

ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL

AKADEMİK

**GIDA**



Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida> Cilt/Volume: 20 Sayı/Number: 4 Ekim - Aralık 2022

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

**SİDAS MEDYA**

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

---

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

---

**Baş Editör / Editor-in-Chief**

**Oğuz Gürsoy**

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



[ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com)

---

**Yardımcı Editörler / Associate Editors**

**Özer Kınık**

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



[ozek.kinik@ege.edu.tr](mailto:ozek.kinik@ege.edu.tr)

**Ramazan Gökçe**

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



[rgokce@pau.edu.tr](mailto:rgokce@pau.edu.tr)

**Yusuf Yılmaz**

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



[yusuf.yilmaz@mehmetakif.edu.tr](mailto:yusuf.yilmaz@mehmetakif.edu.tr)

---

**Teknik Editör / Technical Editor**

**Hande Özge Güler Dal**

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



[handeguler@mehmetakif.edu.tr](mailto:handeguler@mehmetakif.edu.tr)

---

**Uluslararası Yayın Kurulu / International Editorial Board**

**Gıda Mühendisliği / Food Engineering**

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

**Gıda Kimyası / Food Chemistry**

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

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

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

## Gıda Analizleri / Food Analysis

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

## Gıda Ambalajlama / Food Packaging

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

## Süt Teknolojisi / Dairy Technology

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

## Yağ Teknolojisi / Oil and Fat Technology

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

## Hububat Teknolojisi / Cereal Technology

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

## Et Teknolojisi / Meat Technology

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

## Meyve-Sebze Teknolojisi / Fruit and Vegetable Technology

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

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

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

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

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

Akademik Gıda 20 (4) (2022)  
**İÇİNDEKİLER / CONTENTS**

■ Editörden / Editorial

IV-V

■ **MAKALELER / PAPERS**

■ Araştırma Makaleleri / Research Papers

**Chemical Composition and Antioxidant Activity of Sea-Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.)**

**Grown in Issyk-Kul Region, Kyrgyz Republic** / Kırgız Cumhuriyeti Issyk-Kul Bölgesinde Yetişen Yalancı İğde (*Hippophae rhamnoides* L.) Meyvelerinin Kimyasal Kompozisyonu ve Antioksidan Aktivitesi / Aigul Usubalieva, Vildan Eyiz, Nurzat Totubaeva, Ismail Tontu

321-328

**Antioxidant Activity, Physico-Chemical and Fatty Acid Composition of Oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.)**

**Varieties Naturally Grown in Western Mediterranean Region of Turkey** / Batı Akdeniz Bölgesi'nde Doğal Olarak Yetişen İğde (*Elaeagnus angustifolia* L.) Çeşitlerinin Antioksidan Aktivitesi, Fiziko-Kimyasal Özellikleri ve Yağ Asidi Kompozisyonu / Rabia Fakı, Hale Seçilmiş Canbay, Oguz Gursoy, Yusuf Yilmaz

329-335

**Changes in Emulsifying Properties, Droplet Size, Turbidity and Lipid Oxidation of Pea Protein Nanoemulsions**

**Exposed to High-Intensity Ultrasound and High-Pressure Homogenization during Storage** / Yüksek Yoğunluklu Ultrason ve Yüksek Basıncılı Homojenizasyona Maruz Bırakılan Bezelye Proteinini Nanoemülsiyonlarının Depolanması Sırasında Emülsifiye Edici Özellik, Parçacık Boyutu, Bulanıklık ve Lipid Oksidasyonundaki Değişimler / Gulcin Yildiz

336-342

**Effect of Temperature and Packaging Method on Bioactive Compounds of Freeze-dried Red Beet Powder during**

**Storage** / Depolanma Sırasında Sıcaklık ve Paketleme Yönteminin Dondurarak Kurutulmuş Kırmızı Pancar Tozunun Biyoaktif Bileşenleri Üzerine Etkisi / Ozgur Aktok, Engin Demiray

343-349

**Amperometric Glucose Biosensor Prepared by Using Multi-Walled Carbon Nanotubes/Polythiophene Composite**

**Çok Duvarlı Karbon Nanotüpler/Politiyofen Kompozit Kullanılarak Hazırlanan Amperometrik Glikoz Biyosensörü** / Derya Kahraman, Songül Şen Gürsoy

350-357

**Hayvancılık İşletmesi ve Termal Kaynak Kökenli Toprak ve Su Örneklerinden Mikrobakteri İzolasyonu**

**ve İzolatların Antibakteriyel Aktivitesi** / Isolation, Identification and Antibacterial Activity of Myxobacteria in Soil and Water Samples from Livestock Farm and Thermal Source Origin / Neşecan Duman, Melike Baran Ekinci, Arzu Kart

358-364

**Nişasta Bazlı Köpük Tabakların Hidrofobik Malzemelerle Kaplanması** / Coating Starch-Based Foam Trays with

**Hydrophobic Materials** / Yunus Emre Kısaç, Mustafa Kemal Uslu

365-373

**Geleneksel Yöntem ile Üretilen Adıyaman Peynirinin Bazı Fizikokimyasal, Tekstürel ve Mikrobiyolojik Özellikleri** /

**Some Physicochemical, Textural and Microbiological Properties of Adıyaman Cheese Produced by Traditional Method** / Özge Gökçe, Damla Bayana, Ahmet Küçükçetin, Oğuz Gürsoy

