle klorojenik asidin ekstraksiyon verimliliği artmıştır. Bu sonuç demleme sırasında küçük boyutta kahvenin kullanılmasıyla elde edilen içeceğin daha fazla klorojenik asit içereceğini göstermiştir. Bilindiği üzere klorojenik asit iyi bir antioksidan özellik gösteren bir bileşik olup, ekstraktta miktarının artması tüketimi

sırasındaki fonksiyonel özelliği açısından oldukça önemlidir. Klorojenik asit miktarının depolama süresince azalmasının nedenlerinden birinin fenolik bileşenlerin oksidasyona hassasiyeti olduğu düşünülmektedir. Król vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada kahvenin klorojenik asit içeriği depolama başlangıcında 5.56 mg/g olarak belirlenmiş ve bu değer 12 aylık depolama sonunda 0.02 mg/g'a azaldığı bildirilmiştir.

Kafein miktarı

Kahve en fazla kafein içeren gıdaların başında gelmekte olup kafeinin birçok sağlığa olumlu özelliklerinin olduğu, merkezi sinir sistemini uyardığı ve kan dolaşımını hızlandırdığı bildirilmektedir (Mandel, 2002). Ancak yüksek dozda kafein alınımının anksiyeteyi arttırdığı (Lieberman, 1992; Sicard vd., 1996), gerginlik ve sinirliliğe yol açtığı (Loke, 1988), artan uyarılmanın etkisiyle el dengesinin bozulmasına (Loke, 1988) ve uykuya dalma süresinin

uzamasına neden olduğu (Smith, 2002) araştırmalar sonucunda tespit edilmiştir. Biyolojik etkileri yanında acı lezzetinden dolayı da kahve için önemli bir bileşen olan kafeinin miktarı kalite açısından önemli bir kriterdir (Esquivel ve Jimenez, 2012). Farklı partikül boyutlarında öğütülmüş kahvenin depolama sıcaklığına bağlı olarak depolama süresince kafein miktarındaki değişim Çizelge 3'de verilmiştir. Örneklerin kafein miktarlarının 1.49-1.80 g/100 g KM arasında değiştiği görülmektedir.

Çizelge 3. Farklı partikül boyutlarında öğütülmüş ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan kahve örneklerinin depolama süresine bağlı kafein miktarları (g/100 g KM)

Table 3. Caffeine content of coffee samples ground in different particle sizes and stored at different temperatures, depending on the storage time (g/100 g DM)

Partikül boyutu <i>Particle size</i>		Çok ince <i>Very fine</i>	İnce <i>Fine</i>	İnce-orta <i>Fine-medium</i>
Sıcaklık <i>Temperature</i>	Süre (Gün) <i>Time (Day)</i>			
5 °C	0	1.71 ^{aABa} ±0.01	1.65 ^{aABa} ±0.01	1.65 ^{bABa} ±0.02
	14	1.58 ^{aABb} ±0.06	1.61 ^{aABb} ±0.10	1.53 ^{bABb} ±0.01
	28	1.52 ^{aABc} ±0.01	1.50 ^{aABc} ±0.03	1.53 ^{bABc} ±0.01
25 °C	0	1.71 ^{aBa} ±0.01	1.65 ^{aBa} ±0.01	1.65 ^{bBa} ±0.02
	14	1.52 ^{aBb} ±0.01	1.55 ^{aBb} ±0.00	1.53 ^{bBb} ±0.00
	28	1.50 ^{aBc} ±0.00	1.51 ^{aBc} ±0.01	1.51 ^{bBc} ±0.01
45 °C	0	1.71 ^{aAa} ±0.01	1.65 ^{aAa} ±0.01	1.65 ^{bAa} ±0.02
	14	1.53 ^{aAb} ±0.01	1.80 ^{aAb} ±0.01	1.53 ^{bAb} ±0.00
	28	1.51 ^{aAc} ±0.02	1.49 ^{aAc} ±0.00	1.50 ^{bAc} ±0.01

Farklı harfler ortalamaların P<0.05 seviyesinde fark olduğunu göstermekte olup, 1. sıradaki küçük harf partikül boyutuna, 2. sıradaki büyük harf sıcaklığa, 3. sıradaki küçük harf ise depolama süresine bağlı farklılığı göstermektedir.

Different letters indicate the difference in the mean at the P<0.05 level, lower case letter in the 1st row indicates the difference depending on the particle size, uppercase letter in the 2nd row, and lowercase letter in the 3rd row depending on the storage time.

Fibrianto vd. (2018) tarafından yapılan çalışma sonucunda kahvenin kafein içeriğinin kavurma derecesine göre 2.21-2.59 g/100g KM arasında değiştiği, en fazla kafein içeriğinin orta derecede kavruan kahvelerde tespit edildiği rapor edilmiştir. Farklı bölgelerden temin edilen arabica çeşidi kahvelerin kafein içeriklerinin 0.7-1.6 g/100g KM arasında değiştiği bildirilmiştir (de Paula Lima ve Farah, 2019).

Kahve örneklerinin kafein içeriği ekstraksiyondaki verimliliğe bağlı olarak depolama başlangıcında 47.13-54.64 µm partikül boyutuna sahip örneklerde (1.71 g/100g KM) bulunmuşken, 89.25-119.88 µm ve 248.77-312.23 µm partikül boyutuna sahip ürünlerin kafein miktarında (1.65 g/100g KM) bir farklılık görülmemiştir. Depolama süresi ile birlikte genel olarak örneklerin kafein miktarında bir azalış tespit edilmiştir.

Yağ asidi bileşimi

Kahvenin ana bileşimini oluşturan yağlar, kahvenin aroması ve lezzeti açısından önemli olup, kahvenin depolanması sırasında değişikliklere uğrayarak duyu kalite kayıplarına neden olabilmektedir. Özellikle depolama süresi boyunca ısı, ışık, oksijen vb. çevresel faktörlerle hızlanan reaksiyonlar sonucu serbest radikaller ve/veya reaktif oksijen bileşenleri oluşarak lipit oksidasyonu başlamaktadır (Barden ve Decker, 2016). Nitekim doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu kahvede hoş olmayan aroma bileşenlerinin oluşumuna ve istenmeyen duyu özelliklere neden olmaktadır (Koshima vd., 2020).

Farklı partikül boyutunda öğütülüp, farklı sıcaklıklarda depolanan kahve örneklerinde depolama süresince yağ asidi bileşimi incelenmiş olup, sonuçlar Çizelge 4'de % alan cinsinden verilmiştir. Çizelge incelendiğinde kahvenin başlıca yağ asitlerinin linoleik asit (%41.86-42.89) ve palmitik asit (%33.23-36.36) olduğu

görülmektedir. Nitekim Martı n vd. (2001) ve Nikolova-Damyanova vd. (1998) tarafından yapılan çalışmalarda da kahvenin başlıca yağ asitlerinin palmitik ve linoleik asit olduğu bildirilmiştir. Çalışmada analiz edilen kahve örneklerinde palmitik ve linoleik aside göre daha düşük oranlarda oleik asit (%10.59-11.47), stearik asit (%7.38-8.48) ve iz miktarda miristik asit, margirik asit, elaidik asit, cis-11 eikosenoik asit, araşidik asit ve behenik asitler de tespit edilmiştir.

Kahve örneklerinin sahip oldukları partikül boyutu ve depolama sıcaklığı farklılığının yağ asidi bileşimi oranları üzerinde belirgin bir değişikliğe neden olmadığı, ancak depolama süresi boyunca miktarlarında belirgin azalmalar gözlemlenmiştir. Yağ asidi bileşiminde bulunan araşidik, stearik, palmitik gibi doymuş yağ asitleri daha iyi içim kalitesi olarak ifade edilen özel kahveler için bir belirteç olmakla birlikte elaidik, oleik, linoleik, linolenik gibi doymamış yağ asitleri daha az kokuya, gövdeye ve aromaya sahip kahvelerle ilişkilendirilmektedir (Figueiredo vd., 2015).

Çizelge 4. Farklı partikül boyutlarında öğütülmüş ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan kahve örneklerinin depolama süresine bağlı yağ asidi bileşimi (% Alan)

Table 4. Fatty acid composition of coffee samples ground in different particle sizes and stored at different storage temperatures, depending on the storage time (Area %)

Bileşen Compound	Partikül boyutu Particle size		Çok ince Very fine	İnce Fine	İnce-orta Fine-medium
	Sıcaklık Temperature	Süre (Gün) Time (Day)			
Miristik asit Myristic acid	5 °C	0	0.08±0.00	0.11±0.01	0.10±0.01
		14	0.08±0.00	0.09±0.01	0.06±0.01
		28	0.06±0.00	0.07±0.01	0.07±0.01
	25 °C	0	0.08±0.00	0.11±0.01	0.10±0.01
		14	0.07±0.01	0.10±0.01	0.08±0.01
		28	0.06±0.01	0.06±0.00	0.09±0.05
	45 °C	0	0.08±0.00	0.11±0.01	0.10±0.01
		14	0.07±0.01	0.07±0.00	0.08±0.01
		28	0.05±0.00	0.06±0.00	0.07±0.01
Palmitik asit Palmitic acid	5 °C	0	34.66±1.55	36.17±0.51	35.61±1.17
		14	34.74±0.04	36.68±0.38	33.94±0.23
		28	35.76±0.51	33.36±0.52	35.48±0.41
	25 °C	0	34.66±1.55	36.17±0.51	35.61±1.17
		14	35.55±1.36	36.53±0.59	35.78±0.42
		28	35.78±0.39	34.75±0.00	36.36±3.06
	45 °C	0	34.66±1.55	36.17±0.51	35.61±1.17
		14	33.28±0.89	34.82±0.25	35.78±1.17
		28	33.46±0.35	33.48±0.00	33.99±2.48

Türk kahvesinin depolanması

Margarik asit <i>Margaric Acid</i>	5 °C	0	0.10±0.03	0.11±0.00	0.11±0.01
		14	0.08±0.01	0.11±0.03	0.12±0.02
		28	0.09±0.02	0.10±0.00	0.08±0.03
	25 °C	0	0.10±0.03	0.11±0.00	0.11±0.01
		14	0.12±0.00	0.09±0.00	0.10±0.01
		28	0.09±0.01	0.08±0.00	0.13±0.02
	45 °C	0	0.10±0.03	0.11±0.00	0.11±0.01
		14	0.09±0.01	0.14±0.01	0.11±0.05
		28	0.10±0.00	0.11±0.00	0.09±0.00
Linoleik asit <i>Linoleic acid</i>	5 °C	0	42.44±0.44	42.13±0.21	41.96±0.42
		14	42.52±0.07	41.86±0.11	42.89±0.24
		28	42.03±0.13	42.53±0.02	42.29±0.21
	25 °C	0	42.44±0.44	42.13±0.21	41.96±0.42
		14	42.16±0.54	41.99±0.08	42.23±0.20
		28	42.08±0.21	42.40±0.00	41.90±1.27
	45 °C	0	42.44±0.44	42.13±0.21	41.96±0.42
		14	42.79±0.11	42.61±0.09	42.22±0.45
		28	42.65±0.01	42.68±0.00	42.59±0.23
Oleik asit <i>Oleic acid</i>	5 °C	0	10.77±0.16	10.59±0.04	10.91±0.20
		14	11.05±0.09	10.69±0.29	11.32±0.11
		28	10.89±0.11	11.35±0.33	11.04±0.01
	25 °C	0	11.02±0.20	10.59±0.04	10.91±0.20
		14	10.92±0.20	10.74±0.37	11.02±0.11
		28	10.88±0.02	11.06±0.00	10.85±0.49
	45 °C	0	11.02±0.20	10.59±0.04	10.91±0.20
		14	11.36±0.20	11.12±0.06	10.98±0.23
		28	11.19±0.05	11.47±0.00	11.29±0.64
Elaidik asit <i>Elaidic acid</i>	5 °C	0	0.65±0.13	0.59±0.01	0.60±0.04
		14	0.68±0.03	0.84±0.01	0.67±0.00
		28	0.65±0.01	0.66±0.07	0.54±0.05
	25 °C	0	0.65±0.13	0.59±0.01	0.60±0.04
		14	0.65±0.01	0.76±0.13	0.72±0.01
		28	0.59±0.01	0.60±0.00	0.66±0.09
	45 °C	0	0.65±0.13	0.59±0.01	0.60±0.04
		14	0.69±0.02	0.70±0.00	0.64±0.02
		28	0.74±0.04	0.70±0.00	0.67±0.04
Stearik asit <i>Stearic acid</i>	5 °C	0	7.71±0.01	7.50±0.05	7.72±0.25
		14	7.90±0.02	7.38±0.09	8.08±0.01
		28	7.72±0.06	8.48±0.18	7.81±0.04
	25 °C	0	7.96±0.36	7.50±0.05	7.72±0.25
		14	7.86±0.29	7.46±0.21	7.65±0.13
		28	7.71±0.15	8.02±0.00	7.55±0.68
	45 °C	0	7.96±0.36	7.50±0.05	7.72±0.25
		14	8.32±0.29	7.81±0.06	7.66±0.24
		28	8.33±0.11	8.31±0.00	8.19±0.79
cis-11- Eikosenoik asit <i>cis-11 eicosenoic acid</i>	5 °C	0	0.19±0.06	0.22±0.01	0.27±0.04
		14	0.24±0.02	0.15±0.01	0.21±0.00
		28	0.25±0.01	0.27±0.02	0.21±0.01
	25 °C	0	0.19±0.06	0.22±0.01	0.27±0.04
		14	0.20±0.00	0.18±0.04	0.22±0.01
		28	0.24±0.01	0.26±0.00	0.21±0.06
	45 °C	0	0.19±0.06	0.22±0.01	0.27±0.04
		14	0.28±0.01	0.19±0.06	0.23±0.07
		28	0.28±0.04	0.23±0.00	0.23±0.06

Çok ince partikül boyutuna sahip örneklerin başlıca yağ asiti kompozisyonlarında (linoleik, palmitik, oleik ve elaidik asit) 14. güne kadar bir azalma olduğu, ancak depolamanın sonunda serbest yağ asitlerinin oranlarında bir miktar artış olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum depolama sırasında triaçilgliserollerin hidrolizi sonucu serbest yağ asidi miktarının oluşumundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer taraftan ince ve ince-orta boyutuna sahip örneklerde ise 14. güne kadar meydana gelen oksidasyon sonucu serbest yağ asidi miktarındaki azalmanın çok ince partikül boyutuna sahip örneklerdeki gibi belirgin olmadığı görülmüştür. Toci vd. (2013) yapmış oldukları bir çalışmada kavrulmuş kahveleri farklı atmosferik koşullar altındaki ambalajlarda 5 °C ve 25 °C'de 6 ay boyunca depolamışlar ve depolamanın 1. ayında örneklerin triaçilgliserol içeriğinde artış olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada örneklerin yağ asiti içeriğinin 2 aylık depolamadan sonra %7 oranında azaldığı bu azalışın 4. ve 5. aydan sonra sırasıyla %36 ve %42 oranlarına ulaştığı bildirilmiştir.

Yağ asidi kompozisyonunun kahvenin duyuşal özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada doymuş yağ asitlerinden araşidik, strearik ve palmitik asidin kahvenin duyuşal özelliklerinde pozitif bir etkisinin olduğu, diğer taraftan doymamış yağ asitlerinden elaidik asidinin ise negatif bir etkisinin olduğu bildirilmiştir (Figueiredo vd., 2015). Özellikle kaliteli kahvedeki yağ asitleri bileşiminin, kahve içeceğinin ağızda bıraktığı his özellikleri (gövde ve doku) ve aroma ile lezzet bileşenleri kazandırmak için önemli olduğu ve bu özelliklerin doymuş yağ asitlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Fassio vd., 2017). Doymamış yağ asitlerinin (elaidik, linoleik ve linolenik asit) oksidasyona olan eğilimi yağlarda ransitide oluşumu ile istenmeyen aromalardan sorumlu olduğu, özellikle oleik asidin trans izomeri olan elaidik asidin kahvede bulunan doymamış yağ asitlerinde en belirgin olduğu rapor edilmiştir. Çalışma kapsamında da duyuşal açıdan en belirgin doymamış yağ asidi olarak bildirilen elaidik asidin partikül boyutunun artması ile alanının azaldığı belirlenmiştir. Depolama süresi ile belirlenen temel yağ asitlerinden olan palmitik ve linoleik asidin azaldığı görülmüştür. Partikül

boyutunun depolama etkisi incelendiğinde ise söz konusu bileşenlerde parçacık boyutunun artması ile tespit edilen miktarlarında artış gözlenmiştir. Elaidik asidin miktarında ise benzer şekilde partikül boyutu ve depolama süresinde doğrusal bir ilişki gözlenmekte iken depolama sıcaklığı ile negatif bir ilişki gözlenmiştir.

SONUÇ

Dünyada farklı şekillerde tüketimi olan kahvenin ülkemizde de kendine özgü bir kültürü oluşmuş, pişirme tekniği ve sunumuyla Türk kahvesi kültürü ortaya çıkmıştır. Türk kahvesini pişirme ve sunum tekniği yanında diğer kahvelerden ayıran en önemli özelliği çekirdeğin öğütme derecesinin de standartlar çerçevesinde belirlenmiş olmasıdır (Özgür, 2012). Bu çalışma sonucunda Türk kahvesinin depolanmasında partikül boyutu, depolama sıcaklığı ve depolama süresinin ürünün klorojenik asit miktarı, kafein miktarı ve yağ asidi miktarı üzerinde etkisinin olduğu görülmüştür. Kahvenin önemli biyoaktif bileşenlerinden biri olan klorojenik asit miktarının depolama süresi arttıkça azaldığı belirlenmiştir. Kahvenin kalitesi açısından belirleyici bileşenlerden biri olan kafeinin depolama süresi ile birlikte azaldığı ve 28 gün sonunda başlangıca göre yaklaşık %10'luk bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Kahve örneklerinin yağ asidi bileşiminde depolama sıcaklığı belirgin bir değişikliğe neden olmazken yağ asidi miktarlarında azalmaya neden olduğu görülmüştür.