374-385

**Atık Çay Ekstraktında Üretilen *Aspergillus niger* Misellerinden Elde Edilen Kitosanın Özellikleri** / Characteristics of

**Chitosan from *Aspergillus niger* Micelles Produced in Waste Tea Extract** / Rukiye Avcı, Arzu Çağrı Mehmetoğlu

386-397

**Toprak Kökenli Mikrobakteri İzolatlarından Alfa-Amilaz Enzimi Üretimi ve Saflaştırılması** / Alpha-Amylase Production

**and Purification from Myxobacteria Isolates of Soil Origin** / Melike Baran Ekinci, Aynur Gül Karahan Çakmakçı

398-403

■ Derleme Makaleler / Review Papers

**Siyah Sarımsak (*Allium sativum*) Üretimi: Üretim Sırasında Gerçekleşen Fiziksel ve Kimyasal Değişimler** /

**Black Garlic (*Allium sativum*) Production: Physical and Chemical Changes During Production** / Nursen Erol, Seda Ersus

404-411

**Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritler ve Terapötik Etkileri** / Exopolysaccharides Produced by

**Lactic Acid Bacteria and Their Therapeutic Effects** / Duygu Zehir Şentürk, Tülin Uçar, Ömer Şimşek

412-429

**Mikoproteinler: Geleneksel Et ve Et Ürünlerine Bir Alternatif** / Mycoproteins: An Alternative to Conventional Meat and

**Meat Products** / Orhan Kaya, Ali Kozlu, Öyküm Bahar Esen

430-441

**Üzümsü Meyvelerin Biyoaktif Bileşenleri ile İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri** / Bioactive Components of Berry Fruits and

**Their Effects on Human Health** / Hatice Merve Bayram, Arda Öztürkcan

442-453

**Elektronik Burun Metal Oksit Yarı İletken Sensörlerin Gıda Analizlerinde Kullanımı** / Use of Electronic Nose Metal

**Oxide Semiconductor Sensors in Food Analysis** / Yasemin İncegöl, Gülcan Özkan, Ali Can İncegöl, Kubilay Taşdelen

454-473

**Süt İşlemede Ultrason Kullanımı** / Use of Ultrasound in Dairy Processing / Cesur Mehenktaş

474-481

■ Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları / Guidelines to Authors

IX-XII

■ Etik Beyanı / Ethics and Publication Malpractice Statement

XIII-XVIII

**Sahibi**

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

**Genel Yayın Yönetmeni**

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

**Baş Editör**

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY  
ogursoy@yahoo.com

**Editörler**

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

**Reklam Müdürü**

Nurcan AKMAN ŞENGÖR

**Hukuk Danışmanı**

Av. Yrd. Doç. Dr. Murteza AYDEMİR

**Abone Sorumlusu**

Halil SOLAK

**Grafik Tasarım**

Sidas Medya Tasarım Grubu

**Yönetim Yeri**

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

Üç Ayda Bir Yayınlanan Dergimiz  
Basın Meslek İlkelerine Uymaktadır.

Yıl / Cilt: 20

Sayı: 98

Ekim - Kasım - Aralık 2022

ISSN Print 1304-7582

ISSN Online 2148-015X

Akademik Gıda Dergisi

Bir **SİDAS MEDYA** Yayınıdır.

GRUP

Yayın Türü: Yerel Süreli  
Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 20. yayın yılının son sayısında yine sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 10 araştırma ve 6 derleme çalışması olmak üzere toplam 16 makale yer almaktadır.

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

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

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

Daha fazla ulusal ve uluslararası veri tabanı ve indekste dizinlenmek ve derginin uluslararası düzeyde tanınırlığını arttırmak için çalışmalarımızı sürdürdüğümüzü zaman zaman sizlere iletmiştik. Bu çalışmalarımız sonucunda dergimizin 15 Şubat 2022 tarihi itibarıyla SCOPUS veri tabanına kabul edildiğini sizlerle paylaşmaktan mutluluk duyuyoruz ([https://www.elsevier.com/\\_\\_\\_data/assets/excel\\_doc/0015/91122/extlistJuly2022.xlsx](https://www.elsevier.com/___data/assets/excel_doc/0015/91122/extlistJuly2022.xlsx)).

Dergimizin 2022 yılı sayılarında yer alan makalelere SCOPUS veri tabanı üzerinden ulaşılabilir (Tüm makalelere erişim için Source Title kısmına "Akademik Gıda" yazılması gerekmektedir). Dergimizin kalitesini ve uluslararası alanda saygınlığını arttırabilmemiz için etki faktörünün yükseltilmesi başlıca hedeflerimiz arasındadır. Bu nedenle siz değerli bilim insanlarından gerek dergimize ve gerekse diğer ulusal ve uluslararası dergilere gönderdiğiniz makalelerde Akademik Gıda dergisinde yayımlanan makalelere mümkün olduğunca atıf yapmanızı tekrar rica ediyoruz.

Katkılarınızla dergimizin daha iyi noktalara geleceğine yürekten inanıyoruz. Bu sayının oluşmasında katkıda bulunan; çalışmalarını yayımlanmak üzere dergimize gönderen yazarlara ve bu çalışmaları titizlikle değerlendiren yayın kurulu üyelerimiz ve hakemlerimize teşekkürlerimizi sunuyoruz.

Saygılarımızla.

**Prof. Dr. Oğuz Gürsoy**  
Baş Editör

**Prof. Dr. Özer Kınık**  
**Prof. Dr. Ramazan Gökçe**  
**Prof. Dr. Yusuf Yılmaz**  
Editörler



**BİLİMSEL ETKİNLİKLER****Türkiye 14. Gıda Kongresi**

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

**7. Uluslararası Gıda Güvenliği Kongresi**

Ülkemizde ve bölgemizde ana teması sadece “gıda güvenliği” olan tek uluslararası kongre olma özelliğini taşıyan Gıda Güvenliği Kongresi'nin 7.'si Gıda Güvenliği Derneği tarafından 3-4 Kasım 2022 tarihinde İstanbul'da gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://www.gidaguvenglikongresi.org/> adresinden ulaşılabilir.

**Sürdürülebilir Gıda Sistemleri Kongresi**

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü tarafından düzenlenecek olan ve gıdada sürdürülebilirlik konusu ile ilgili her alandan değerli bilim insanlarını, kamu kurum ve kuruluşlarının yetkililerini ve özel sektör temsilcilerini bir arada buluşturmayı hedeflenen Sürdürülebilir Gıda Sistemleri Kongresi 10-12 Kasım 2022 tarihlerinde Manisa'da gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://surdurulebilirgida.mcbu.edu.tr/> adresinden ulaşılabilir.

**V. Geleneksel Gıdalar Sempozyumunu**

Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa Teknik Üniversitesi, Tarım ve Orman Bakanlığı, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası ve TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası tarafından beşincisi düzenlenecek olan Geleneksel Gıdalar Sempozyumunu, 24-26 Kasım 2022 tarihleri arasında Bursa Uludağ Üniversitesi ev sahipliğinde hibrit olarak gerçekleştirilecektir. Sempozyum ile ilgili bilgilere <https://gelenekselgidalar.org/tr/> adresinden ulaşılabilir.

## Chemical Composition and Antioxidant Activity of Sea-Buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) Grown in Issyk-Kul Region, Kyrgyz Republic

Aigul Usabalieva<sup>1</sup> , Vildan Eyiz<sup>2</sup> , Nurzat Totubaeva<sup>3</sup> , Ismail Tontul<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Kyrgyz-Turkish Manas University, pr. Aytmatov, 56, 720044 Bishkek, Kyrgyz Republic

<sup>2</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Necmettin Erbakan University, Meram, 42090 Konya, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 25.10.2022, Accepted (Kabul Tarihi): 14.12.2022

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [ausabalieva@manas.edu.kg](mailto:ausabalieva@manas.edu.kg) (A. Usabalieva)

☎ +996555917676 📠 +996(312)541935

### ABSTRACT

The fruit of sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) is a rich source of nutrients and phytochemicals. This study determined the chemical composition and antioxidant activity of sea-buckthorn grown in Issyk-Kul region, Kyrgyz Republic, during maturation from August to November. Three different assays [ferric reducing antioxidant power (FRAP), DPPH radical scavenging activity (DPPH), and cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC)] were used to determine the antioxidant activity of sea-buckthorn fruits. Sea-buckthorn fruits had a sugar content of 6.57-8.08 g/100g, a dietary fiber content of 0.39-0.83 g/100g, an ash content of 0.49-0.99 g/100g, a lipid content of 6.56-6.98 g/100g and titratable acidity of 1.38-1.92%. The total phenolic content and total flavonoids of sea-buckthorn fruits were 408.52–886.48mg GAE/kg and 260.81-345.37mg CE/kg, respectively. Antioxidant activity values determined by FRAP, DPPH, and CUPRAC were 88.51-1041.22mg TE/kg, 1011.93-2673.22mg TE/kg, and 755.40-1232.55mg TE/kg, respectively. Total carotenoid content was 16.6-18.8 mg/kg. Results showed the relationship between the change in the color of sea-buckthorn berries and the chemical composition by the months of their ripening and the influence of weather conditions. All these results indicated that sea-buckthorn fruits could be beneficial for human nutrition while they might have a great potential to be used in a wide range of products to enrich their functional properties.