ÇIKAR ÇATISMASI BEYANI

Bu makalede yer alan yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZARLARIN KATKISI

Bu makale Gülderen COŞGUN'un yüksek lisans tezinden üretilmiştir. Gülderen COŞGUN analizlerin yürütülmesi, sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi ve makale taslağının yazım sürecinde katkı sağlamış; Mehmet TORUN, denemenin kurulması, analiz sonuçlarının kontrol edilerek değerlendirilmesi, taslak makalenin düzeltilmesi ve çalışma için maddi kaynak temini

aşamalarında katkı sağlayarak yüksek lisans öğrencisine danışmanlık yapmıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın materyalini sağlayan Anisah Gıda Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti.'ye teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Anonymous (2020). TSE 13423 "Kahve - Öğütülmüş", Türk Standartları Enstitüsü.

Anonymous. (2021). "Internatinol Coffee Organization " Accessed 23.09.2021, from <https://ico.org/historical/1990%20onwards/PDF/5a-imports-non-members.pdf>.

AOCS (1999). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society 5th ed. AOCS. Champaign, IL.

Baggenstoss, J., Poisson, L., Kaegi, R., Perren, R. ve Escher, F. (2008). "Roasting and aroma formation: Effect of initial moisture content and steam treatment." *Journal of agricultural and food chemistry* 56(14): 5847-5851. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf8003288>.

Barden, L. ve Decker, E. A. (2016). "Lipid oxidation in low-moisture food: a review." *Critical reviews in food science and nutrition* 56(15): 2467-2482. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.848833>.

Bennat, C., Engelhardt, U. H., Kiehne, A., Wirries, F.-M. ve Maier, H. G. (1994). "HPLC analysis of chlorogenic acid lactones in roasted coffee." *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 199(1): 17-21. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01192945>.

Borém, F. M. ve Shuler, J. (2014). *Handbook of Coffee Post-harvest Technology: A Comprehensive Guide to the Processing, Drying, and Storage of Coffee*, Gin Press.

Bote, A. D. ve Vos, J. (2017). "Tree management and environmental conditions affect coffee (*Coffea arabica* L.) bean quality." *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences* 83: 39-46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.njas.2017.09.002>.

Butt, M. S. ve Sultan, M. T. (2011). "Coffee and its consumption: benefits and risks." *Critical reviews*

in food science and nutrition 51(4): 363-373. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408390903586412>.

Cagliani, L. R., Pellegrino, G., Giugno, G. ve Consonni, R. (2013). "Quantification of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* var. *robusta* in roasted and ground coffee blends." *Talanta* 106: 169-173. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.12.003>.

Cano-Marquina, A., Tarín, J. ve Cano, A. (2013). "The impact of coffee on health." *Maturitas* 75(1): 7-21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2013.02.002>.

Cong, S., Dong, W., Zhao, J., Hu, R., Long, Y. ve Chi, X. (2020). "Characterization of the Lipid Oxidation Process of Robusta Green Coffee Beans and Shelf Life Prediction during Accelerated Storage." *Molecules* 25(5): 1157. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25051157>.

De Melo Pereira, G. V., de Carvalho Neto, D. P., Júnior, A. I. M., Vásquez, Z. S., Medeiros, A. B., Vandenberghe, L. P. ve Soccol, C. R. (2019). "Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans—A review." *Food chemistry* 272: 441-452. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.061>.

de Paula Lima, J. ve Farah, A. (2019). *Caffeine and minor methylxanthines in coffee*. Coffee: 543-564.

Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F. (1987). "Araştırma ve deneme metodları (İstatistik Metodları-II)." *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları* 1021(295): 10-13.

Esquivel, P. ve Jimenez, V. M. (2012). "Functional properties of coffee and coffee by-products." *Food Research International* 46(2): 488-495. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>.

Farah, A. ve Donangelo, C. M. (2006). "Phenolic compounds in coffee." *Brazilian journal of plant physiology* 18: 23-36. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100003>.

Fassio, L., Malta, M., Carvalho, G., Liska, G., Lima, P., Nadaleti, D. ve Pimenta, C. (2017). "Fatty acids profile of *Coffea arabica* L. resistant

- to leaf rust grown in two environments of Minas Gerais, Brazil." *J Agric Sci* 9: 88-98. DOI: <https://doi.org/10.5539/jas.v9n12p88>
- Fibrianto, K., Umam, K. ve Wulandari, E. S. (2018). Effect of roasting profiles and brewing methods on the characteristics of Bali Kintamani coffee. 4th International Conference on Food, Agriculture and Natural Resources (FANRes 2018), Atlantis Press.
- Figueiredo, L. P., Borém, F. M., Ribeiro, F. C., Giomo, G. S., da Silva Taveira, J. H. ve Malta, M. R. (2015). "Fatty acid profiles and parameters of quality of specialty coffees produced in different Brazilian regions." *African journal of agricultural research* 10(35): 3484-3493. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.9697>
- Folmer, B. (2016). *The craft and science of coffee*, Academic Press, Amsterdam.
- Girginol, C. R. (2017). *Kahve: Topraktan Fincana*, Cinius Yayınları, İstanbul
- Haile, M. ve Kang, W. H. (2020). "Antioxidant properties of fermented green coffee beans with *Wickerhamomyces anomalus* (Strain KNU18Y3)." *Fermentation* 6(1): 18. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation6010018>.
- Koshima, Y., Kitamura, Y., MZ, I. ve Kokawa, M. (2020). "Quantitative and Qualitative Evaluation of Fatty Acids in Coffee Oil and Coffee Residue." *Food Science and Technology Research* 26(4): 545-552. DOI: <https://doi.org/10.3136/fstr.26.545>.
- Król, K., Gantner, M., Tatarak, A. ve Hallmann, E. (2020). "The content of polyphenols in coffee beans as roasting, origin and storage effect." *European Food Research and Technology* 246(1): 33-39. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03388-9>.
- Lieberman, H. (1992). "Caffeine." *Handbook of Human Performance*, vol. 2, Academic Press, London (1992), pp. 49-72
- Loke, W. H. (1988). "Effects of caffeine on mood and memory." *Physiology & behavior* 44(3): 367-372.
- Mandel, H. (2002). "Update on caffeine consumption, disposition and action." *Food and Chemical Toxicology* 40(9): 1231-1234. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(02\)00093-5](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(02)00093-5).
- Martíñ, M. a. J., Pablos, F., González, A. G., Valdenebro, M. a. S. ve León-Camacho, M. (2001). "Fatty acid profiles as discriminant parameters for coffee varieties differentiation." *Talanta* 54(2): 291-297. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00647-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00647-0).
- Nikolova-Damyanova, B., Velikova, R. ve Jham, G. N. (1998). "Lipid classes, fatty acid composition and triacylglycerol molecular species in crude coffee beans harvested in Brazil." *Food research international* 31(6-7): 479-486. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(99\)00016-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00016-2).
- Özgür, N. (2012). "Türk Kahvesi Standartları ve Pişirme Ekipmanları Teknik Analizi." *Türk Kahvesi Kültürü ve Araştırmaları Derneği*.
- Pimpley, V., Patil, S., Srinivasan, K., Desai, N. ve Murthy, P. S. (2020). "The chemistry of chlorogenic acid from green coffee and its role in attenuation of obesity and diabetes." *Preparative Biochemistry & Biotechnology* 50(10): 969-978. DOI: <https://doi.org/10.1080/10826068.2020.1786699>.
- Raba, D. N., Chambre, D. R., Copolovici, D.-M., Moldovan, C. ve Copolovici, L. O. (2018). "The influence of high-temperature heating on composition and thermo-oxidative stability of the oil extracted from Arabica coffee beans." *PloS one* 13(7): e0200314. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200314>.
- Salman, S. (2017). *Kateşince Zenginleştirilmiş Çözünür Yeşil Çay Üretimi ve Elde Edilen Ürünün In Vitro Gastrointestinal Sistemde Salınımının İncelenmesi*. Akdeniz Üniversitesi Yüksek lisans tezi.
- Schenker, S. ve Rothgeb, T. (2017). *The roast—Creating the Beans' signature*. The craft and science of coffee, Elsevier: 245-271.
- Sicard, B. A., Perault, M. C., Enslin, M., Chauffard, F., Vandel, B. ve Tachon, P. (1996). "The effects of 600 mg of slow release caffeine on mood and alertness." *Aviation, space, and environmental medicine*.

- Smith, A. (2002). "Effects of caffeine on human behavior." *Food and chemical toxicology* 40(9): 1243-1255.
- Taveira, J. D. S., Borém, F. M., Da Rosa, S. D. V., Oliveira, P. D., Giomo, G. S., Isquierdo, E. P. ve Fortunato, V. A. (2015). "Post-harvest effects on beverage quality and physiological performance of coffee beans." *Embrapa Café-Artigo em periódico indexado (ALICE)*. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR2014.9263>.
- Toci, A. T., Neto, V. J., Torres, A. G. ve Farah, A. (2013). "Changes in triacylglycerols and free fatty acids composition during storage of roasted coffee." *LWT-Food Science and Technology* 50(2): 581-590. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.007>.
- Wang, H., Provan, G. J. ve Helliwell, K. (2000). "Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis." *Trends in Food Science & Technology* 11(4-5): 152-160. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)00061-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)00061-3).
- Wintgens, J. (2009). "Factors influencing the quality of green coffee." *Coffee: growing, processing, sustainable production. A guidebook for growers, processors, traders and researchers*: 797-817.
- Zhu, M., Long, Y., Ma, Y., Chen, Y., Yu, Q., Xie, J., Li, B. ve Tian, J. (2021). "Comparison of chemical and fatty acid composition of green coffee bean (*Coffea arabica* L.) from different geographical origins." *LWT* 140: 110802. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110802>.



KURKUMİN YÜKLENMİŞ ZEOLİTİK İMİDAZOLAT ÇERÇEVE-8 İLE GIDA PAKETLEME UYGULAMALARI İÇİN AKTİF FİLM GELİŞTİRİLMESİ

Ecem Kaya, Leyla Nesrin Kahyaoğlu*

Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 07.07.2022; Kabul / Accepted: 01.10.2022; Online baskı / Published online: 10.10.2022

Kaya, E., Kahyaoğlu, L.N. (2022). Kurkumin yüklenmiş zeolitik imidazolat çerçeve-8 ile gıda paketlenme uygulamaları için aktif film geliştirilmesi. *GIDA* (2022) 47 (5) 916-940 doi: 10.15237/gida.GD22067

Kaya, E., Kahyaoğlu, L.N. (2022). Development of active film for food packaging applications with curcumin-loaded zeolitic imidazolate framework-8. *GIDA* (2022) 47 (5) 916-940 doi: 10.15237/gida.GD22067

ÖZ

Aktif paketlenme uygulamaları gıda raf ömrünü uzatarak gıda israfını azaltmayı hedeflemektedir. Geliştirilen paketlenme malzemelerinin biyobozunur, sürdürülebilir ve yenilenebilir kaynaklardan olması çevre kirliliğinin azaltılması ve doğal kaynakların korunabilmesi için gereklidir. Bu nedenle, bu çalışmada antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip doğal bir özüt olan kurkumin, zeolitik imidazol çerçeve-8 (K-ZİF-8) nanokristalleri içerisine kapsüllenmiştir. Tasarlanan aktif paketin destek malzemesi olan kitin nanokompozitler ise kültür mantarından elde edilmiştir. Kitin nanokompozit film içerisine farklı konsantrasyonlarda K-ZİF-8 eklenmiş ve konsantrasyon arttıkça filmlerin biyoaktif özelliklerinin arttığı gözlemlenmiştir. Diğer taraftan K-ZİF-8 eklemenin kitin filmlerin mekanik, bariyer, optik, termal ve morfolojik özelliklerine istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmamıştır. Antimikrobiyal test sonuçları filmlerin *E.coli* bakteri kolonilerine karşı etkili olduğunu ortaya koyarken *S.aureus* kolonilerine karşı aynı etki gözlemlenmemiştir. En yüksek antimikrobiyal etki, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktive 10XMÖK değerinde K-ZİF-8 içeren filmde elde edilmiştir. Ancak film dayanıklılık testleri bu filmlerin uzun süre depolamaya uygun olmadığını ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Kültür mantarı, kitin nanokompozit film, ZİF-8, kurkumin, aktif paket

DEVELOPMENT OF ACTIVE FILM FOR FOOD PACKAGING APPLICATIONS WITH CURCUMIN-LOADED ZEOLITIC IMIDAZOLATE FRAMEWORK-8

ABSTRACT

Active packaging aims to reduce food waste by extending food shelf life. Packaging materials developed from biodegradable, sustainable and renewable resources are required to reduce environmental pollution and conserve natural resources. Therefore, curcumin, a natural extract with antioxidant and antimicrobial properties, was encapsulated into zeolitic imidazole framework-8 nanocrystals (K-ZIF-8) in this study. Chitin nanocomposites, support materials of the designed active package, were extracted from the cultivated mushroom. Bioactive properties of the films improved as the amount of K-ZIF-8 increased. Addition of K-ZIF-8 did not have a significant effect on mechanical, barrier, optical, thermal and morphological properties of chitin films. Antimicrobial test revealed that chitin-based nanocomposite films were effective against *E.coli*, but not against *S.aureus*.

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: kaleyla@metu.edu.tr

☎: (+90) 312 210 5641

☎: (+90) 312 210 2767

Ecem Kaya; ORCID no: 0000-0003-1183-2841

Leyla Nesrin Kahyaoğlu; ORCID no: 0000-0003-3548-4378

The highest antimicrobial effect, total phenolic content and antioxidant activity was obtained in the film containing 10XMIC equivalent of K-ZIF-8 concentration. However, film durability tests indicated that these films are not suitable for long-term storage.

Keywords: Cultivated mushroom, chitin nanocomposite film, ZIF-8, curcumin, active packaging

GİRİŞ

Her yıl 89 milyon ton tüketilebilir paketli gıdanın atıldığı Avrupa komisyonunun yaptığı çalışmalar ile gösterilmiştir (Cicatiello vd., 2016). Tüketilebilir gıda israfının doğal kaynaklar üzerindeki olumsuz etkileri, etik ve ekonomik birçok sorunu beraberinde getirmektedir. Çünkü gıdaları işlemek için harcanan ve israf olan doğal kaynaklara ek olarak bilhassa geleneksel fosil bazlı ve biyobozulmaya uğrayamayan ambalaj malzeme atıkları dünya genelinde artan çevre kirliliğine neden olmaktadır (Gan ve Chow, 2018). Bu sorunun üzerinden ancak gıda raf ömrünü uzatarak ya da biyobozunur ambalaj malzemesi alternatifleri geliştirerek gelinbilir. Bu nedenle, özellikle son yıllarda ürün raf ömrünü uzatmayı hedefleyen aktif paketleme uygulamaları üzerine olan çalışmalar artmıştır (Yıldırım vd., 2018). Aynı şekilde biyobozunur olan doğal polimerlerin (biyopolimer) fosil yakıt bazlı plastik malzemelerin yerini alarak atık bertaraf sorununu çözebilecek nitelikte olduğu öngörülmektedir (Adilah vd., 2018). Bu doğrultuda geliştirilecek paketleme uygulamaları gıda atıklarını önlemede ve azaltmada etkin rol oynayabilecektir. Tüm bu sıralanan sorunlar göz önünde bulundurularak mevcut çalışmada bir biyopolimer kullanarak aktif paketleme malzemesi geliştirmek hedeflenmiştir.

Yenilenebilir kaynaklardan özütlenen nanolifler son yıllarda büyük ilgi toplamaya başlamıştır (Devarayan ve Kim, 2015; Ko vd., 2010). Bu doğrultuda, amiloyit (Knowles vd., 2010) ve ipek (Valentini vd., 2018) gibi proteinlere dayanan alternatiflerin yanı sıra selüloz (Kontturi vd., 2018) ve kitin (Ifuku ve Saimoto, 2012) gibi doğal polisakkaritler sıklıkla kullanılmıştır. Selülozdan sonra doğada en çok bulunan ikinci biyopolimer kitindir. Yıllık üretimi tahmini olarak 1011 tona ulaşabilmektedir (Gortari ve Hours, 2013). Kitin kabuklu deniz hayvanı ve böceklerin dış kabuğu ile mantarın hücre duvarını yapısını oluşturmada ve bu yapılardan elde edilebilmektedir (Fazli Wan Nawawi vd., 2019). Nanolif yapıda yarı kristal biyopolimer olan kitin çoğunlukla endüstriyel atık

muamelesi görmektedir (Ifuku ve Saimoto, 2012). Ancak kitin nanolifleri özellikle yüksek mekanik özellikleriyle beraber antimikrobiyal aktifeleri nedeniyle yoğun ilgi görmeye başlamışlardır (Hai vd., 2020). Bu nedenle kitin tabanlı nanomalzemeler pek çok uygulamada kullanılmaya başlanmıştır (Muski, 2021).

Kabuklu deniz hayvanlarının kabuğundan kitin ve kitin nanolif hazırlama yöntemleri yüksek sıcaklıklar altında ağır kimyasal kullanılarak bir dizi mekanik işlem gerektirmektedir (Ifuku vd., 2009). Bu nedenle, yeşil çevre dostu özütleme teknikleri son yıllarda geliştirilmeye başlanmıştır (Kaur ve Dhillon, 2015). Mantardan hazırlanan kitin ve kitin nanolifleri yengeç ve karides kabuklarından elde edilenlere benzer niteliktedir (Ifuku, 2014). Bununla birlikte, mantardan elde edilen kitin ve türevleri mantarda bulunan glukanlar ile kompleks oluşturarak elde edilen kompozitlerin mekanik özelliklerini daha güçlü hale getirebilmektedir (Fazli Wan Nawawi vd., 2019). Mantarların yaygın olarak bulunması ve hızlı büyümesi, kitin ve kitin nanoliflerin mantardan özütlenmesi için motive edici bir sebeptir (Muski, 2021). Mevcut çalışmada buna istinaden kültür mantarından (*Agaricus bisporus*) kitin nanofiberlerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla minimum enerji gerektiren ve asit kullanılmayan Fazli Wan Nawadi ve arkadaşlarının (2019) nano kağıt üretimi için geliştirdiği teknik, esnekliğin artırılmasına yönelik değiştirilerek kullanılmıştır (Fazli Wan Nawawi vd., 2019).

Metal organik çerçeveler (MOÇ) gelişmekte olan hibrit kristal gözenekli malzemelerdendir. MOÇlar metal iyonlarında organik bağlayıcılar vasıtasıyla inşa edilirler (Smaldone vd., 2010). MOÇlar yüksek ve ayarlanabilir gözenekli yapıları ile kontrol edilebilir yüzey fonksiyonlarından faydalanılarak gaz depolama, arıtma ve kataliz gibi pek çok alanda kullanılmışlardır (Lee vd., 2009; Qiu vd., 2014). Son yıllarda nano boyutlardaki MOÇların biyomolekül taşıyıcı olarak büyük bir potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (Hoop vd.,

2018). Çinko iyonları ile 2-metil imidazoldan elde edilen yüksek kimyasal kararlılıkta ve biyoyumlu olan zeolitik imidazol çerçeveler (ZİF-8) yapısal olarak biyomoleküller için ideal bir nano taşıyıcı görevi görebilmektedir (Chen vd., 2017; Karimi vd., 2018). Birçok araştırma grubu ZİF-8 kullanarak biyomolekülleri yüksek verimlilikle çerçeveler içerisine yüklemeyi başarmıştır (Hoop vd., 2018). Sonuç olarak ZİF-8 nanokristalleri mevcut çalışmada hem antimikrobiyal kurkumin için taşıyıcı hem de biyopolimer yapıda bariyer ve mekanik özellikleri geliştirici olarak kullanılması hedeflenmiştir.

Biyoaktif molekül yüklenmiş ZİF-8 nanokristalleri aktif paket geliştirmede çok yeni kullanılmaya başlanmıştır. Cai ve arkadaşları tarafından ortaya konan ilk çalışmada kurkumin ZİF-8 içerisine hapsedilmiş sonrasında polikaprolakton filmlerin içerisine yüklenmiştir (Cai vd., 2021). Söz konusu çalışmada mavi ışık (420-430 nm) altında kurkuminin tekli oksijen üretiminden faydalanılarak antimikrobiyal özelliklerinin arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada polimer yapısına dahil edilen kurkumin ihtiva eden ZİF-8 vasıtasıyla pH ve ışığa duyarlı gıda endüstrisi için antibakteriyel ambalaj malzemesi geliştirilmiştir. Bir diğer çalışmada ise ZİF-8 nanokristalleri bakır oksit için taşıyıcı olarak kullanılarak polilaktik asit, polivinil asit ve kitosan ile çok katmanlı filmler elde edilmiştir (Fu vd., 2022). Bu filmler domatesin raf ömrünü uzatmak için koruyucu ambalaj olarak kullanılmış ve antimikrobiyal etkinlikleri çalışmada gösterilmiştir.

Kurkuminin antimikrobiyal ajan olarak pek çok çalışmada tercih edilmesinin en önemli sebebi sarı-turuncu renkte doğal bir boya olup, toksik özellik göstermemesi ve zerdeçaldan (*Curcuma longa*) kolayca elde edilebilmesidir (Bajpai vd., 2015). Kararlı bir enol formu olan kurkumin, doymamış karbonil grupları ile bağlanmış iki metoksillenmiş fenolden oluşmaktadır (Anand vd., 2007). Gıda sanayinde genel olarak renk maddesi olarak kullanılan kurkumin, gösterdiği antikanser, antimikrobiyal, antioksidan ve antienflamatuar özellikleri nedeniyle son yıllarda besin takviyesi olarak da kullanıldığı pek çok

çalışma mevcuttur (Hewlings ve Kalman, 2017). Buna ek olarak kurkuminin antimikrobiyal etkisi görünür (400-800 nm) ve UV-A ışık (320-400 nm) dalga boyları altında artmaktadır (Oliveira vd., 2018). Kurkuminin ışık ile aktive edildiğinde tekli oksijen meydana getirerek bakteri çoğalmasını engellediği ortaya konulmuştur (Condat vd., 2015). Aynı şekilde yapılan çalışmalarda kurkuminin antitümör gibi bazı biyoaktivitelerinin UV-A ve görünür ışık ile aktive edilebileceği ortaya konmuştur (Bernd, 2014; Dujic vd., 2007). Bu nedenle, mevcut çalışmamızda görünür ışık kullanımının kurkumin yüklü ZİF-8 nanokristalleri iliştirilmiş kitin filmleri üzerindeki antioksidan ve antimikrobiyal etkisi incelenmiştir.

Bu çalışmada kurkumin öncelikli olarak ZİF-8 nanokristalleri içerisine yüklenmiş sonrasında mantardan özütlenen kitin nanokompozit filmler içerisine eklenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda K-ZİF-8 içeren kitin nanokompozit filmlerin antimikrobiyal, antioksidan, fenolik ve fizikokimyasal özelliklerine karar verilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Kültür mantarı (*Agaricus bisporus*) Yiğit Enerji Gıda Tarım ve Hayvancılık Sanayi (Kalecik, Ankara) firması tarafından sağlanmıştır. Çinko nitrat heksahidrat ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$), 2-metilimidazol, kurkumin, sodyum hidroksit, Folin-Ciocalteu reaktifi, metanol ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından alınmıştır. Kromojenik *E. coli* ve Baird Parker katı besiyeri Diatek (İstanbul, Türkiye) firmasından satın alınmıştır.

Yöntem

Kurkumin yüklenmiş ZİF-8 nanokristallerin hazırlanması ve karakterizasyonu

Kurkumin yüklenmiş zeolitik imidazol çerçeve-8 (K-ZİF -8) sentezinde Zheng ve arkadaşlarının ZİF-8 içerisine kurkumin yüklemek için kullandığı yöntem kullanılmıştır (Zheng vd., 2015). Bu amaçla özetle $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (150 mg) deiyonize su (5 ml) içerisinde çözünmüştür. Diğer tarafta ise 2-metilimidazol (330 mg) metanol (10 ml) içerisinde çözünmüştür. Daha sonra hızlıca $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ çözeltisi 2-metilimidazol

çözeltilisine katılmış ve 1 saat 23°C sıcaklıkta karıştırılmıştır (Daihan Scientific Co., Ltd., Kore). Bu yöntemle boş ZİF-8 nanokristalleri hazırlanmıştır. K-ZİF-8 sentezi için 330 mg 2-metilimidazol öncelikle 5 mg/ml kurkumin konsantrasyonundaki 10 ml metanole eklenerek çözülmüş sonrasında üzerine hızlıca $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ çözeltisi eklenmiştir. Boş ve kurkumin yüklenmiş ZİF-8 nanokristalleri 1 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra 3 kez metanol ve 3 kez deiyonize suda 10000 devir/dakika hızda 15 dakika (Nüve NF 1200R, Ankara, Türkiye) santrifüj ile yıkanmıştır. Daha sonra ise sabit ağırlığa gelene 60°C vakum fırında kurutulmuş ve kuru halde sonraki kullanımlar için saklanmıştır.

Kurkumin kapsülleme randımanına karar vermek için önce kurutulmuş K-ZİF-8 nanokristalleri (1 mg) 2M HCl içerisinde bozulmuş ve örneğin etanol (2 ml) içerisinde UV-Vis spektrometre (Optizen Pop, Mecasys, Kore) ile 427 nm dalga boyunda ışık soğurması ölçülmüş ve hazırlanan kurkumin standart eğrisi ile karşılaştırılmıştır. Kapsülleme randımanına yüklenen kurkumin miktarı başlangıçta eklenen kurkumin miktarı ile orantılanarak bulunmuştur. ZİF-8 ve K-ZİF-8 nanokristallerinin kristal yapısına ve faz saflığına X-Işını toz difraktometresi (XRD) ile karar verilmiştir (Rigaku, MiniFlex XRD, Tokyo, Japonya). Bu amaçla ölçümlerden önce nanokristaller dondurularak kurutulmuşlardır (Christ Alpha 2-4 LD Plus, Martin Christ, Almanya). Ölçümler 1° ila 50° 2θ derece aralığında tarama hızı 1°/dakika olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. K-ZİF-8 ve ZİF-8 nanokristallerin kimyasal bağ ve kompozisyonuna Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FDKS) (SHIMADZU, IRSpirit, Kyoto, Japonya) ile karar verilmiştir. FDKS ölçümleri 4000 cm^{-1} ile 400 cm^{-1} dalga sayısı aralığında 4 cm^{-1} çözünürlükle gerçekleştirilmiştir. K-ZİF-8 ve ZİF-8 nanokristallerin termal özelliklerine ise diferansiyel taramalı kalorimetri (DTK) yerine nitrojen gazı altında oda sıcaklığından 700°C'ye kadar 5°C/dakika ısıtma hızıyla termogravimetrik analizle (TGA) (Seraram Labsys, Caluire, Fransa) karar verilmiştir. K-ZİF-8 ve ZİF-8 nanokristal morfolojik ve boyut bilgilerine Transmisyon

Elektron Mikroskobu (TEM) (FEI, Tecnai G2 Spirit Biotwin, Oregon, ABD) kullanılarak karar verilmiştir. Ölçümler 20 ile 120 kV arasındaki akım altında gerçekleştirilmiştir.

Mantardan kitin ekstraksiyonu ve nanokompozit hazırlanması

Kültür mantarı (*Agaricus bisporus*) yaklaşık 5 kilogram olacak şekilde tek seferde temin edilmiş ve -20°C'de saklanmıştır. Fazlı Wan Nawawi ve arkadaşlarının yönteminde küçük değişiklikler yapılarak nanokompozit film üretilmiştir (Fazlı Wan Nawawi vd., 2019). Kısaca dondurucudan çıkarılarak çözülen 100 gram kültür mantarı öğütücüden geçirilerek toplam hacim 300 mililitre olana kadar distile su eklenmiş ve 85°C'de 30 dakika karıştırılmıştır. Fazla su ve suda çözünen maddeler süspansiyon santrifüj ile ayrıldıktan sonra 1 M sodyum hidroksit çözeltisinde 65°C'de 3 saat karıştırılmıştır. Daha sonra fazla sodyum hidroksiti ayırmak için defalarca su ile yıkanmış ve uzaklaştırma işlemi süzüntü pH değeri 7 ± 0.2 yaklaştığında yıkama işlemine son verilmiştir. Son yıkamadan sonra elde edilecek nanokompozit filmin kırılgenliğini azaltmak için içerisine gliserol (%5 ağırlık/hacim) 300 mililitre su ile beraber eklenmiştir. Nötrale hale getirilmiş çözelti daha sonra vakum filtre ile süzülmüş ve elde edilen filtre keki 9 cm çapındaki teflon beher içerisine yerleştirilmiştir. Daha sonra PTFE teflon beher içerisindeki filtre keki 105°C etüvde 2 saat kurutulmuştur.

K-ZİF-8 nanokristalli kitin nanokompozit film hazırlanması

Farklı miktarlarda K-ZİF-8 nanokristalleri kitin nanokompozite eklenerek 24 saat 23°C sıcaklıkta ve ışıktan korunaklı bir şekilde 500 devir/dakika karıştırılmıştır. Nanokompozit içerisinde eklenecek K-ZİF-8 nanokristallerinin miktarına minimum önleyici konsantrasyonuna (minimum inhibitory concentration) göre karar verilmiştir. Güneş ve arkadaşları tarafından *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*, için kurkuminin *in vitro* minimum önleyici konsantrasyonu 220 $\mu g/ml$ ve 163 $\mu g/ml$ olduğu gösterilmiştir (Gunes vd., 2013). 220 $\mu g/ml$ değeri referans olarak kullanılmıştır. Üç farklı konsantrasyon sırasıyla minimum önleyici konsantrasyonunun bir (1X

MÖK; 220 µg/ml), beş (5X MÖK) ve on katı (10X MÖK) denk gelen kurkumin yüklenmiş ZİF-8 nanokristalleri şeklinde hazırlanmıştır. Kitin nanokompozit film hazırlama işleminin son aşamasında istenilen konsantrasyonlara denk gelen K-ZİF-8 (1 MÖK, 5 MÖK ya da 10 MÖK) distile su içerisine (300 ml) gliserol (%5 ağırlık/hacim) ile beraber eklenmiş ve 3 saat oda sıcaklığında 500 devir/dakika hızda karıştırılmıştır. Daha sonra hazırlanan son çözelti vakum filtre ile süzölmüş ve elde edilen filtre keki PTFE teflon beher içerisinde 105°C sıcaklıkta etüvde karanlıkta 2 saat süreyle kurutulmuştur. Ölçümler filmler bağıl nemi %50 olan 23°C sıcaklıkta iklimlendirme kabini (TK120, Nuve) içerisinde 48 saat koşullandırıldıktan sonra gerçekleştirilmiştir.

Çalışma içerisinde tip 1 film sadece kitin nanokompozit film, tip 2 film ZİF-8 nanokristal eklenmiş (kurkuminsiz) kitin nanokompozit filmler ve tip 3 film ise K-ZİF-8 nanokristalli (üç farklı konsantrasyonda; 1XMÖK, 5XMÖK ve 10XMÖK) kitin nanokompozit filmlerden oluşmaktadır.

Üretilen Kitin Nanokompozit Filmlerde Karakterizasyon Analizleri

Kalınlık

Filmlerin kalınlığına 5 ayrı noktadan dijital mikrometre (LOYKA 5202–25, Loyka, Ankara, Türkiye) ile karar verilmiştir. Mekanik özelliklerin, şeffaflık ve su buharı geçirgenliğinin belirlenmesi için ortalama film kalınlığı verileri kullanılmıştır.

Şeffaflık

Filmlerin şeffaflıkları spektrofotometre (Shimadzu, UV-Visible Spectrophotometer, UV-1700, Japan) kullanılarak belirlenmiştir. Işık soğurmaları 600 nm dalga boyunda ölçülen filmlerin şeffaflık değerleri Eşitlik (1)'e göre belirlenmiştir (Han ve Floros, 1997).

$$\text{Şeffaflık} = \frac{\text{LOG}(A_{600})}{X} \quad (1)$$

Burada, A600 600 nm dalga boyunda ölçülen ışık soğurma değeri ve X ise film kalınlık (mm) değerini ifade etmektedir.

Mikroyapı

Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FESEM) (Nova NanoSEM 430 elektron mikroskobu, FEI, Oregon, ABD), filmlerin kesit ve yüzey mikroyapılarını incelemek için kullanılmıştır. Bu amaçla, kurutulmuş nanokompozit tip 1 ve tip 3 film örnekleri sıvı nitrojen içerisine daldırılmış ve sonrasında dondurumlu parçalama işlemi gerçekleştirilmiştir. Parçalama işleminden sonra numune çift taraflı karbon bant yapıştırılarak alüminyum koçan üzerine yerleştirilmiş ve karbon ile kaplanmıştır. Film morfolojisi, 20 kV değerinde bir hızlandırma voltajında, 1000X ve 5000X büyütme oranında incelenmiştir.

Suda çözünme

Tip 1 ve tip 3 nanokompozit filmlerin suda çözünme testlerine nem miktarlarına karar verildikten sonra başlanmıştır. Bu amaçla, filmler vakum fırınında sabit ağırlığa ulaşana kadar kurutulmuş ve sonra meydana gelen ağırlık kaybı ilk ağırlığa orantılanarak nem miktarına karar verilmiştir. K-ZİF-8 nanokristallerinin kitin nanokompozit filmlerin suda çözünmesine etkisi Gontard vd. (1994) çalışmasında anlatılmış yöntem kullanılarak karar verilmiştir (Gontard vd., 1994). Suda çözünme testi için yaklaşık 2 santimetre çaplı film tartılıp 50 mililitre distile su içerisine konulmuş ve 24 saat 23°C sıcaklıkta 100 devir/dakika hızla karıştırılmıştır. Daha sonra filtre kağıdından geçirilmiş ve toplanan çözünmemiş kısım vakum fırınında sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuştur. Suda çözünme yüzdesi başlangıç ağırlığı, film nem değeri ve çözünme testinden sonra elde edilen kuru ağırlık kullanılarak hesaplanmıştır.

Filmlerin Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi

Hazırlanan filmlerin mekanik özelliklerine planlandığı gibi ASTM standart (ASTM D882-09,2009) yöntemi kullanılarak karar verilmiştir. Kısacası 8 cm x 2 cm ebatlarında filmler hazırlanmış tekstür analiz cihazı (Brookfield CT3 Texture Analyzer, ABD) kullanılarak gerilme direnci ve kopma esnemesine karar verilmiştir. Gerilme direncine, maksimum yükü filmin kesit alanına bölerek karar verilmiştir. Kopma esnemesi

(%), numunenin başlangıçtaki uzunluğu ile kopma anındaki uzunluğu arasındaki değişim yüzdesinden bulunmuştur. Ölçümler planlandığı üzere tip 1 ve tip 3 filmler için gerçekleştirilmiştir.

Su Buharı Geçirgenliği

Filmlerin su buharı geçirgenliği, bazı modifikasyonlarla ASTM yöntemi E96-05'e (ASTM, 2005) göre belirlenmiştir. Analizlerde 50 mm çapında ve 10 mm derinliğinde yuvarlak PTFE teflon kaplar kullanılmıştır. Ölçümler planlandığı üzere tip 1 ve tip 3 filmler için gerçekleştirilmiştir Film örnekleri daireler halinde kesilerek 6 ml distile su (23 °C, % 100 bağıl nem) içeren ağzı kapalı kaplara sabitlenmiş ve 23 °C sıcaklık ve %0 bağıl nemde silika jel içeren bir desikatöre yerleştirilmiştir. Film boyunca nüfuz eden su buharı, 10 saat boyunca, kapalı kapın her 2 saatte bir ağırlık kaybıyla ölçülmüştür. Filmlerin ölçülen su buharı geçirgenliği değerleri Eşitlik (2) kullanılarak hesaplanmıştır (Liu vd., 2018).

$$\text{Su Buharı Geçirgenliği} = \frac{SBİH}{(\Delta p)} \times X \quad (2)$$

Bu denklemde, SBİH, su buharı iletim hızı (g.m / s Pa m²), X ortalama film kalınlığı (mm) ve ΔP kısmi su buharı basıncını ifade etmektedir.