**Keywords:** Sea-buckthorn, Antioxidant activity, Phenolic, Flavonoid, Carotenoid

### Kırgız Cumhuriyeti Issyk-Kul Bölgesinde Yetişen Yalancı İğde (*Hippophae rhamnoides L.*) Meyvelerinin Kimyasal Kompozisyonu ve Antioksidan Aktivitesi

#### ÖZ

Yalancı iğde meyvesi (*Hippophae rhamnoides L.*) zengin bir besin ve fitokimyasal kaynağıdır. Bu çalışmada, Kırgız Cumhuriyeti'nin Issyk-Kul bölgesinde yetişen yalancı iğde meyvelerinin ağustos ayından kasım ayına kadar olan olgunlaşma döneminde kimyasal bileşimi ve antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Yalancı iğde meyvelerinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde üç farklı yöntem [ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP), DPPH radikal süpürücü aktivite (DPPH) ve kuprik iyon azaltıcı antioksidan kapasite (CUPRAC)] kullanılmıştır. Deniz iğdesi meyvelerinin şeker içeriği 6.57-8.08 g/100g, diyet lifi içeriği 0.39-0.83 g/100g, kül içeriği 0.49-0.99 g/100g, lipid içeriği 6.56-6.98 g/100g ve

titre edilebilir asitlik değeri %1.38-1.92 arasında belirlenmiştir. Yalancı iğde meyvelerinin toplam fenolik içeriği ve toplam flavonoidleri sırasıyla 408.52-886.48 mg GAE/kg ve 260.81-345.37 mg CE/kg olarak ölçülmüştür. FRAP, DPPH ve CUPRAC ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri sırasıyla 88.51-1041.22 mg TE/kg, 1011.93-2673.22 mg TE/kg ve 755.40-1232.55 mg TE/kg olmuştur. Toplam karotenoid içeriği 16.6-18.8 mg/kg olarak ölçülmüştür. Veriler, deniz iğdesi meyvelerinin rengindeki değişim ile kimyasal bileşimi arasındaki ilişkiyi, olgunlaşma aylarına ve hava koşullarının etkisine göre göstermiştir. Tüm bu sonuçlar deniz iğdesi meyvelerinin insan beslenmesinde faydalı olabileceğini göstermekte ve ayrıca fonksiyonel özellikleri zenginleştirmek amacıyla geniş bir ürün yelpazesinde yüksek kullanım potansiyeli vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Yalancı iğde, Antioksidan aktivite, Fenolik, Flavonoid, Karotenoid

## INTRODUCTION

Sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) is native to Europe and Asia and has been domesticated in many countries such as India, China, Nepal, Pakistan, Myanmar, Russia, Britain, Germany, Finland, Romania, and France [1]. Different studies were conducted on the sea-buckthorn fruits. They showed that sea-buckthorn is a good source of phytochemicals such as vitamins, carotenoids and flavonoids, sterols, and some essential amino acids. For example, fruits and seeds of plants have been reported to possess high antioxidant potential, which is attributed to hydrophilic and lipophilic compounds, including ascorbic acid, flavonoids, proanthocyanidins, and carotenoids [2, 3].

Sea-buckthorn fruits, seeds, and other parts are rich in vitamins (A, B1, B12, C, E, and K), flavonoids, lycopene, carotenoids, and phytosterols [4, 5]. These compounds are therapeutically important because of their antioxidative properties [4, 5]. Moreover, polyphenolic compounds of sea-buckthorn were reported to possess anti-inflammatory, anti-neurodegenerative, anti-mutagenic, anti-carcinogenic, and anti-diabetic effects [6]. Several factors, such as cultivar, geography, harvesting time, and processing are known to have a significant effect on the chemical

composition of sea-buckthorn. Therefore, the antioxidative activity of sea-buckthorn fruits also depends on these factors [7, 8]. There are more than 150 cultivars of sea-buckthorn worldwide, and new varieties are still being developed [9].

In the Kyrgyz Republic, sea-buckthorn mainly grows in Issyk-Kul, Jalal-Abad, and Chuy regions. Up to now, many studies have been carried out on sea-buckthorn in different areas of the world. Still, few studies were found on the chemical composition and antioxidant activity of sea-buckthorn fruits grown in the Kyrgyz Republic. Therefore, this study aimed to analyze the chemical composition and antioxidant activity of sea-buckthorn fruits collected four consecutive times from August to November from the Issyk-Kul region of Kyrgyz Republic. Sugar content, dietary fiber content, ash content, lipid content, titratable acidity, total phenolic content, total flavonoids, and total carotenoid content of samples were determined. Moreover, the antioxidant activity of fruits was tested by three different methods.

## MATERIALS and METHODS

The sea buckthorn fruits were collected from the Issyk-Kul region (Figure 1), where sea-buckthorn grows naturally (Figure 2).



Figure 1. Sampling location on the map of the Kyrgyz Republic

Mature fruits were collected in August, September, October, and November 2019. Fruits were transferred

into the laboratory on the same day of collection and stored at 4°C until analysis.



Figure 2. Sea-buckthorn fruits grew in the Issyk-Kul region

The content of phenolic, flavonoids, carotenoids, and antioxidant activity in sea-buckthorn fruits were only determined in the samples of September and October. Since these are the marketable primary season of sea-buckthorn fruits, on the other hand, all other analyses were conducted on all samples.