Isı direnci

Isıl dayanıklılığı yüksek olan ZİF-8 ve K-ZİF-8 nanokristallerin ısı özelliklerine termogravimetrik analizle (TGA,SDT 650, TA Instruments, New Castle, USA) karar verilmiştir. Bu amaçla 5 mg örnek nitrojen gazı altında 5°C/dak ısıtma hızıyla oda sıcaklığından 700°C'ye kadar ısıtılmıştır. Tip 1 ve tip 3 filmlerin termal özelliklerine ise diferansiyel taramalı kalorimetri (DTK) (Perkin Elmer, DSC 4000, CT, ABD) ile yapılan karakterizasyon testleri sonucunda karar verilmiştir. Ölçümler için hazırlanan nanokristaller dondurmalı kurutucuda 48 saat süreyle kurutulmuşlardır. Küçük parçalar haline getirilen filmler, alüminyum DTK numune kabına (5-10 mg) yerleştirilmiş ve 0°C'dan 350°C'a 10°C/dak hızda ısıtılmıştır. Boş olarak kapatılan numune kabı, referans olarak kullanılmıştır.

Kurkumin Salınım Testleri

Tip 3 nanokompozit filmlerin kurkumin salınım testleri Cano vd. (2016) çalışmasında ve güncel

Avrupa mevzuatına göre tarif edilen yöntemle yapılmıştır (Commission Regulation EU 10/2011)(Cano vd., 2016). Test edilecek filmler (3 cm x 4 cm) 20 ml olan farklı gıda uyarıcıların içerisine eklenmiştir. Uyarıcı A %10'luk etanol (hacim/hacim), uyarıcı B %3'luk asetik asit, uyarıcı C %20'lik etanol, uyarıcı D1 %50'lik etanol ve uyarıcı D2 oleik asit (bitkisel yağ olarak) olarak hazırlanmıştır. Örnekler 23°C sıcaklıkta karanlıkta çalkalanarak (100 devir/dakika) 7 gün inkübe edilmişlerdir. Salınan kurkumin miktarı 427 nm dalga boyunda ışık soğurma miktarındaki değişim farklı zaman aralıklarında ölçülerek ve kurkumin kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırılarak tespit edilmiştir.

Filmlerin Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi

Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Geliştirilen tip 1, tip 2 ve tip 3 filmlerin antimikrobiyal özelliklerini değerlendirmek için gram pozitif *Staphylococcus aureus* ve gram negatif *Escherichia coli* bakterileri kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite testleri Hafsa ve arkadaşlarının (2016) betimlediği disk difüzyon tekniği ile Kromojenik *E. coli* ve Baird Parker katı besiyeri (Diatek,Türkiye) üzerinde gerçekleştirilmiştir (Hafsa vd., 2016). Katı besiyerleri (Kromojenik *E. coli* ve Baird Parker) öncelikle 0.1 ml test edilecek bakteri (yaklaşık 10⁵-10⁶ koloni oluşturu birim (kob)/ml) ile aşılanmıştır. Daha sonra filmler aseptik olarak 2 cm yarıçaplı olarak kesildikten ve sterilizasyon amaçlı (filmin her iki yüzü) beşer dakika 325 nm dalga boyunda UV ışığına (16 W) maruz bırakıldıktan sonra katı besiyeri üzerine yerleştirilmiş ve 24 saat 37°C sıcaklıkta karanlıkta ve görünür ışık altında olmak üzere iki set halinde inkübe edilmiştir. Üç tip farklı nanokompozit filmlerin disk-difüzyon testlerinde bir set görünür ışık altında (400-800 nm dalga boyu, 15 W ışık enerjisi) test mevcuttur. İnkübasyon sonunda tüm disk-difüzyon testleri engelleme bölgesi ya da kolonisiz bölge (inhibition zone) 2 cm çaplı filmin etrafında kalan/oluşan temiz bölge (clear zone) dijital kumpas (BTS, PRC) yardımıyla ölçülerek karar verilmiştir.

Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Üç tip film örneği kullanılarak DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikaline karşı giderme aktivitesi (scavenging activity) spektroskopik yöntemler ile belirlenmiştir. 50 mg film 3 ml metanol içerisinde çözünmüş ve bu çözümden bir miktar (500 µl) DPPH (0.06 mM) radikalinin metanol içerisinde hazırlanmış çözeltisine eklenmiştir (Siripatrawan ve Harte, 2010). Daha sonra iyice karıştırılıp karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dakika süreyle inkübe edilmiş ve ışık soğurma değeri 517 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Standart olarak troloks kullanılmıştır. Film örneklerine ek olarak, serbest radikal giderme aktivitesi belirleme çalışmasında negatif kontrol örneği olarak tip 1 ve tip 2 nanokompozit filmler kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak 1XMÖK, 5XMÖK ve 10XMÖK konsantrasyonuna tekabül eden kapsüllenmemiş kurkumin miktarı kullanılmış ve % DPPH radikal giderme aktivitesine karar verilmiştir.

Toplam Polifenol Miktarının Belirlenmesi

Toplam fenolik miktarına Folin-Ciocalteu reaktifi yöntemi ile karar verilmiştir (Cai vd., 2016). Nanokompozit film uygulamaları için üç tip film örneği kullanılarak testler gerçekleştirilmiştir. 50 mg film 3 ml metanol içerisinde çözünmüş ve bu çözümden bir miktar (500 µl) Folin-Ciocalteu reaktifi (2.5 ml) içerisine eklenmiştir. Daha sonra üzerine doymuş sodyum karbonat çözeltisi (2 ml; 7.5% ağırlık/hacim) eklenmiştir. Oda sıcaklığında, karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra distile su eklenmiş şahit numuneye karşı 765 nm dalga boyunda ışık soğurması ölçülmüştür. Örnekler için elde edilen ışık soğurma değerleri çizilen gallik asit standart eğrisini tanımlayan regresyon eşitliğinde yerine konularak fenolik bileşik miktarı gallik asit cinsinden hesaplanmıştır. Aynı şekilde 1XMÖK, 5XMÖK ve 10XMÖK denk gelen kapsüllenmemiş kurkuminin toplam fenolik miktarına karar verilmiş ve pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Tip 1 ve tip 2 film örneklerinin toplam fenolik miktarı yukarıda anlatıldığı şekilde karar verilmiş ve bu örnekler negatif kontrol görevi görmüştür.

Film Dayanıklılık Testi

Optimum kurkumin konsantrasyonu içeren K-ZİF-8 nanokristalli kitin nanokompozit filme

karar verildikten sonra paketleme sonrası antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinde meydana gelen değişimler 28 gün boyunca gözlemlenmiştir. Bu amaçla, 20 adet 2 cm yarıçaplı film antimikrobiyal testleri için ve 20 adet 50 mg film örnekleri antioksidan testleri için aynı koşullarda hazırlanmıştır. Hazırlandıktan hemen sonra (sıfır gün) olmak üzere dörder film örneği her 7 günde (28 gün boyunca) antimikrobiyal ve antioksidan aktivite testlerine maruz bırakılmıştır. Test edilmeyen filmler 4°C sıcaklıkta %75 bağıl nem ile koşullandırılmış Nüve TK 252 ortam koşullandırıcının içerisinde görünür ışık altında (400-800 nm, 15 W) saklanmıştır. Böylece filmlerin ilk günden başlayarak dört hafta boyunca haftalık antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerindeki değişim takip edilebilmiş ve değerlendirilebilmiştir.

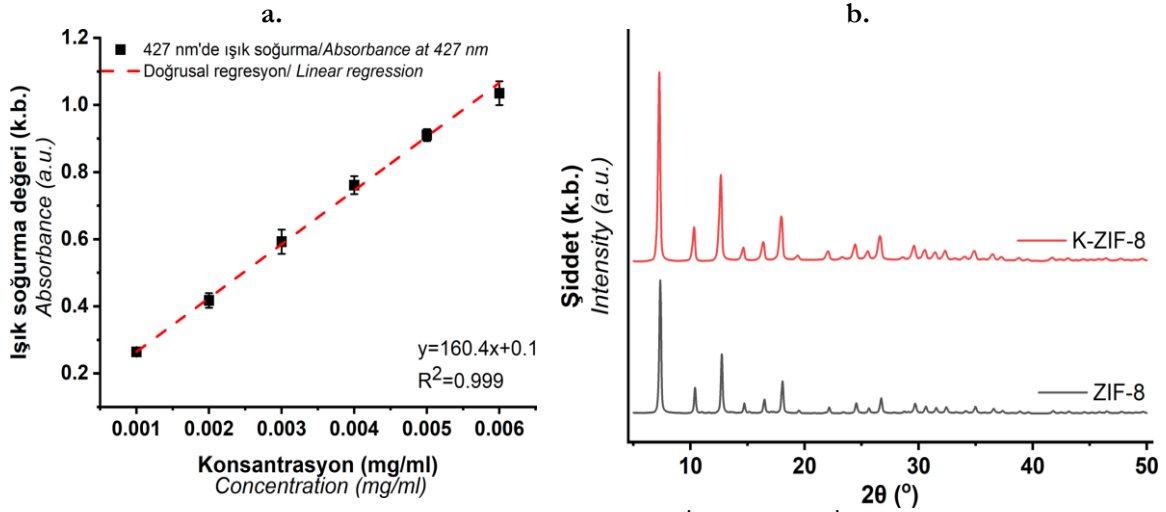
Veri Analizi

Tüm deneyler için üç tekerrürlü olarak yapılmıştır. İstatiksel analizler tüm deney aşamalarında sonuçları değerlendirmek için istatistiksel analiz yazılımı (OriginPro) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneysel verilerin gruplar arasında istatistiksel anlamlılıkları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile incelenmiş ve farklılığın anlamlı bulunduğu veri grupları için ileri aşama testi (posthoc) olarak Tukey testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler için $P < 0.05$ kriteri dikkate alınmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

ZİF-8 ve K-ZİF-8 Sentezi ve Karakterizasyonu

Kurkumin yüklenme randımanına yöntem bölümünde belirtildiği şekilde UV-Vis spektrometre kullanılarak karar verilmiştir. Öncelikle kurutulmuş ZİF-8 nanokristalleri (5 mg) 2 M HCl içerisinde parçalanmıştır. Daha sonra örneğin UV-Vis spektrometre ile 427 nm dalga boyunda etanol (2 ml) içerisinde ışık soğurması ölçülmüştür. Elde edilen ışık soğurma miktarı etanol içerisinde hazırlanan kurkumin standart eğrisi ile karşılaştırılmıştır (Şekil 1a). Kapsüllenme randımanına yüklenen kurkumin miktarı başlangıçta eklenen kurkumin miktarı ile orantılanarak 74.8 ± 1.83 olarak karar verilmiştir.

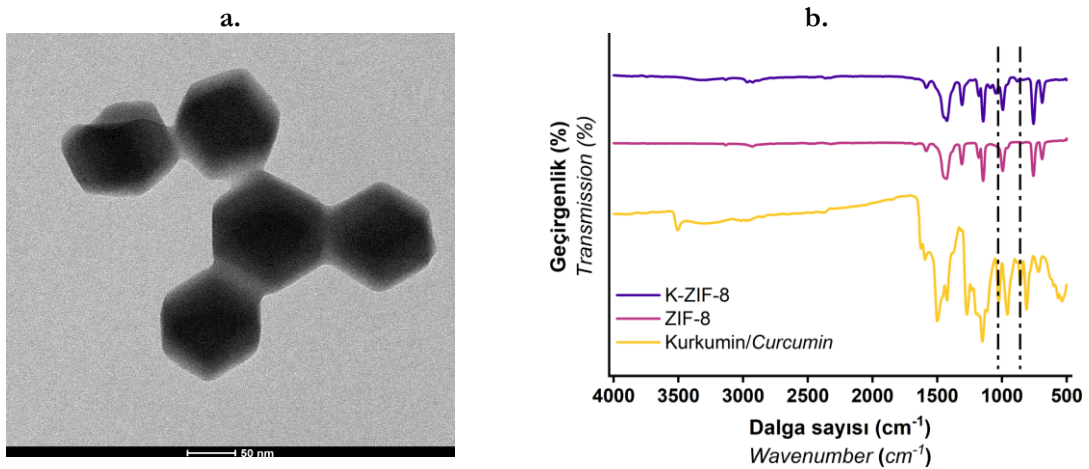


Şekil 1.a. Methanol içerisinde kurkumin standart eğrisi, b. ZİF-8 ve K- ZİF-8 nanokristallerinin XRD desenleri

Figure 1.a. Standart curve of curcumin in methanol, b. XRD patterns of ZIF-8 and K-ZIF-8 nanocrystals

Sentezlenen kristallerin referans XRD desenindeki tepe pozisyonları ile birebir örtüştüğü saptanmıştır (Park vd., 2006) (Şekil 1b). Toz XRD ile ölçülen ZİF-8 örneklerinde 7.42°, 10.4°, 12.7°, 14.7° ve 16.4° derece değerlerinde (110), (200), (211), (200) ve (310) düzlemlerine denk gelen yoğun 2θ kırınım zirveleri tespit edilmiştir (Nguyen vd., 2021). Sonuç olarak K-ZİF-8 kristalleri ile saf faz ZİF-8 kristallerinin 2θ kırınım zirvelerinin benzerliklerinden dolayı kristallerin benzer özellikler gösterdiğine karar verilmiştir.

ZİF-8 nanokristallerinin morfolojik özelliklerine Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) kullanılarak karar verilmiştir (Şekil 2a). Beklendiği gibi parçacıkların keskin altgen yüzeylere sahip nanokristaller olduğu ortaya çıkmıştır (Pan vd., 2011). Ortalama nanokristal boyutunun 50 nm olduğu gözlemlenmiştir. K-ZİF-8 TEM analizinde benzer sonuçlar elde edilmiştir.

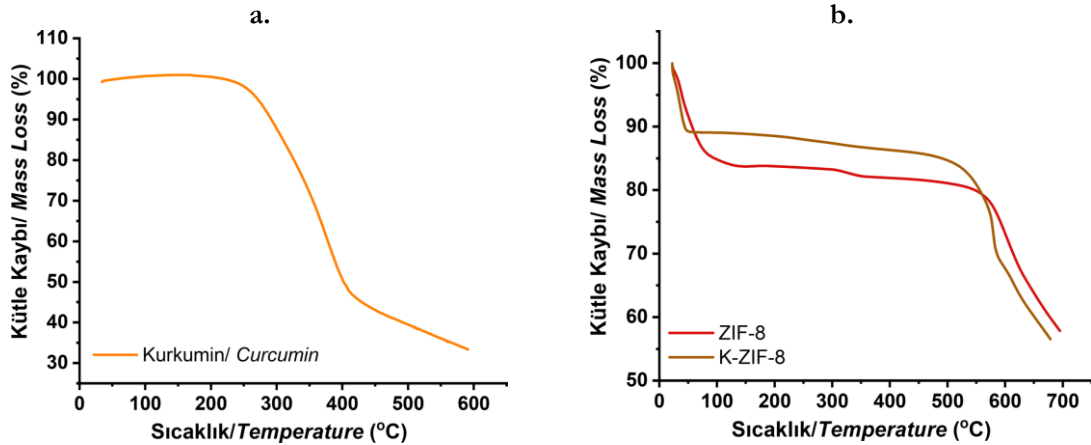


Şekil 2. a. ZİF-8 nanokristallerin TEM görüntüsü (ölçek çubuğu 50 nm). b. Kurkumin, ZİF-8 ve K-ZİF-8 örneklerinin FDKS tayfları

Figure 2.a. TEM image of ZIF-8 nanocrystals (scale bar: 50 nm) b. FTIR spectrum of curcumin, ZIF-8 and K-ZIF-8 samples

Kurkumin, ZİF-8 ve K-ZİF-8 yapısındaki muhtemel kimyasal bağ etkileşim ve değişimlerine Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FDKS) ile transmisyon modunda 4000 ile 500 cm^{-1} aralığında karar verilmiştir (Şekil 2b). Kurkuminin FDKS tayfında 3509 cm^{-1} bulunan bant fenollerin hidroksil grubuna, 1506, 1271 ve 1151 cm^{-1} gözlemlenen bantlar sırasıyla benzen halkasının C=C, aromatik C-O ve C-O-C gerilim titreşimlerine bağlanmıştır (Tiwari vd., 2017). Bunların yanı sıra 1024 ve 856 cm^{-1} dalga sayılarında gözlemlenen bantlar kurkuminin karakteristik C-O gerilme titreşimi ile fenol yapının C-H titreşimlerine atfedilmiştir (Kolev vd., 2005). Ayrıca Şekil 2b'de ZİF-8 FDKS tayf bantlarının literatürle tutarlı olduğu görülmüştür. Örneklerin C=N, C=C ve C-C gerilme titreşimlerine ilişkin karakteristik sinyalleri, spektrumun 1600–1400 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir. Diğer taraftan C–N germe titreşim sinyali 1310 ve 1145 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır (Zhang vd., 2018). Ayrıca, 758 ve 694 cm^{-1} 'deki tepe noktaları, sırasıyla ZİF-8 'lerin Zn–O ve Zn–N'sine atanmıştır (Huang vd., 2018; Yang vd., 2020). Bununla birlikte, literatürde kurkumin kapsüllenmiş ZİF-8 örneklerinde gözlemlendiği gibi bu çalışmada da K- ZİF-8 nanokristallerinin FDKS tayfındaki titreşim modları hemen hemen aynı kalmıştır. Bu da kurkuminin ZİF-8 içerisine kapsüllendikten sonra ZİF-8'de hiçbir faz değişikliği olmadığı şeklinde yorumlanmıştır (Zheng vd., 2015).

TGA yöntemi malzemenin sıcaklık artışı ile kütle kaybı ölçülerek ısıl kararlılığa karar verilme için kullanılmaktadır. Kurkumin zayıf hidrofilik yapısı nedeniyle 250 °C'ye kadar nem kaybı göstermezken, 250°C'den başlayarak termal bozunma nedeniyle belirgin kütle kaybı gözlemlenmeye başlanmıştır (Şekil 3a) (Bajpai vd., 2015). ZİF-8 nanokristallerinin ısıl kararlılığı literatürle uyumludur. Gözlemlenen yaklaşık %18.5'lik kütle kaybı nanokristalleri içerisinde hapsolmuş olan su ve alkol gibi misafir moleküllerin kaybına atfedilirken, 550°C civarı gözlemlenen ikinci aşama kütle kaybı ZİF-8 nanokristallerinin çerçeve yapılarının bozulmasına bağlanmıştır (Park vd., 2006). K- ZİF-8 örneğinde ilk kütle kaybı yaklaşık olarak %11.5 gözlemlenmiştir (Şekil 3b). İlk kütle kaybındaki bu azalış kurkuminin hidrofobik yapısı nedeniyle ZİF-8 çerçeve yapı içerisinde su ve alkol gibi hidrofilik yapıda misafir moleküllerin az miktarda olduğunun bir göstergesi olabilir. Yine aynı şekilde çerçeve yapının ısıl bozulmasının göstergesi olan ikinci aşama kütle kaybı K-ZİF-8 örneğinde boş ZİF-8 örneğine göre daha düşük sıcaklıkta başlamıştır. K-ZİF-8 örneğindeki ısıl bozulma sıcaklığındaki düşüş kapsüllenen kurkuminin düşük sıcaklıklarda bozulmaya başlamasına bağlanabilir (Tiwari vd., 2017). Şekil bilgisi, kristal yapı, faz saflığı, yüzey kimyası ve ısıl kararlılık testleri kurkuminin ZİF-8 nanokristalleri içerisine başarı ile kapsüllendiğini ve dolayısıyla K-ZİF-8 sentezinin başarı bir şekilde tamamlandığını gösterir niteliktedir.



Şekil 3. TGA eğrileri a. Kurkumin. b. ZİF-8 ve K-ZİF-8

Figure 3. TGA curves of a. curcumin b. ZIF-8 and K-ZIF-8

Nanokompozit Film Karakterizasyonu Filmlerin Mekanik, Bariyer ve Optik Özellikleri

Mekanik özelliklerin tespiti tip 1 ve tip 3 filmler için gerçekleştirilmiştir. Çizelge 1’de elde edilen sonuçlar özetlenmiştir. Mekanik özellikler filmlerin moleküller arası bağ kuvvetleriyle fazlasıyla ilişkilidir. Filmlerin gerilme dirençlerinin ZİF-8 konsantrasyonu ile artma eğiliminde olduğu gözlemlenmiştir. Gözlemlenen artış sert yapıdaki ZİF-8 nanokristallerinin mantar filmin polimer zincir kuvvetini olumlu yönde etkilemesi ile açıklanabilir (Qian vd., 2018). Ancak söz konusu artış istatistiksel olarak önemli değildir ($P < 0.05$). Aynı şekilde, ZİF-8 nanokristallerinin nanokompozit film yapısına eklenmesi filmlerin kopma esnemesinde yüksek konsantrasyonlarda düşüşe sebebiyet verse de bu etkinin istatistiksel olarak önemli olmadığı kaydedilmiştir. Benzer bir etki ZİF-8 nanokristalleri kitosan ve polietilen oksit elektroğrılmış nanofillerin içerisine eklendiğinde gözlemlenmiştir (Kohsari vd., 2016). Düşük konsantrasyonlarda ZİF-8 nanokristalleri polimer yapının esnekliğini arttırmış fakat yüksek konsantrasyonlarda tam tersi bir etki göstererek en düşük esnekliğin elde edilmesine sebebiyet

vermiştir. Yüksek konsantrasyonlarda gözlemlenen bu düşüş ZİF-8 nanokristallerinin polimer yapı içerisinde iyi yayılmayarak toplanmasına bağlanabilir.

Su buharı direk olarak ürün kalitesini ve raf ömrünü etkilemektedir. Çünkü paket için kullanılan malzeme iç ve dış çevre arasında su buharı transferine olanak verebilmektedir. Düşük su buharı geçirgenliği paket malzemeleri için en önemli gerekliliklerdendir. Çizelge 1’de gösterildiği üzere tip 1 kitin filmin su buharı geçirgenliği 3.43×10^{-10} g.m/s.Pa.m² olup yaygın olarak paket malzemesi olarak kullanılan ve su buharı geçirgenliği 4×10^{-13} g.m/s.Pa.m² ile 9.5×10^{-13} g.m/s.Pa.m² arasında değişen sentetik polietilen filmlere göre oldukça yüksektir (Salame ve Steingiser, 1977). K-ZİF-8 nanokristallerinin farklı konsantrasyonlarda tip 3 filmlerin üretimi için yapıya eklenmesi su buharı geçirgenliğinde istatistiksel olarak önemli olan bir değişikliğe sebep olmamıştır. Mevcut çalışmada gözlemlenen artış eğilimi ZİF-8 nanokristallerinin kitin kompozit film içerisindeki gözenekliliği ve dolayısıyla gaz geçirgenliğini arttırması ile açıklanabilir (Lee vd., 2009).

Çizelge 1. Tip 1 ve tip 3 filmlerin gerilme direnci, kopma esnemesi, su buharı geçirgenliği ve suda çözünmesi

Table 1. Tensile strength, elongation at break, water vapor permeability and water solubility of type 1 and type 3 films

Örnek Sample	Gerilme direnci $\times 10^6$ (N/m ²) Tensile strength $\times 10^6$ (N/m ²)	Kopma esnemesi (%) Elongation at break (%)	Su Buharı Geçirgenliği $\times 10^{-10}$ (g.m/s.Pa.m ²) Water vapor permeability $\times 10^{-10}$ (g.m/s.Pa.m ²)	Suda çözünme (%) Water solubility (%)
Tip 1 kitin film Type 1 chitin film	19.9 \pm 4.65 ^a	10.16 \pm 2.851 ^a	3.43 \pm 0.129 ^a	21.03 \pm 2.444 ^a
Tip 3 kitin film 1xMÖK değerinde K-ZİF-8 Type 3 chitin film 1xMIC equivalent K-ZIF-8	25.7 \pm 2.31 ^a	11.78 \pm 1.555 ^a	3.60 \pm 0.601 ^a	7.22 \pm 2.222 ^b
Tip 3 kitin film 5xMÖK değerinde K-ZİF-8 Type 3 chitin film 5xMIC equivalent K-ZIF-8	26.1 \pm 0.66 ^a	10.62 \pm 1.954 ^a	3.96 \pm 0.132 ^a	7.48 \pm 2.231 ^b
Tip 3 kitin film 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 Type 3 chitin film 10xMIC equivalent K-ZIF-8	27.2 \pm 4.70 ^a	7.14 \pm 0.990 ^a	4.27 \pm 0.618 ^a	7.26 \pm 0.793 ^b

* Aynı sırada farklı harfler önemli farklılığı gösterir ($P < 0.05$).

* Different letters in the same column show the significance ($P < 0.05$).

Sabit sürede tip 1 ve tip 3 filmlerin suda çözünürlüklerin istatistiksel olarak birbirinden oldukça farklı olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 1). K-ZİF-8 eklenmiş tip 3 filmlerin suda çözünürlükleri, K-ZİF-8 miktarı fark etmeksizin tip 1 kontrol filmlerine göre oldukça düşüktür. Suda çözünmedeki söz konusu azalışı kurkuminin ve ZİF-8 nanokristallerinin sahip olduğu yüksek hidrofobik özelliğe bağlanabilir (Musso vd., 2017; Roy ve Rhim, 2020; Zhang vd., 2018). Kurkumin hidrofobik yapısı nedeniyle pH 1 ve 7 arasında su ile etkileşimi çok az olan diferuloylmetan formundadır (Musso vd., 2017). Diğer taraftan ZİF-8 nanokristallerinin çerçeve yapısının oldukça hidrofobik olmasının nedeni imidazolat bağlayıcının hidrofilik fonksiyonel gruplar içermemesinden kaynaklanır (Zhang vd., 2018). Suda çözünme testlerinde ZİF-8 içerisine kapsüllenmiş kurkumin su ile etkileşime geçmeyerek ZİF-8 ile beraber suda çözünürlüğü oldukça düşürmüştür.

Diferansiyel Tarama Kalorimetre (DTK) kullanılarak nanokompozit filmlerin termal özelliklerine karar verilmiştir (Çizelge 2). Filmler

termal teste başlanmadan önce 25°C ve %50 bağıl nem altında iki hafta ön koşullandırılmış ve filmler DTK analizlerine koşullandırmadan sonra maruz bırakılmışlardır. Ölçümler 0 ile 350°C sıcaklık değerleri arasında yapılmıştır. Kitin, kristal yapısının bozulması için yüksek ısı enerjisine ihtiyaç duyan bir biyopolimerdir (Bershtein vd., 1994). DTK ölçümleri incelendiğinde tip 1 ve tip 3 numunelerde benzer tepe noktalarının elde edildiği görülmüştür. İlk tepe nokta 100 ile 200°C arasında geniş bir endotermik tepe olarak 175°C civarında gözlemlenmiştir. Söz konusu tepe nokta yapı içerisinde hapsolmuş suyun buharlaşmasına atfedilmiştir (Nam vd., 2010). K-ZİF-8 ilavesi ve konsantrasyonunun kitin filmler içerisinde artmasıyla beraber ilk tepe noktanın ve karşılık gelen entalpi değişimlerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu azalışın sebebi oldukça hidrofobik kurkumin ve ZİF-8 içerisine eklenen kitin nanokompozit filmlerin su tutma kapasitesinin azalması ve su ile yapının etkileşiminin zayıflamasıdır (Nam vd., 2010). Gözlemlenen ikinci endotermik tepe noktası kitinin yapısının bozulmasıyla açıklanmıştır (Saravana vd., 2018).

Çizelge 2. Tip 1 ve tip 3 kitin nanokompozit filmlerin geçiş sıcaklıkları ve karşılık gelen entalpi değişimi
Table 2. Transition temperatures and corresponding enthalpy changes of type1 and type 3 chitin nanocomposite films

		Tepe 1 Peak 1	Tepe 2 Peak 2
Tip 1 kitin film	T °C	178.66	278.50
Type 1 chitin film	ΔH (J/g)	111.736	59.359
Tip 3 kitin film 1xMÖK K-ZİF-8 ile	T °C	172.04	300.99
Type 3 chitin film with 1xMIC K-ZIF-8	ΔH (J/g)	75.963	34.444
Tip 3 kitin film 5xMÖK K-ZİF-8 ile	T °C	167.08	304.14
Type 3 chitin film with 5xMIC K-ZIF-8	ΔH (J/g)	43.162	59.533
Tip 3 kitin film 10xMÖK K-ZİF-8 ile	T °C	173.11	298.06
Type 3 chitin film with 10xMIC K-ZIF-8	ΔH (J/g)	52.941	108.941

Son olarak Tip 1, tip 2 ve tip 3 filmlerin optik özelliklerine ışık geçirgenliklerine göre karar verilmiştir (Çizelge 3). Işık geçirgenliği özellikle kurkuminin antimikrobiyal uygulamalarda görünür ışık dalga boyunun etkili çalışabilmesi için önem arz etmektedir. Düşük şeffaflık değerleri filmlerin görünür ışık altında daha şeffaf olduğunu gösterir (Vidal vd., 2020). Tip 1 kitin filmler ZİF-8 yüklenmiş filmlere göre daha opak olduğu sonucuna varılmıştır. Diğer taraftan ZİF-8 eklendiğinde filmlerin şeffaflık değerleri artmıştır.

K-ZİF-8 konsantrasyonu kitin film içerisinde arttığında tip 3 filmlerde şeffaflığın azaldığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde literatürde kurkumin konsantrasyonundaki artışla oldukça şeffaf olan polilaktik asit kompozit filmlerinin ışık geçirgenliğinin önemli oranda düştüğü raporlanmıştır (Roy ve Rhim 2020). Yapılan çalışmalar sonunda genel olarak tip 1 ve tip 3 filmler arasında önemli bir özellik değişimi olmadığı gözlemlenmiştir. Filmlerin mekanik, bariyer ve optik özellikleri incelendiğinde filmlerin

gıda paket malzemesi olarak kullanılmaya müsait olduğu kanaatine varılmıştır.

Çizelge 3. Tip 1, tip 2 ve tip 3 kitin nanokompozit filmlerin şeffaflık değerleri, toplam fenolik miktarları ve DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri

Table 3. Transparency values, total phenolic contents and DPPH free radical scavenging activities of type 1, type 2 and type 3 chitin nanocomposite films

Örnek Sample	600 nm'de şeffaflık değeri Transparency value at 600 nm	Toplam fenolik miktarı (mg galik asit/g) Total phenolic content (mg gallic acid/g)	% DPPH serbest radikal giderme aktivitesi %DPPH free radical scavenging activity
Tip 1 kitin film Type 1 chitin film	1.92±0.001 ^a	22.01±0.242 ^a	4.09±0.165 ^a
Tip 2 kitin film ZİF-8 ile Type 2 chitin film with ZIF-8	1.49±0.001 ^b	22.72±1.789 ^a	4.47±0.215 ^a
Tip 3 kitin film 1xMÖK K-ZİF-8 ile Type 3 chitin film with 1xMIC K-ZIF-8	1.41±0.005 ^c	23.77±0.302 ^a	11.26±0.111 ^b
Tip 3 kitin film 5xMÖK K-ZİF-8 ile Type 3 chitin film with 5xMIC K-ZIF-8	1.45±0.016 ^{bc}	25.05±0.303 ^a	14.76±1.022 ^c
Tip 3 kitin film 10xMÖK K-ZİF-8 ile Type 3 chitin film with 1xMIC K-ZIF-8	1.49±0.003 ^b	34.32±0.121 ^b	19.29±0.094 ^d

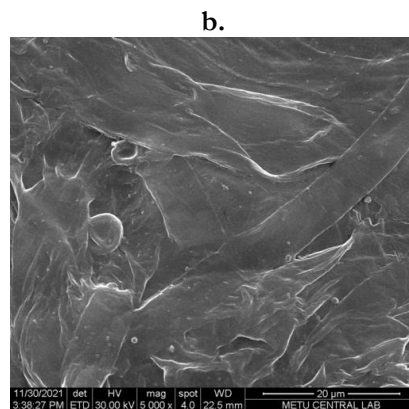
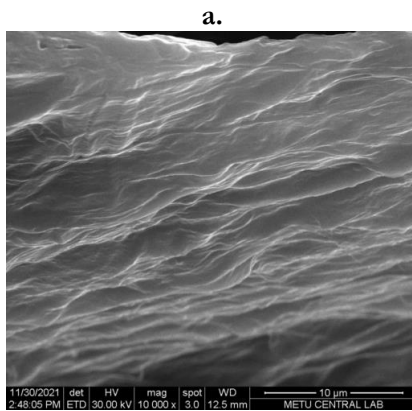
*Aynı sırada farklı harfler önemli farklılığı gösterir ($P < 0.05$).

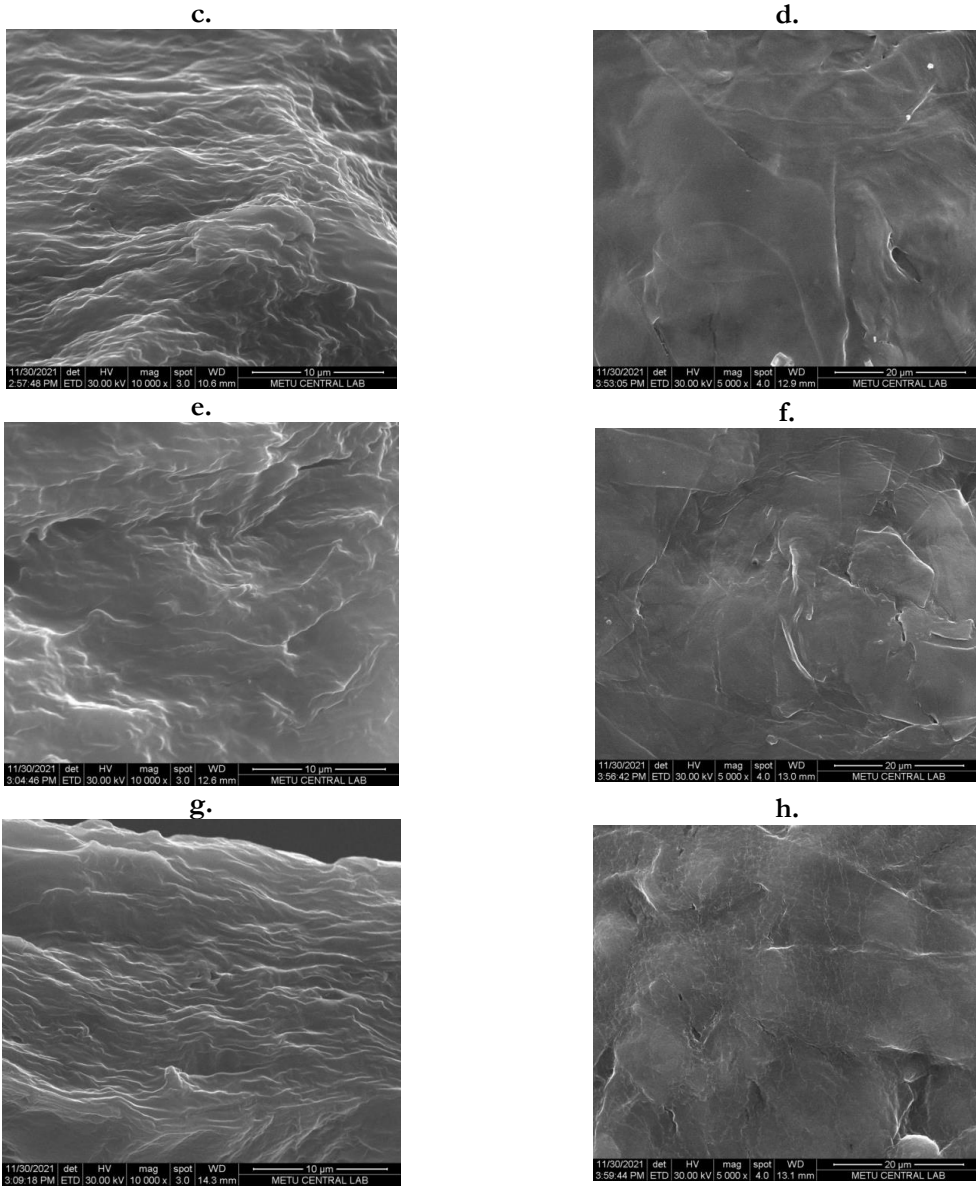
* Different letters in the same column show the significance ($P < 0.05$).