### Chemical Composition

#### Physicochemical Analysis of Sea-Buckthorn Fruits

The following methods carried out the determination of moisture contents, lipids, dietary fiber, ash, total sugars and acidity in the samples. Moisture and total solids content of the fruit was determined by the AOAC official method 922.10. The lipid content in sea-buckthorn fruits was determined by the AOAC 945.44, the Soxhlet method (Gerhardt EV6 All/16, Königswinter, Germany). The fiber of the samples was determined according to AOAC method 991.43, using fiber bags (Gerhardt EV 1, Königswinter, Germany). The ash content of the fruit was determined using a Nabertherm L5/S muffle furnace. Ashing was carried out at  $520\pm 5^{\circ}\text{C}$  by AOAC 940.26. Sugars in samples were determined according to AOAC 925.36 by titration method. The total titratable acidity was determined by titration with an alkali sample solution with the addition of a phenolphthalein indicator, according to AOAC 942.15 [10].

#### Preparation of Extracts

The extract used in the total phenolic content, total flavonoids, and antioxidant activity assays was prepared using aqueous ethanol (80% v/v) according to the method performed by Eyiz et al. [11]. Briefly, 2 g of sea buckthorn (homogenized for raw material and powder for dried samples) sample was made up to 20 mL with

the solvent and homogenized using an ultraturrax (IKA T25 digital, Staufen, Germany). Then, the mixture was held at 40°C under constant shaking at 150 rpm for 2 h in a water bath (ST30, Nüve, Ankara, Turkey). The extract was stored at -18°C after filtration through an analytical filter paper.

#### Determination of Total Phenolic Content and Total Flavonoids

The Folin–Ciocalteu procedure was used in the determination of the total phenolic content of sea-buckthorn. For this purpose, a mixture of extract (0,5 mL), Folin-Ciocalteu reagent (2 mL, 0.2 N), and sodium carbonate solution (2.5 mL, 7.5%) was prepared and incubated at 50°C in a water bath for 5 min. The absorbance of the reaction mixture was recorded at 760 nm. The total phenolic content of samples was calculated as mg gallic acid equivalent (GAE)/ kg fresh weight (fw) using a calibration curve [11].

To determine total flavonoids, 0,5 mL extract, 2,5 mL distilled water, and 150  $\mu\text{L}$  of  $\text{NaNO}_2$  solution (5 %) were mixed in a test tube. After mixing and holding for 5 min, 300  $\mu\text{L}$  of  $\text{AlCl}_3$  solution (10 %) was added, and the mixture was shaken. After holding for 5 additional min, 1 mL of  $\text{NaOH}$  (1 N) was added and vigorously shaken. The absorbance of the mixture was recorded at 510 nm, and total flavonoids were calculated as mg catechin equivalent (CE)/kg fw [11].

#### Determination of Total Carotenoids Content

The total carotenoids of the samples were determined by extracting carotenoids from 2 g of the sample by using 10 mL of extraction solvent [BHT (0.1 %) in methanol:acetone:hexane, 25:25:50] by homogenization at 10000 rpm for 1 min. Then a clear extract was

obtained by centrifugation at 10000 g for 10 min at 4 °C. The absorbance of the extract was recorded at 450 nm.

Total carotenoids were calculated using the following equation.

$$\text{Total carotenoids (mg/kg fw)} = \frac{\text{Abs} \times \text{Dilution factor}}{0.25} \quad (1)$$

### Determination of Antioxidant Activity

The antioxidant activity of sea-buckthorn samples was determined by three different procedures, which are DPPH, FRAP, and CUPRAC. All these activities were performed according to the methods employed by Eyiz et al. [2020b]. Trolox® was used as the reference antioxidant in all assays, and therefore, antioxidant activities were calculated as mg Trolox equivalent antioxidant activity (TEAA)/kg fw.

### Color Analysis

Sea buckthorn fruit color values were measured using a Color Tec-PCM (HunterLab, NJ, USA) with a measurement angle of 10°, a D65 light source, and an aperture of 8 mm. by registering color coordinates L\*, a\* and b\* on the fruit surface (Joint Standard ISO/CIE, 2007). Color was determined using the CIELAB system, in which L\*, a\* and b\* denote dark-light, green-red and blue-yellow, respectively. Color values were recorded by calculating the average reflectance values measured at three different points on each fruit [12]. The results of seven repetitions per sample were averaged.

To quantify the difference in color between samples in different months, ΔE was calculated using the formula [13]:

$$\Delta E = \sqrt{(L_1^* - L_0^*)^2 + (a_1^* - a_0^*)^2 + (b_1^* - b_0^*)^2} \quad (2)$$

where L\*<sub>1</sub>, a\*<sub>1</sub>, b\*<sub>1</sub> are color index values for each month during maturation and L\*<sub>0</sub>, a\*<sub>0</sub> and b\*<sub>0</sub> are the reference color index values.

### Statistical Analysis

All the experiments were replicated three times, and the data were represented as mean ± SD. Comparison of mean values of three samples was analysed by the Excel program from the Microsoft Office program package using the T-test (paired sample test) with a 95% confidence interval. A p-value < 0.05 was considered statistically significant. The coefficient of variation in the samples was calculated by using the formula:

$$v = \frac{S}{\bar{c}} \times 100\% \quad (3)$$

Where:

S – standard deviation;

$\bar{c}$  – arithmetic mean for all months.