Filmlerin Morfolojik Analizleri

Nanokompozit film yüzey ve mikro yapı bilgilerinin incelenmesi için Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskopi (FESEM) ile görüntüleme yapılmıştır (Şekil 4). Yan kesit ve yüzey alan görüntülerinde tip 1 ya da tip 3 film olması fark etmeksizin dalgalı ve pürüzlü bir sonuç elde edilmiştir. Söz konusu sonuç, belirgin bir şekilde mevcut FESEM büyütme seviyesinde gözlemlenememiş olsa da mantardan kitin

nanokompozit film elde etme işlemi sırasında oluşan kitin nanoliflerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Fazlı Wan Nawawi vd., 2019). FESEM analizleri film yüzeyinde nanoparçacık toplanması olup olmadığını ve nanoparçacık ile film polimer yapısı uyumluluğuna karar vermek için de kullanılmaktadır (Aziz vd., 2019). Tip 3 filmlerin yan kesit ve yüzey alanı görüntülerinde K-ZİF-8 nanokristallerinin toplanması ile ilgili herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.





Şekil 4. Kitin nanokompozit filmlerin Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüleri. (a) Tip 1 kitin film yan kesiti (10000x büyütme), (b) Tip 1 kitin film yüzey görüntüsü (5000x büyütme), (c) Tip 3 1xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yan kesiti (10000x büyütme), (d) Tip 3 1xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yüzey görüntüsü (5000x büyütme), (e) Tip 3 5xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yan kesiti (10000x büyütme), (f) Tip 3 5xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yüzey görüntüsü (5000x büyütme), (g) Tip 3 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yüklenmiş yan kesiti (10000x büyütme), (h) Tip 3 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yüzey görüntüsü (5000x büyütme)

Figure 4. TEM images of chitin nanocomposite films (a) Type 1 chitin film, side view (10000x magnification), (b) Type 1 chitin film, top view (5000x magnification), (c) Type 3 1xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, side view (10000x magnification), (d) Type 3 1xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, top view (5000x magnification), (e) Type 3 5xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, side view (10000x magnification), (f) Type 3 5xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, top view (5000x magnification), (g) Type 3 10xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, side view (10000x magnification), (h) Type 3 10xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, top view (5000x magnification)

Toplam Fenolik Miktarının Tespiti

Çizelge 3'de tip 1 kitin nanokompozit filmlerin toplam fenolik miktarı kültür mantarının (*Agaricus bisporus*) literatürde verilen 3.1-3.9 g galik asit/100 gram değerine çok yakın çıkmıştır (Savoie vd., 2008). Kültür mantarında mevcut fenolün büyük bir kısmı melanojen fenollerden ve vitaminlerden gelmektedir (Sommer vd., 2009). Tip 2 filmin içerisine eklenen boş ZİF-8 nanokristallerinin herhangi bir fenol aktivitesine rastlanmamıştır. Bu nedenle tip 1 ve tip 2 filmlerinin toplam fenol değerlerinde herhangi bir farka rastlanmamıştır. Mevcut toplam fenolik değeri iki film için ana yapıyı oluşturan mantardan gelmektedir. Kurkumin düşük moleküler ağırlıklı polifenollerdir. Beklendiği gibi tip 3 filmlerde toplam fenol miktarı film içerisine eklenen K-ZİF-8 arttıkça artmıştır (Ma vd., 2017).

Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Çizelge 3'de gösterildiği üzere mantardan elde edilen kitin tabanlı filmlerde yüksek antioksidan aktiviteye rastlanmamıştır. Kültür mantarının (*Agaricus bisporus*) % DPPH serbest radikal giderme aktivitesi %3 civarında raporlanmıştır (Reis vd. 2012). Tip 1 film sadece mantardan özütlenmiş kitin ve glukandan üretilmiştir bu nedenle DPPH serbest radikal giderme aktivitesi kültür mantarının literatürde gösterilen değerine

oldukça yakındır. Tip 2 filmin içerisine eklenen boş ZİF-8 nanokristallerinin herhangi bir antioksidan aktivitesine rastlanmamıştır. Bu nedenle tip 1 ve tip 2 filmlerinin % DPPH serbest radikal giderme aktivitesinde istatistiksel bir farka rastlanmamıştır. Tip 3 filmlerde K-ZİF-8 konsantrasyonu arttıkça % DPPH serbest radikal giderme aktivitesinde dikkate değer artış gözlenmiştir. Her ne kadar kurkuminin fenolik hidroksil grubunun hidrojen atomu verme yeteneği antioksidan yeteneğinin başlıca sorumlusu olsa da kurkuminin β -diketon yapısının metilen grubu da kurkuminin antioksidan aktivitesine katkıda bulunur (Roy ve Rhim 2020). Bu nedenle tip 3 filmler kurkumin içerikleriyle en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermişlerdir.

Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite testleri Hafsa ve arkadaşlarının (2016) betimlediği disk difüzyon tekniği ile Kromojenik *E. coli* ve Baird Parker katı besiyeri (Diatek, Türkiye) üzerinde gerçekleştirilmiştir (Hafsa vd., 2016). Antimikrobiyal aktiviteye disk-difüzyon testlerinde 2 cm çaplı film besiyeri üzerine yerleştirilerek ve etrafında kalan/oluşan temiz bölge ölçülerek karar verilmiştir. Testler tüm film tiplerinde gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4'de özetlenmiştir.

Çizelge 4. Disk difüzyon metoduyla *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı belirlenen kolonisiz bölge (cm)

Table 4. Inhibition zone (cm) determined by disc diffusion method against *E. Coli* and *S. Aureus* bacteria

	Işıksız/without light		Işıklı/with light	
	Kolonisiz bölge (cm)		Kolonisiz bölge (cm)	
	Inhibition zone (cm)		Inhibition zone (cm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Tip 1 kitin film		Oluşmadı		Oluşmadı
Type 1 chitin film	4.41±0.14 ^a	No zone	4.76±0.34 ^a	No zone
Tip 2 kitin film ZİF-8 ile		Oluşmadı		Oluşmadı
Type 2 chitin film with ZIF-8	4.46±0.07 ^a	No zone	4.64±0.21 ^a	No zone
Tip 3 kitin film 1xMÖK K-ZİF-8 ile		0.115±0.007 ^a		Oluşmadı
Type 3 chitin film with 1xMIC K-ZIF-8	4.55±0.07 ^a		4.39±0.14 ^a	No zone
Tip 3 kitin film 5xMÖK K-ZİF-8 ile		0.110±0.014 ^a		Oluşmadı
Type 3 chitin film with 5xMIC K-ZIF-8	5.12±0.14 ^b		4.53±0.07 ^a	No zone
Tip 3 kitin film 10xMÖK K-ZİF-8 ile		0.085±0.007 ^a		Oluşmadı
Type 3 chitin film with 10xMIC K-ZIF-8	5.76±0.07 ^c		4.42±0.14 ^a	No zone

* Aynı sırada farklı harfler önemli farklılığı gösterir ($P < 0.05$).

* Different letters in the same column show the significance ($P < 0.05$).

Kullanılan kromojenik besiyeri *E.coli*'nin beta glukonidaz ve beta galaktosidaz aktivitelerine karşı seçicidir ve *E.coli*'nin büyümesi durumunda mavi/turkuaz koloniler oluşarak besiyerinin rengini maviye dönüştürmektedir (Şekil 5). Aynı şekilde Baird Parker besiyeri *S.aureus*'un lipoliz ve proteoliz aktivitelerine karşı seçicidir ve büyüme sonucunda siyah etrafı haleli koloniler oluşarak besiyerinin rengini siyaha dönüştürmektedir (Şekil 5). Mevcut çalışmada elde edilen tüm filmler Nawawi ve arkadaşlarının yöntemi ile kültür mantardan (*Agaricus bisporus*) kitin özütlenerek ve gliserol eklenerek elde edilmiştir (Fazli Wan Nawawi vd., 2019). Fazli Wan Nawawi ve arkadaşlarının söz konusu çalışmasında elde edilen film yapılarının kitin nanolifleri ile yüksek oranda glukandan oluştuğu gösterilmiştir (Fazli Wan Nawawi vd., 2019). Mantardan elde edilen tip 1 kitin nanokompozit filmlerin K-ZİF-8 eklemekten dahi gram negatif *E.coli* kolonilerinin büyümesine karşı etkili olduğu gözlemlenmiştir. Daha önce yapılan pek çok çalışmada kitin nanoliflerinin antimikrobiyal aktivitesi gösterilmiştir (Li vd., 2016;Riaz Rajoka vd., 2020). Kitinin deasetilasyonu ile elde edilen kitosanın gram negatif bakterilere karşı olan antimikrobiyal etkisi son yıllarda artarak farklı çalışmalarda gösterilmiştir. Söz konusu antimikrobiyal mekanizmanın nedeni şu şekilde özetlenebilir: (i) kitosan yüzeyindeki pozitif yüklü katyonik grupların gram negatif bakteri hücre zarındaki aniyonik gruplarla etkileşime geçerek, hücre içi unsurların hücreden sızmasına sebep olması; (ii) düşük moleküler ağırlıklı kitosanın hücre içerisine girerek RNA ve protein sentezini engellemesi; (iii) kitosanın kısaçaplı molekül gibi davranarak metalleri bağlayarak hücrenin büyümesini ve toksin üretimini önlemesidir (Papineau vd., 1991;Liu vd., 2001;Li vd., 2016). Yukarıda sıralanan sebepler kitin nanoliflerinden oluşan mantar tabanlı kitin nanokompozit filmlerin gram negatif *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal etkisini açıklamak için kullanılabilir. Ancak söz konusu etkinin gram pozitif *S.aureus* için aynı şekilde geçerli olmadığı görülmektedir. Bunun sebebi ise kitin nanokompozit yapının ve *S. aureus* bakteri yüzeyinin pozitif yüklü olmasından dolayı kitinin *S. aureus* kolonileriyle etkileşiminin sınırlı olmasıyla açıklanabilir (Li vd., 2016). Tip 1 ve tip

2 nanokitin filmler arasında antimikrobiyal etki bakımından herhangi bir farka rastlanmamıştır. İki film arasındaki tek fark tip 2 filme boş ZİF-8 nanokristallerinin eklenmiş olmasıdır. Daha önce yapılan çalışmalarda boş ZİF-8 nanokristallerinin mevcut çalışmada olduğu gibi *E. coli* ve *S. aureus* patojenlerine karşı antimikrobiyal bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (Fu vd.,2022). Tip 3 filmler içerisinde istatistiksel olarak önemli farklılık K-ZİF-8 konsantrasyonu 5XMÖK ve üstüne çıktığında gözlemlenmiştir. Gözlemlenen farkın kurkuminin öncelikli olarak ZİF-8 içerisinden salınarak gram negatif bakteri koloni oluşumunu engellediği düşünülmektedir. Kurkuminin *E. coli* ve *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etkisi pek çok çalışmada gösterilmiştir. Ancak bu çalışmalarda gözlemlenen kurkuminin farklı antimikrobiyal etkisi, bakterilerin farklı özellik gösteren hücre zarlarıyla alakalıdır (Tyagi vd., 2015). Kurkuminin benzer şekilde *E. coli* kolonilerinin büyümesine karşı oldukça etkili olduğu ancak aynı etkiyi *S. aureus* kolonilerinin büyümesine karşı gösteremediği, kurkumin zein ve glukomannan nanoliflerinin içerisine eklendiğinde gözlemlenmiştir (Wang vd., 2019).

Kurkuminin gram negatif ve gram pozitif bakterilerin koloni büyümelerine karşı gösterdiği antimikrobiyal etki farkı bakterilerin hücre duvarı farklılıkları ile açıklanabilir (Bhawana vd., 2011). Bir diğer sebep kurkuminin iki farklı katı besiyerindeki farklı difüzyon hızlarıyla açıklanabilir (Suppakul vd., 2003). Literatürde kurkumine karşı gözlemlenen farklılıkların bakterilerin farklı dirençte olan suşlarının kullanımdan da kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir.

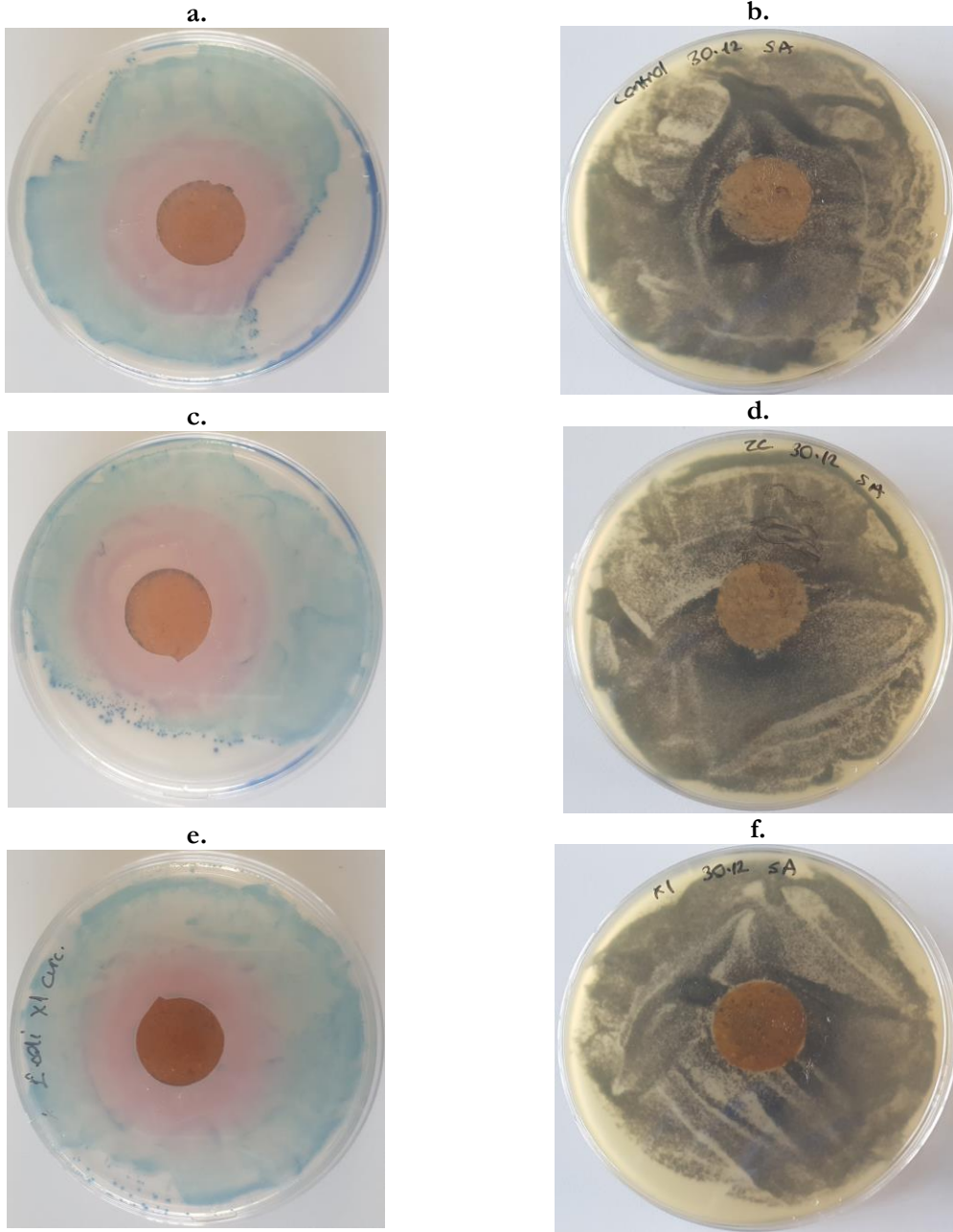
Filmlerden Kurkumin Salınım Testleri

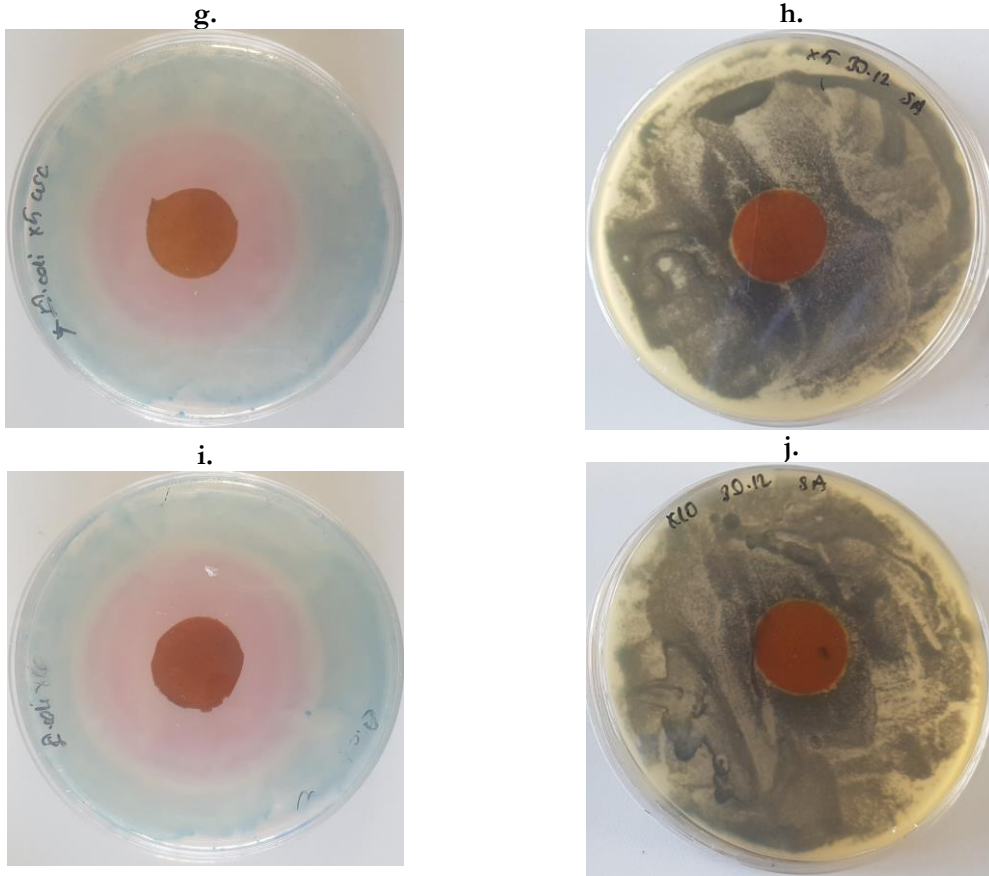
Çalışmanın en önemli çıktılarından bir tanesi kurkuminin zamanla aktif paket malzemesi içerisinden salınarak paket içerisindeki gıdayı korumasıdır. Bu nedenle 5 farklı uyarıcı içerisinde salınım testleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 6). Tip 3 kitin filmlerinin kurkuminin salınım analizlerinde genel eğilim ilk hızlı bir salınım sonrasında yavaşlayarak salınımın dengeye ulaştığı görülmüştür. Benzer sonuçlar kurkumin tara gum