## RESULTS and DISCUSSION

### Basic Chemical Composition

The chemical properties of sea-buckthorn fruits collected at different months are given in Table 1. As can be seen in Table 1, the collection date had a significant effect on the chemical properties of sea-buckthorn fruits. While moisture content slightly increased from August to November, acidity, dietary fiber, ash, and sugar content decreased.

Table 1. Basic chemical composition of different month's sea-buckthorn fruits\*

Chemical composition	Harvest time				Mean	Coefficient of variation (%)
	August	September	October	November		
Moisture content (%)	86.7±0.650	87.0±0.210	87.07±0.32	87.5±0.490	87.07±0.049	0.33
Total Solid (%)	13.3±0.210	13.0±0.071	12.93±0.021	12.5±0.350	12.93±0.210	0.57
Acidity (%)	1.92±0.021	1.59±0.016	1.52±0.021	1.38±0.010	1.60±0.049	12.46
Lipid (%)	6.80±0.021	6.76±0.021	6.98±0.021	6.56±0.016	6.77±0.150	2.20
Dietary fiber (g/100 g)	0.83±0.016	0.65±0.020	0.57±0.036	0.39±0.010	0.61±0.056	25.90
Ash (%)	0.99±0.016	0.99±0.016	0.62±0.020	0.49±0.031	0.77±0.260	28.83
Sugars (%)	8.08±0.071	7.76±0.049	7.33±0.122	6.57±0.049	7.43±0.300	7.64

\*: Data are presented as means ±SD (Standard deviation) (n=3).

Bal et al. [14] comparatively studied the chemical properties of sea-buckthorn fruits. According to their results, the highest moisture content in pulp from berries is 84.9–97.6% for the Indian sea-buckthorn, and the lowest in varieties from Pakistan 20–32%. Our research has shown that moisture content increased from August to November ( $86.7 \pm 0.65$  %– $87.5 \pm 0.49$  %), which is statistically significant ( $p < 0.05$ ).

Bal et al. [14] reported the ash content of the berries as 1.76–1.8%. On the other hand, our results were in the range of 0.49 and 0.99%. The differences between results could be related to geographical, environmental conditions and the method of determining the ash. In the fruits of sea-buckthorn, the ash content is maximum in August and decreases with climate cooling. Therefore, ecological conditions significantly affected the ash content of sea-buckthorn fruits.

A decrease from August to November was shown in the acidity content of sea-buckthorn fruits. The lower TTA (total titratable acidity) levels in fruits harvested after August may have been caused by exposure to developing fruits to low temperatures that occurred before harvest in September, October, and November. Freezing fruits during development on the bush has been reported to damage the cellular structure, resulting in metabolic disturbances leading to changes in the acidity of the fruit [15]. The TTA of sea-buckthorn grown throughout Europe and Asia has been reported to vary from 1.49 to 4.79% expressed as citric acid [16]. Sea-buckthorn berry pulp has high total lipid content, including tocopherols, tocotrienols, carotenoids, sterols, omega-3 and omega-6 fatty acids. Zakynthinos et al. [17]. Presented on the functionality of sea-buckthorn lipids and reported that sea-buckthorn might have various beneficial effects on human health. Sea-buckthorn from the Kyrgyz Republic was determined to have 6.77% lipid content on average. This content was much higher reported for sea-buckthorn grown in China and Finland, which were  $2.1 \pm 0.5\%$  and  $3.5 \pm 0.7\%$ , respectively. Both the seed ( $7.3 \pm 1.4$  to  $11.3 \pm 2.5\%$ ) and flesh ( $1.6 \pm 0.5$  to  $2.8 \pm 0.7\%$ ) of sea-buckthorn have been reported to contain high levels of lipid, and greater than 75% of the fruit lipid is contained in the flesh [18]. The variation in lipid content of sea-buckthorn fruits between months was negligible (Table 1). Therefore, the accumulation of lipids in sea-buckthorn fruits depends on weather conditions during the growing season.

The properties of dietary fiber and its value depend on the source and the mutual proportions of the respective fractions. Dietary fiber contains many structures with diverse physical and chemical properties and can induce physiological effects on the human body [19]. According to the results, the dietary fiber content in sea-buckthorn berries decreased from August to November (Table 1).

The total sugar content of six sea-buckthorn cultivars commonly grown in Poland was reported as 1.34–2.87 g/100 g fw [20]. The sugar content in our studies (6.57–8.08 g/100g) was relatively high. Additionally, the sugar content in berries was higher in August and decreased by November. An increase or decrease in the chemical components of the sea-buckthorn fruits selected in different months is probably related to climatic changes, such as temperature, humidity, the rainy season, and the ripening period of fruits themselves [21].

The coefficient of variation characterizes the relative dispersion of the component contents in the sea-buckthorn, which shows how much the dispersion is compared to the average value. For example, the calculation of the coefficient of variation of moisture and lipid in sea-buckthorn is content to 0.328% and 2.20%, respectively. The more the results differ among themselves, the greater the coefficient of variation (Table 1).

The highest variation coefficient was in dietary fiber 25.9% and ash 28.83%. This high coefficient of variation indicates that the content of dietary fiber and ash varies significantly more between months. Various factors can influence the difference in the content of dietary fiber and ash, for example, in the work [21] it is indicated that pruning of sea buckthorn branches affected the thickness of the peel of sea buckthorn berries, which, accordingly, can affect the content of dietary fiber. Thus, the coefficient of variation makes it possible to compare the variability of the content of the components depending on the harvest time. In this case, we could conclude that with weather changes during maturation, and the degree of ripening of sea-buckthorn, some components in sea-buckthorn fruits can vary significantly.

## Bioactive Compounds

The antioxidative properties of sea-buckthorn fruits are attributed to hydrophilic and lipophilic compounds, including phenolic compounds, ascorbic acid, flavonoids, proanthocyanidins and carotenoids [22]. Therefore, total phenolic, total flavonoids and total carotenoid content of samples collected in September and October were analyzed and the results are presented in Table 2.

The total phenolic and total flavonoid content of sea-buckthorn fruits decreased in October compared to September since October is colder than September in Kyrgyz Republic cooling may be the reason for these findings. On the other hand, total carotenoids changed slightly in October compared to September. In a previous study, Zadernowski et al. [23] reported the total phenolic content of sea-buckthorn fruits as 3570–4439 mg GAE/kg db (which corresponds 428–530 mg/kg fw). Therefore, the result of the present study was consistent with the literature.

Table 2. Total phenolics, total flavonoids and total *carotenoids* content of sea-buckthorn fruits\*

Harvest month	Total Phenolics (mg GAE/kg fw)	Total Flavonoids (mg CE/kg fw)	Carotenoids (mg/kg fw)
September	886.48±119.52	345.37±16.41	16.6±0.509
October	408.52±2.06	260.81±42.20	18.8±1.36

\*: Data are presented as means ±SD (Standard deviation) (n=3).

The total flavonoid contents of sea-buckthorn fruits from the Kyrgyz Republic were determined as 345.37-260.81 mg CE/kg fw. Guo et al. [24] determined the total flavonoid contents of 4 different subspecies of sea-buckthorn fruits and reported the average total flavonoids as 44.3 mg/g dw. The fruits collected in the Kyrgyz Republic had much lower total flavonoids than these species. Therefore, the geographical origin could significantly affect the flavonoids of sea-buckthorn fruits. On the other hand, the decrease in phenolics from September to October could be related to the transforming phenolics into flavonoids due to the decrease in temperature (on average September +23-25°C; October +14-16°C).

Sea-buckthorn fruits are rich in pigments and lipoproteins in membranes and the fleshy mesocarp. Carotenolipoprotein complexes are located particularly in fruit membranes where polar lipids may function as bridge compounds between the polar (protein) and non-polar (carotenoids) moieties [25]. The content of carotenoids is the main parameter of sea-buckthorn,

which gives the fruit a yellow color and is an indicator of the content of vitamins. The study showed that the total content of carotenoids in sea buckthorn from September 16.6±0.509 % to October 18.8±1.36 % (mg/kg fw) changed slightly depending on the time of collection ( $p < 0.05$ ).

### Antioxidant Activity

The antioxidant activities of sea-buckthorn fruits were determined using three different techniques. Results revealed that fruits collected in September had higher antioxidant activity than those of October (Table 3). While the differences in antioxidant activity between months were about 1.5 times in DPPH and CUPRAC methods, a much higher difference was observed in FRAP. When the bioactive compounds content and antioxidant activity results are evaluated together, it can be said that flavonoids had a much higher antioxidant activity than sea-buckthorn fruits.

Table 3. The antioxidant activity of sea-buckthorn fruits (mg TEAA/kg fw)\*

Harvest month	DPPH	FRAP	CUPRAC
September	2673.22±24.863	1041.22±33.44	1232.55±2.227
October	1011.93±29.65	88.51±4.778	755.40±27.1698

\*: Data are presented as means ±SD (Standard deviation) (n=3).

Ercisli et al. [26] reported that the antioxidant activity of sea-buckthorn fruits grown in Turkey as 80.4%-93.5% which was similar to BHT, a synthetic antioxidant. Another study reported antioxidant activity (determined by the DPPH method) of different sea-buckthorn cultivars between 1.08 and 4.67 g/kg fw [27]. Saeidi et al. [28] determined the antioxidant activity of sea-buckthorn fruits grown in Iran by the FRAP method as 248.5 mmol/kg. Therefore, the result of the present study is consistent with the literature.

### Color Analysis

The results of measuring the color of sea-buckthorn fruits at four months are presented in Table 4. Significant

differences in the color indices  $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$  between sea-buckthorn fruits were not noted ( $p > 0.05$ ), except for the  $a^*$  index of the samples. The increase in the  $a^*$  value is probably due to the suspension of the maturation process and the change in pigmentation in cold weather. The content of carotenoids reaches its maximum content when sea buckthorn berries ripen. As is known, the content of carotenoids gives pigmentation in sea buckthorn berries [21]. Accordingly, after ripening, the color change can be suspended and, due to cooling, the brightness of the berries can change, turning into a darker shade.