Kurkumin yüklenmiş zeolitik imidazolat çerçeve-8 ile aktif film geliştirilmesi

ve polivinil alkol filmleri ile peynir altı proteini isolatlarından elde edilen filmler içerisine eklendiğinde elde edilmiştir (Ma vd., 2017; Kevij vd.,2020). K-ZİF-8 konsantrasyonu ile beraber kurkumin konsantrasyonu kitin filmler içinde arttıkça kurkumin salınım hızı artmıştır (Guo vd. 2011). Uyarıcılar içerisinde en yüksek salınım uyarıcı D2 sonrasında uyarıcı D1’de gözlemlenmiştir. Kurkuminin oleik asit içerisinde

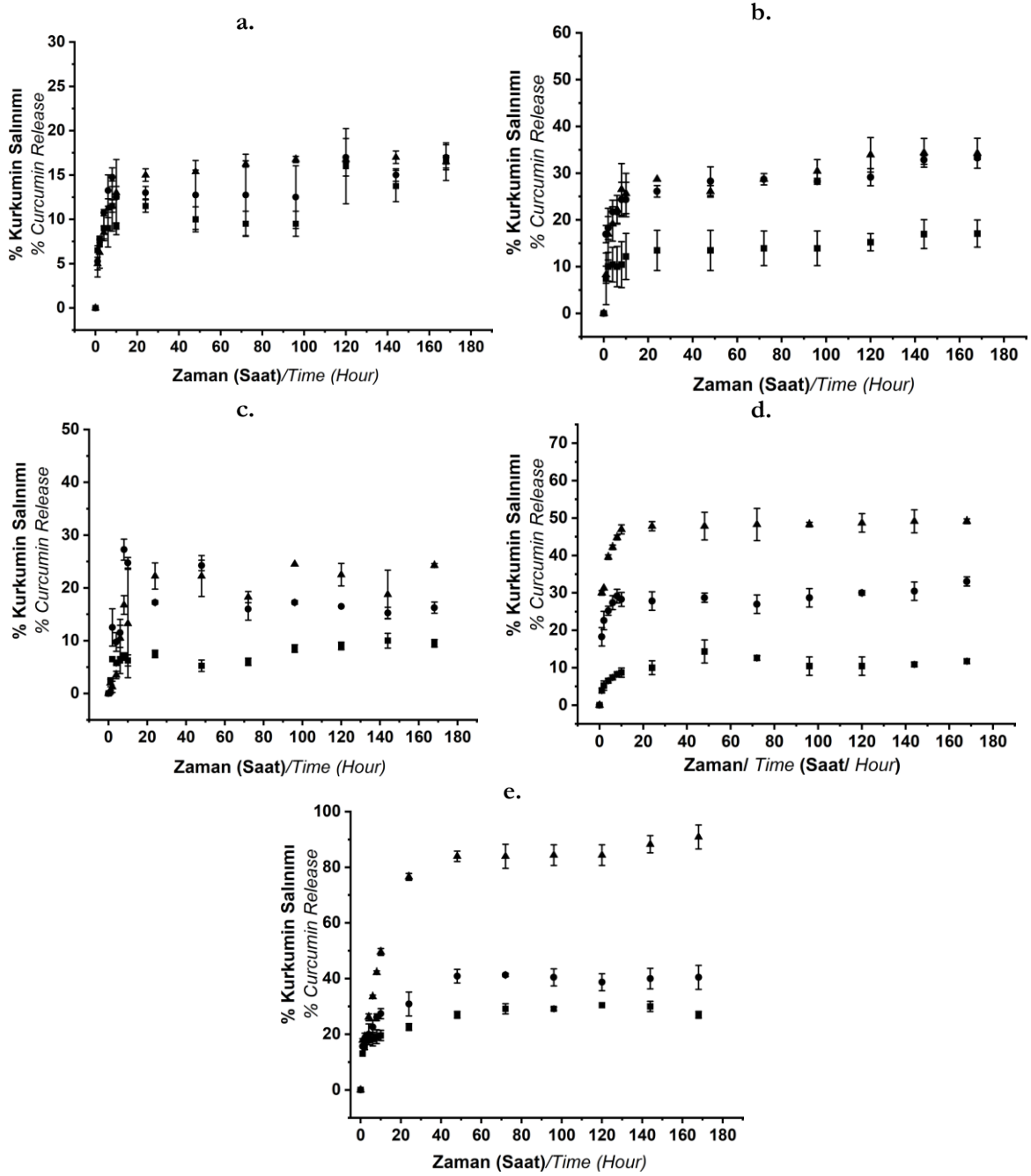
gözlemlenen yüksek salınımı kurkuminin yapısal olarak yağ sever olmasından kaynaklanmaktadır (Kevij vd.,2020). Benzer şekilde etanol içerisinde çözünürlüğü yüksek olan kurkumin %50’lik etanol olan uyarıcı D1 içerisinde de oldukça yüksek bir salınım göstermiştir (Ramos vd., 2014). Özetle tip 3 filmler içerisinde kurkumin test edilen uyarıcılar içerisinde belirli ölçülerde salınım göstermiştir.





Şekil 5. Antimikrobiyal testleri disk difüzyon metodu ile tip 1 kitin nanokompozit filmleri için (a) *E. coli* ve (b) *S. Aureus* bakterilerine karşı, tip 2 kitin nanokompozit filmleri için (c) *E.coli* ve (d) *S. aureus* bakterilerine karşı, 1xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin film için (e) *E.coli* ve (f) *S. aureus* bakterilerine karşı, 5xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin film için (g) *E. coli* ve (h) *S. aureus* bakterilerine karşı, 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin film için (i) *E. coli* ve (j) *S. aureus* bakterilerine karşı gösterilmiştir.

Figure 5. Antimicrobial tests with disc diffusion method for type 1 chitin nanocomposite films against (a) *E. coli* and (b) *S. aureus* bacteria, for type 2 chitin nanocomposite films against (c) *E. coli* and (d) *S. aureus* bacteria, for 1xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded type 3 chitin film against (e) *E. coli* and (f) *S. aureus* bacteria, for 5xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded type 3 chitin film against (g) *E. coli* and (h) *S. aureus* bacteria, for 10xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded type 3 chitin film against (i) *E. coli* and (j) *S. aureus* bacteria were illustrated.



Şekil 6. Farklı uyarıcılar içerisinde tip 3 kitin filmlerin % kurkumin salınımı (a) uyarıcı A içerisinde, (b) uyarıcı B içerisinde, (c) uyarıcı C içerisinde, (d) uyarıcı D1 içerisinde, (e) uyarıcı D2 içerisinde.

■ Tip 3 Kitin Film 1XMÖK K-ZİF-8 ile, ● Tip 3 Kitin Film 5XMÖK K-ZİF-8 ile, ▲ Tip 3 Kitin Film 10XMÖK K-ZİF-8 ile

Figure 6. In different stimulants, % curcumin release for type 3 chitin films (a) in stimulant A, (b) in stimulant B, (c) in stimulant C, (d) in stimulant D1, (e) in stimulant D2.

■ Type3 chitin film with 1XMIC K-ZIF-8, ● Type3 chitin film with 5XMIC K-ZIF-8, ▲ Type3 chitin film with 10XMIC K-ZIF-8

Film Dayanıklılık Testleri

Gerçekleştirilen karakterizasyon testlerinde en iyi performansı gösteren kitin nanokompozit filmin, tüm yapılan analizler değerlendirildiğinde en yüksek K-ZİF-8 konsantrasyonlu 10xMÖK kurkumin yüklenmiş tip 3 kitin film olduğu sonucu çıkarılmıştır. Dayanıklılık testinde paketlenme sonrası ya da paket malzemenin depolanması sırasında antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinde meydana gelebilecek değişimler 28 gün boyunca gözlemlenmiştir. Filmlerin ilk günden başlayarak dört hafta boyunca haftalık antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerindeki değişim Çizelge 5’de listelenmiştir. İlk 14 günlük süreçte 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin filmlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinde önemli bir değişim olmamıştır. Genel olarak her iki aktivitede düşüş eğilimi görülmüş ve bu düşüş eğilimi 21 günden sonra daha belirgin hale gelmiştir. Mevcut çalışmada söz konusu aktivite değişiminin kurkumin kaynaklı olabileceği

düşünülmektedir. Literatürde kurkumin ihtiva eden filmlerin depolama kararlılıklarındaki değişim genel olarak renk değişim değerlerindeki (ΔE) değişim incelenerek karar verilmiştir (Zhang vd., 2021; Yuan vd., 2022). Her ne kadar kullanılan metotlar farklı olsa da kurkuminin ZİF-8 ve mantar film içerisine hapsedildiğinde gösterdiği kararlılık literatürle benzerlik göstermektedir. Kurkumin antioksidan özellikli polifenolik bir bileşiktir. Bu nedenle uzun süre oksijen ve yüksek ısıya maruz bırakıldığında kararlılığında ve aktivitesinde değişimler yaşanabilmekte ve uzun süreli kullanımlar için biyoyumlu malzemelerin içerisine kapsüllenmeye gerek duymaktadır (Condat vd., 2015). Çalışmamızda yaşanan aktivite kaybının büyük oranda kurkuminin film içerisinde ısıdan ziyade oksijenle etkileşimi sonucu yaşandığı düşünülmektedir. Sonuç olarak 28 gün sonunda antioksidan ve antimikrobiyal aktivite kaybı gözlenmiş olmasına rağmen filmlerde hala anlamlı miktarda aktivite mevcuttur.

Çizelge 5. 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin filmlerin haftalık antioksidan ve antimikrobiyal aktivite değişimleri

Gün Day	% DPPH serbest radikal giderme aktivitesi %DPPH free radical scavenging activity	<i>E. coli</i> için kolonizasyon bölgesi (cm) Inhibition zone for <i>E. coli</i> (cm)
0	19.81±0.728 ^a	5.67±0.212 ^a
7	19.60±0.198 ^a	5.48±0.071 ^a
14	18.21±0.325 ^{ab}	5.22±0.141 ^{ab}
21	17.84±0.255 ^b	4.83±0.071 ^b
28	17.31±0.381 ^b	4.60±0.085 ^b

*Aynı sırada farklı harfler önemli farklılığı gösterir ($P < 0.05$).

* Different letters in the same column show the significance ($P < 0.05$).

SONUÇ

K-ZİF-8 konsantrasyonunun kitin filmlerin mekanik, bariyer ve optik özelliklerine etkisi incelendiğinde filmlerin biyoaktif özelliklerine etki ettiği kadar belirgin bir etkinin gözlemlenemediği sonucuna varılmıştır. Bunun nedeni kitin nanoliften yüksek nanokompozit filmlerin tek başına dahi üstün özellik göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca ZİF-8 nanokristallerinin mekanik ve bariyer özelliklerini önemli ölçüde arttırdığı çalışmalarda çok daha yüksek ZİF-8 konsantrasyonunun kompozit yapının içerisine eklendiği görülmüştür. Yine aynı

nedenden dolayı, K-ZİF-8 eklemenin kitin filmlerin termal ve morfolojik özelliklerinde çok büyük bir değişime sebebiyet vermediği düşünülmektedir. Filmlerin kurkumin salınım testlerinde beklendiği gibi hidrofobik bir bileşik olan kurkumin, en çok zeytinyağında salınım göstermiştir. Filmlerin antimikrobiyal test sonuçları kültür mantarından özütlenen kitin tabanlı nanokompozit filmlerin tek başına dahi gram negatif *E.coli* bakteri kolonilerine karşı etkili olduğunu göstermiştir. Ancak aynı seviyede etki gram pozitif *S.aureus* kolonilerinde gözlemlenememiştir. Aynı şekilde, görünür ışığın

koloni oluşumunu engellemekle ilgili olarak herhangi bir olumlu etkisi olmamıştır. Işıksız inkübasyonda en yüksek antimikrobiyal etki 10XMÖK değerinde K-ZİF içeren filmde elde edilmiştir. Benzer bir eğilim toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktive analizlerinde de gösterilmiştir. K-ZİF-8 miktarı arttıkça artan biyoaktif aktivite kurkuminin antioksidan özellikli bir polifenolik birleşik olmasına bağlanmıştır. Filmlerin biyoaktif ve fizikokimyasal özellikleri belirlenip karşılaştırıldığında en yüksek performansı 10XMÖK değerinde K-ZİF-8 içeren kitin filmlerin sahip olduğuna karar verilmiştir. 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin filmlerin 4°C'de %75 bağıl nem ile koşullandırılmış görünür ışık altındaki ortamda 14 günlük saklama boyunca aktivitesinde önemli bir değişim olmazken 21 günden sonra belirgin bir aktivite kaybı meydana gelmiştir. Bu sonuçtan yola çıkarak geliştirilen malzemenin uzun süre depolamaya çok uygun olmadığı üretildikten hemen sonra aktif malzeme olarak kullanıma daha uygun olduğu kanaatine varılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makalede yazarların başka kişiler ya da kurumlarla çıkar çatışmaları bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Bu çalışma Leyla Nesrin Kahyaoğlu tarafından tasarlanmış ve yürütülmüştür. Analizler Ecem Kaya tarafından gerçekleştirilmiştir. Makale Leyla Nesrin Kahyaoğlu tarafından yazılmıştır.

TEŞEKKÜR

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na bu çalışmayı TÜBİTAK 120O886 nolu proje ile maddi olarak desteklediği için teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

ASTM. (2005). Standard test method for water vapor transmission of materials (E 96- 05). Philadelphia, PA, USA.

ASTM. (2009). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting (D 882-09). Philadelphia, PA, USA.

Adilah, A. N., Jamilah, B., Noranizan, M. A., & Hanani, Z. A. N. (2018). Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 1–7. <http://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.01.006>

Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807–818. <http://doi.org/10.1021/mp700113r>

Aziz, S. B., Abdullah, O. G., Brza, M. A., Azawy, A. K., & Tahir, D. A. (2019). Effect of carbon nano-dots (CNDs) on structural and optical properties of PMMA polymer composite. *Results in Physics*, 15. <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2019.102776>

Bajpai, S. K., Chand, N., & Ahuja, S. (2015). Investigation of curcumin release from chitosan/cellulose micro crystals (CMC) antimicrobial films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.05.012>

Bernd, A. (2014). Visible light and/or UVA offer a strong amplification of the anti-tumor effect of curcumin. *Phytochemistry Reviews*, 13(1), 183–189. <http://doi.org/10.1007/s11101-013-9296-2>

Bershtein, V. A., Egorov, V. M., Egorova, L. M., & Ryzhov, V. A. (1994). The role of thermal analysis in revealing the common molecular nature of transitions in polymers. *Thermochimica Acta*, 238(C). [https://doi.org/10.1016/S0040-6031\(94\)85206-5](https://doi.org/10.1016/S0040-6031(94)85206-5)

Bhawana, Basniwal, R. K., Buttar, H. S., Jain, V. K., & Jain, N. (2011). Curcumin nanoparticles: Preparation, characterization, and antimicrobial study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(5). <https://doi.org/10.1021/jf104402t>

Cai, Y., Guan, J., Wang, W., Wang, L., Su, J., & Fang, L. (2021). pH and light-responsive polycaprolactone/curcumin@zif-8 composite films with enhanced antibacterial activity. *Journal of Food Science*, 86(8). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15839>

Cano, A., Cháfer, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2016). Development and

- characterization of active films based on starch-PVA, containing silver nanoparticles. *Food Packaging and Shelf Life*, 10, 16–24. <http://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.07.002>
- Chen, J., Zhang, X., Huang, C., Cai, H., Hu, S., Wan, Q., vd. (2017). Osteogenic activity and antibacterial effect of porous titanium modified with metal-organic framework films. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 105(3), 834–846. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.35960>
- Condat, M., Mazeran, P. E., Malval, J. P., Lalevée, J., Morlet-Savary, F., Renard, E., vd. (2015). Photoinduced curcumin derivative-coatings with antibacterial properties. *RSC Advances*, 5(104), 85214–85224. <http://doi.org/10.1039/C5RA19499G>
- Devarayan, K., & Kim, B.-S. (2015). Reversible and universal pH sensing cellulose nanofibers for health monitor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 209, 281–286. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.120>
- Dujic, J., Kippenberger, S., Hoffmann, S., Ramirez-Bosca, A., Miquel, J., Diaz-Alperi, J., vd. (2007). Low Concentrations of Curcumin Induce Growth Arrest and Apoptosis in Skin Keratinocytes Only in Combination with UVA or Visible Light. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(8), 1992–2000. <http://doi.org/10.1038/sj.jid.5700801>
- European Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food.
- Fazli WAn Nawawi, W. M., Lee, K.-Y., Kontturi, E., Murphy, R. J., & Bismarck, A. (2019). Chitin Nanopaper from Mushroom Extract: Natural Composite of Nanofibers and Glucan from a Single Biobased Source. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(7), 6492–6496. <http://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b00721>
- Fu D., Ding Y., Guo R. vd. (2022) Polylactic acid/polyvinyl alcohol-quaternary ammonium chitosan double-layer films doped with novel antimicrobial agent CuO@ZIF-8 NPs for fruit preservation, *International Journal of Biological Macromolecules*, 195:538-46. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.022>
- Gan, I., & Chow, W. S. (2018). Antimicrobial poly(lactic acid)/cellulose bionanocomposite for food packaging application: A review. *Food Packaging and Shelf Life*, 17, 150–161. <http://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.06.012>
- Gontard, N., Duchez, C., Cuq, J. L., & Guilbert, S. (1994). Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 29(1), 39–50. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb02045.x>
- Gortari M.C., Hours R.A. (2013) Biotechnological processes for chitin recovery out of crustacean waste: a mini-review, *Electronic Journal of Biotechnology*, 16 (3), 14. <http://dx.doi.org/10.2225/vol16-issue3-fulltext-10>
- Gunes, H., Gulen, D., Mutlu, R., Gumus, A., Tas, T., & Topkaya, A. E. (2013). Antibacterial effects of curcumin: An *in vitro* minimum inhibitory concentration study. *Toxicology and Industrial Health*, 32(2), 246–250. <https://doi.org/10.1177/0748233713498458>
- Guo G., Fu S., Zhou L. Vd. (2011) Preparation of curcumin loaded poly(ε-caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ε-caprolactone) nanofibers and their *in vitro* antitumor activity against Glioma 9L cells, *Nanoscale*, 3, 3825-32. <https://doi.org/10.1039/C1NR10484E>
- Hafsa, J., Smach, M. A., Ben Khedher, M. R., Charfeddine, B., Limem, K., Majdoub, H., & Rouatbi, S. (2016). Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 356–364. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.050>
- Hai L., E.S. Choi, L. Zhai, P.S. Panicker, J. Kim (2020) Green nanocomposite made with chitin and bamboo nanofibers and its mechanical, thermal and biodegradable properties for food packaging, *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 491-499. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.124>

- Han, J. H., & Floros, J. D. (1997). Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 13(4). <https://doi.org/10.1177/875608799701300405>
- Hewlings, S. J., & Kalman, D. S. (2017). Curcumin: A Review of Its' Effects on Human Health. *Foods*, 6(10), 92. <http://doi.org/10.3390/foods6100092>
- Hoop, M., Walde, C. F., Riccò, R., Mushtaq, F., Terzopoulou, A., Chen, X. Z., vd. (2018). Biocompatibility characteristics of the metal organic framework ZIF-8 for therapeutical applications. *Applied Materials Today*, 11, 13–21. <http://doi.org/10.1016/j.apmt.2017.12.014>
- Huang, D., Xin, Q., Ni, Y., Shuai, Y., Wang, S., Li, Y., Ye, H., Lin, L., Ding, X., & Zhang, Y. (2018). Synergistic effects of zeolite imidazole framework@graphene oxide composites in humidified mixed matrix membranes on CO₂ separation. *RSC Advances*, 8(11). <https://doi.org/10.1039/c7ra09794h>
- Ifuku S., Nogi M., Abe K., Yoshioka M., Morimoto M., Saimoto H., Yano H. (2009) Preparation of chitin nanofibers with a uniform width as α -chitin from crab shells. *Biomacromolecules*, 10 (6), 1584-1588. <https://doi.org/10.1021/bm900163d>
- Ifuku S. (2014) Chitin and Chitosan Nanofibers: Preparation and Chemical Modifications, *Molecules*, 19, 18367-18380. <https://doi.org/10.3390/molecules191118367>.
- Ifuku, S., & Saimoto, H. (2012). Chitin nanofibers: preparations, modifications, and applications. *Nanoscale*, 4(11), 3308–3318. <http://doi.org/10.1039/c2nr30383c>.
- Karimi Alavijeh, R., Beheshti, S., Akhbari, K., & Morsali, A. (2018). Investigation of reasons for metal–organic framework's antibacterial activities. *Polyhedron*, 156, 257–278. <http://doi.org/10.1016/j.poly.2018.09.028>
- Kaur, S., & Dhillon, G. S. (2015). Recent trends in biological extraction of chitin from marine shell wastes: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(1), 44–61. <http://doi.org/10.3109/07388551.2013.798256>
- Kevij H.T., Salami M., Mohammadian M., Khodadi M. (2020) Fabrication and investigation of physicochemical, food simulant release, and antioxidant properties of whey protein isolate-based films activated by loading with curcumin through the pH-driven method, *Food Hydrocolloids*, 108, 106026. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106026>
- Knowles, T. P. J., Oppenheim, T. W., Buell, A. K., Chirgadze, D. Y., & Welland, M. E. (2010). Nanostructured films from hierarchical self-assembly of amyloidogenic proteins. *Nature Nanotechnology*, 5(3), 204–207. <http://doi.org/10.1038/nnano.2010.26>
- Ko, J. H., Yin, H., An, J., Chung, D. J., Kim, J. H., Lee, S. B., & Pyun, D. G. (2010). Characterization of cross-linked gelatin nanofibers through electrospinning. *Macromolecular Research*, 18(2), 137–143. <http://doi.org/10.1007/s13233-009-0103-2>
- Kohsari, I., Shariatnia, Z., & Pourmortazavi, S. M. (2016). Antibacterial electrospun chitosan-polyethylene oxide nanocomposite mats containing ZIF-8 nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.039>
- Kolev, T. M., Velcheva, E. A., Stamboliyska, B. A., & Spiteller, M. (2005). DFT and experimental studies of the structure and vibrational spectra of curcumin. *International Journal of Quantum Chemistry*, 102(6). <https://doi.org/10.1002/qua.20469>
- Kontturi, E., Laaksonen, P., Linder, M. B., Nonappa, Groechel, A. H., Rojas, O. J., & Ikkala, O. (2018). Advanced Materials through Assembly of Nanocelluloses. *Advanced Materials*, 30(24). <http://doi.org/10.1002/adma.201703779>
- Lee, J., Farha, O. K., Roberts, J., Scheidt, K. A., Nguyen, S. T., & Hupp, J. T. (2009). Metal–organic framework materials as catalysts. *Chemical Society Reviews*, 38(5), 1450–1459. <http://doi.org/10.1039/B807080F>
- Li, M. C., Wu, Q., Song, K., Cheng, H. N., Suzuki, S., & Lei, T. (2016). Chitin Nanofibers as

- Reinforcing and Antimicrobial Agents in Carboxymethyl Cellulose Films: Influence of Partial Deacetylation. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 4(8). <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b00981>
- Liu, J., Wang, H., Wang, P., Guo, M., Jiang, S., Li, X., & Jiang, S. (2018). Films based on κ -carrageenan incorporated with curcumin for freshness monitoring. *Food Hydrocolloids*, 83, 134–142. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.012>
- Liu, X. F., Guan, Y. L., Yang, D. Z., Li, Z., & Yao, K. De. (2001). Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*, 79(7), 1324–35. [https://doi.org/10.1002/1097-4628\(20010214\)79:7<1324::AID-APP210>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/1097-4628(20010214)79:7<1324::AID-APP210>3.0.CO;2-L)
- Ma Q., Ren Y., Wang L. (2017) Investigation of antioxidant activity and release kinetics of curcumin from tara gum/polyvinyl alcohol active film, *Food Hydrocolloids*, 70, 286–92. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.04.018>
- Musso Y.S., Salgado P.R., Mauri A.N. (2017) Smart edible films based on gelatin and curcumin, *Food Hydrocolloids*, 66, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.007>
- Nam, Y. S., Park, W. H., Ihm, D., & Hudson, S. M. (2010). Effect of the degree of deacetylation on the thermal decomposition of chitin and chitosan nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 80(1). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.11.030>
- Nguyen, T. T. T., Nguyen, L. H. T., Mai, N. X. D., Ta, H. K. T., Nguyen, T. L. T., Le, U. C. N., Phan, B. T., Doan, N. N., & Doan, T. L. H. (2021). Mild and large-scale synthesis of nanoscale metal-organic framework used as a potential adenine-based drug nanocarrier. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102135>
- Pan, Y., Liu, Y., Zeng, G., Zhao, L., & Lai, Z. (2011). Rapid synthesis of zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8) nanocrystals in an aqueous system. *Chemical Communications*, 47(7). <https://doi.org/10.1039/c0cc05002d>
- Papineau, A. M., Hoover, D. G., Knorr, D., & Farkas, D. F. (1991). Antimicrobial effect of water-soluble chitosans with high hydrostatic pressure. *Food Biotechnology*, 5(1). <https://doi.org/10.1080/08905439109549790>
- Park, K. S., Ni, Z., Côté, A. P., Choi, J. Y., Huang, R., Uribe-Romo, F. J., Chae, H. K., O’Keeffe, M., & Yaghi, O. M. (2006). Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(27). <https://doi.org/10.1073/pnas.0602439103>
- Oliveira, E. F., Tosati, J. V., Tikekar, R. V., Monteiro, A. R., & Nitin, N. (2018). Antimicrobial activity of curcumin in combination with light against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria innocua*: Applications for fresh produce sanitation. *Postharvest Biology and Technology*, 137, 86–94. <http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.014>
- Qian, L., Lei, D., Duan, X., Zhang, S., Song, W., Hou, C., & Tang, R. (2018). Design and preparation of metal-organic framework papers with enhanced mechanical properties and good antibacterial capacity. *Carbohydrate Polymers*, 192. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.049>
- Qiu, S., Xue, M., & Zhu, G. (2014). Metal-organic framework membranes: from synthesis to separation application. *Chemical Society Reviews*, 43(16), 6116–6140. <http://doi.org/10.1039/C4CS00159A>
- Ramos M., Beltran A., Peltzer M., Valente A.J., del Carmen Garrigos M. (2014) Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films, *LWT-Food Science and Technology*, 58, 470–477. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.019>
- Reis F.S., Martins A., Barros L., Ferreira I.C.F.R (2012) Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: A comparative study between in vivo and in vitro samples, *Food and Chemical Toxicology*, 50:5, 1201–1207. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.013>
- Riaz Rajoka, M. S., Mehwish, H. M., Wu, Y., Zhao, L., Arfat, Y., Majeed, K., & Anwaar, S.

- (2020). Chitin/chitosan derivatives and their interactions with microorganisms: a comprehensive review and future perspectives. In *Critical Reviews in Biotechnology* (Vol. 40, Issue 3). <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1713719>
- Roy, S., Rhim, J. W. (2020). Preparation of bioactive functional poly(lactic acid)/curcumin composite film for food packaging application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.094>
- Salame, M., & Steingiser, S. (1977). Barrier polymers. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 8(2). <https://doi.org/10.1080/03602557708545034>
- Saravana, P. S., Ho, T. C., Chae, S. J., Cho, Y. J., Park, J. S., Lee, H. J., & Chun, B. S. (2018). Deep eutectic solvent-based extraction and fabrication of chitin films from crustacean waste. *Carbohydrate Polymers*, 195. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.05.018>
- Savoie, J.-M.; Minvielle, N.; Largeteau, M. Radical-scavenging properties of extracts from the white button mushroom, *Agaricus bisporus*. *J. Sci. Food Agric.* 2008, 88, 970–975. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3175>
- Siripatrawan, U., & Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 770–775. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.04.003>
- Smaldone, R. A., Forgan, R. S., Furukawa, H., Gassensmith, J. J., Slawin, A. M. Z., Yaghi, O. M., & Stoddart, J. F. (2010). Metal–Organic Frameworks from Edible Natural Products. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(46), 8630–8634. <http://doi.org/10.1002/anie.201002343>
- Sommer I., Schwartz H., Solar S., Sontag G. (2009) Effect of γ -Irradiation on Agaritine, γ -Glutaminyl4-hydroxybenzene (GHB), Antioxidant Capacity, and Total Phenolic Content of Mushrooms (*Agaricus bisporus*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 5790–94. <https://doi.org/10.1021/jf900993h>
- Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., & Bigger, S. W. (2003). Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. *Journal of Food Science*, 68:2. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05687.x>
- Tiwari, A., Singh, A., Garg, N., & Randhawa, J. K. (2017). Curcumin encapsulated zeolitic imidazolate frameworks as stimuli responsive drug delivery system and their interaction with biomimetic environment. *Scientific Reports*, 7(1), 12598–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12786-6>
- Tyagi, P., Singh, M., Kumari, H., Kumari, A., & Mukhopadhyay, K. (2015). Bactericidal activity of curcumin I is associated with damaging of bacterial membrane. *PLoS ONE*, 10(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121313>
- Valentini, L., Bon, S. B., & Pugno, N. M. (2018). Combining Living Microorganisms with Regenerated Silk Provides Nanofibril-Based Thin Films with Heat-Responsive Wrinkled States for Smart Food Packaging. *Nanomaterials*, 8(7). <http://doi.org/10.3390/nano8070518>
- Vidal O.L., Tsukui A., Garrett R. vd. (2020) Production of bioactive films of carboxymethyl cellulose enriched with green coffee oil and its residues, *International Journal of Biological Macromolecules*, 146, 730-38. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.123>
- Wang, L., Mu, R. J., Li, Y., Lin, L., Lin, Z., & Pang, J. (2019). Characterization and antibacterial activity evaluation of curcumin loaded konjac glucomannan and zein nanofibril films. *LWT-Food Science and Technology*, 113. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108293>
- Yang, Y., Zan, J., Yang, W., Qi, F., He, C., Huang, S., vd. (2020). Metal organic frameworks as a compatible reinforcement in a biopolymer bone scaffold. *Materials Chemistry Frontiers*, 4(3), 973–984. <http://doi.org/10.1039/C9QM00772E>
- Yildirim, S., Röcker, B., Pettersen, M. K., Nygaard, J. N., Ayhan, Z., Rutkaite, R., vd. (2018). Active Packaging Applications for Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*,

17(1), 165–199. <http://doi.org/10.1111/1541-4337.12322>

Yuan, Y., Zhang, S., Ma, M., Wang, D., & Xu, Y. (2022). Encapsulation and delivery of curcumin in cellulose nanocrystals nanoparticles using pH-driven method. *LWT-Food Science and Technology*, 155. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112863>

Zhang, J., Huang, X., Zou, X., Shi, J., Zhai, X., Liu, L., Li, Z., Holmes, M., Gong, Y., Povey, M., & Xiao, J. (2021). A visual indicator based on curcumin with high stability for monitoring the freshness of freshwater shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Food Engineering*, 292. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110290>

Zhang, Y., Jia, Y., Li, M., & Hou, L. (2018). Influence of the 2-methylimidazole/zinc nitrate hexahydrate molar ratio on the synthesis of zeolitic imidazolate framework-8 crystals at room temperature. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28015-7>

Zheng, M., Liu, S., Guan, X., & Xie, Z. (2015). One-Step Synthesis of Nanoscale Zeolitic Imidazolate Frameworks with High Curcumin Loading for Treatment of Cervical Cancer. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(40), 22181–22187. <http://doi.org/10.1021/acsami.5b04315>

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Aktaş, N. *Moisture adsorption isotherms and adsorption isosteric heat of dry ground meat / Kuru kıymanın nem adsorpsiyon izotermi ve adsorpsiyon izosterik ısısı*..... 717-728
- Gün, İ., Güzel-Seydim, Z.B. *The characteristic of goat skins used in the production of Tulum cheese and changes in ripening environments /Tulum peyniri üretiminde kullanılan keçi derilerinin karakteristikleri ve olgunlaştırma ortamlarındaki değişimler*729-743
- Üstün, H., Doğan, A. (2022). *The effect of different UV-C illumination doses on postharvest quality of fresh fig / Farklı dozlarda UV-C ışın uygulamalarının taze incir in hasat sonrası kalitesi üzerine etkileri*.....744-753
- Dağ, Ç., Göçenler, O., Tozokparan, C.D. *The analysis of metabolic content of traditional milk collected from three regions in Turkey by NMR spectroscopy / Türkiye'de üç bölgeden toplanan geleneksel sütlerin metabolik içeriğinin NMR spektroskopisi ile analizi*765-775
- Yılmaz, M., Yucetepe, A. (2022). *Investigation of changes in antioxidant activity and protein digestibility of wheat breads including Spirulina platensis and protein extracts from Spirulina platensis during in vitro digestion / Spirulina platensis ve Spirulina platensis'den protein ekstraktları içeren buğday ekmeğinin in vitro sindirim sırasında antioksidan aktivite ve protein sindirilebilirliğindeki değişimin araştırılması*.....776-789
- Alp, D., Kuleşan, H. (2022). *Some characteristics of Turkish-style fermented garlic pickles produced using four different potentially probiotic starter cultures / Dört farklı potansiyel probiyotik kültür kullanılarak üretilen Türk tipi sarımsak turşularının bazı özellikleri*790-803
- Bjelak, A., Sürmeli, Y., Sezer, B., Velioglu, H.M., Boyacı, İ.H. *Investigating the effects of salt, phosphate and pH on functional properties of beef myofibrillar proteins / Dana eti miyofibriller proteinlerinin fonksiyonel özellikleri üzerine tuz, fosfat ve pH'nin etkilerinin araştırılması*.....846-859

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Türkmen-Erol, N. *Kestane kabuğundan elde edilen polifenollerin biyoerişilebilirliği ve erişte formülasyonunda kullanımı / Bioaccessibility of polyphenols from chestnut peel and their use in noodle formulation*.....754-764
- Apaydın, D. *Trakya yöresi ballarının mineral içeriği ve bazı tipik kalite parametreleri açısından değerlendirilmesi / Assessment of Thrace region honeys in terms of mineral content and some typical quality parameters*.....804-819
- Yüce, Ü.R. *Işınlanmış çörekotu ve haşhaş örneklerinin OSL tekniği ile tespiti / Detection of irradiated black seed and poppy samples by OSL technique*820-830
- Öztürk, N. *Yenilebilir mantar konulu makalelerin bibliyometrik analizi / Bibliometric analysis of articles on edible mushroom*831-845
- Aykın-Dinçer, E., Dinçer, C. *Vakumlu emdirim ile renkli fonksiyonel tavuk eti küplerinin üretilmesi / Production of colored functional chicken meat cubes by vacuum impregnation*.....860-873
- Gül, O., Açıkgöz, N., Gül, L.B. *Ultrases destekli ozmotik dehidrasyon ön işleminin balkabağı (Cucurbita moschata) kurutma kinetiği ve bazı fonksiyonel özellikleri üzerine etkisi / Effect of ultrasound assisted osmotic dehydration pre-treatment on drying kinetics and some functional properties of pumpkin (Cucurbita moschata)*.....874-888
- Yavuz-Küçük, A., Duraklı-Velioglu, S. *"Keçiboynuzu Özü" adı altında satışı sunulan ürünün bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve keçiboynuzu pekmezi ile karşılaştırılması / Determining some chemical properties of the product marketed under the name of "Carob Extract" and comparison with carob pekmez ...* 889-903
- Coşgun, G., Torun, M. *Depolama sıcaklığının Türk kahvesinin kafein, klorojenik asit ve yağ asidi kompozisyonu üzerine etkisi / The effect of storage temperature on caffeine, chlorogenic acid and fatty acid composition of Turkish coffee*.....904-915
- Kaya, E., Kahyaoglu, L.N. *Kurkumin yüklenmiş zeolitik imidazolat çerçeve-8 ile gıda paketeleme uygulamaları için aktif film geliştirilmesi / Development of active film for food packaging applications with curcumin-loaded zeolitic imidazolate framework-8*.....916-940