Table 4. Colorimetric parameters of sea-buckthorn fruits\*

Harvest month	$L^*$	$a^*$	$b^*$
August	27.88±0.424	09.60±0.424	75.67±0.848
September	29.26±0.282	10.77±0.14	78.04±0.042
October	27.30±0.212	64.50±0.14	74.66±0.042
November	27.93±0.148	88.83±0.063	75.74±0.169

\*: Data are presented as means ±SD (Standard deviation) (n=3).

The calculation results showed that between August and September,  $\Delta E$  was 31.32, and between September, October, and November were close in value to 11.44 and 11.35, respectively. Moreover, it was 12.9 between August and November. The calculated  $\Delta E$  values showed a significant difference between the months during the ripening period in August and September and the end of the fruit season in November ( $\Delta E > 6.0$ , meaning clearly visible) [29]. Probably this change is associated with a change in pigmentation with the end of fruit ripening [21].

## CONCLUSION

Sea-buckthorn fruits (*Hippophae rhamnoides* L.) are rich in biologically active ingredients with high antioxidant capacity. Our research showed that the basic chemical composition, bioactive compounds, and antioxidant activity of sea-buckthorn fruits change depending on the harvesting time of sea-buckthorn fruits. Additionally, the studied sea-buckthorn berries may be a raw material for developing functional foods and nutraceutical products rich in compounds with high biological activity. Thus, the rich chemical composition of sea-buckthorn fruits can be used in the food industry for food fortification.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Necmettin Erbakan University, Department of Food Engineering, also we thank to the Altynay Abdikeeva for technical support of the manuscript from Department of Food Engineering, Kyrgyz-Turkish Manas University.

## REFERENCES

- [1] Perk, A.A., Ceylan, F.D., Yanar, O., Boztas, K., Capanoglu, E. (2016). Investigating the antioxidant properties and rutin content of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves and branches. *African journal of Biotechnology*, 15(5), 118-124.
- [2] Michel, T., Destandau, E., Le Floch, G., Lucchesi, M.E., Elfakir, C. (2012). Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. *Food Chemistry*, 131(3), 754-760.
- [3] Wani, T.A, Wani, S.M., Shah, A.G. and Masoodi, F.A. (2013). Optimizing conditions for antioxidant extraction from sea buckthorn leaf (*Hippophae rhamnoides* L.) as herbal tea using response surface methodology (RSM). *International Food Research Journal*, 20(4), 1677-1681.
- [4] Patel, C.A., Divakar, K., Santani, D., Solanki, H.K., Thakkar, J.H. (2012). Remedial Prospective of *Hippophae rhamnoides* Linn. (Sea Buckthorn). International Scholarly Research Network, *ISRN Pharmacology*, 436857.
- [5] Wani, T.A., Wani, S.M., Ahmad, M., Ahmad, M., Gani A., Masoodi, F.A. (2016). Bioactive profile, health benefits and safety evaluation of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2, 1.
- [6] Cho, C.H., Jang, H., Lee, M., Kang, H., Heo, H.J., Kim, D.O. (2017). Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf extracts protect neuronal PC-12 cells from oxidative stress. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(7), 1257-1265.
- [7] Yang, W., Alanne, A.L., Liu, P., Kallio, H., Yang, B. (2015). Flavonol glycosides in currant leaves and variation with growth season, growth location, and leaf position. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 9269-9276.
- [8] Vagiri, M., Ekholm, A., Öberg, E., Johansson, E., Andersson, S.C., Rumpunen K. (2013). Phenols and ascorbic acid in black currants (*Ribes nigrum* L.): Variation due to genotype, location, and year. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 9298-9306.
- [9] Teleszko, M., Wojdyło, A., Rudzińska, M., Oszmiański, J., Golis, T. (2015). Analysis of lipophilic and hydrophilic bioactive compounds content in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 4120-4129.
- [10] AOAC, 2000, Official Methods of Analysis. 17th Edition, The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA.
- [11] Eyiz, V., Tontul, I., Turker, S. (2020). Optimization of green extraction of phytochemicals from red grape pomace by homogenizer assisted extraction. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(1), 39-47.
- [12] Llerena, W., Samaniego, I., Angós, I., Brito, B., Ortiz, B., Carrillo, W. (2019). Biocompounds content prediction in ecuadorian fruits using a mathematical model. *Foods*, 8, 284.
- [13] Joint International Organization for Standardization/International Commission on Illumination Standard. (2007). CIE Colorimetry - Part 4: 1976. L\*a\*b\* Colour Space. ISO 11664-4:2008(E)/CIES 014-4/E:2007.
- [14] Bal, L.M., Meda, V., Naik, S.N., Satya, S. (2011). Sea buckthorn berries: A potential source of valuable nutrients for nutraceuticals and cosmoceuticals. *Food Research International*, 44(7), 1718-1727.
- [15] Hendrix, C.M., Redd, J.B. (1995). Chemistry and technology of citrus juices and by-products. In: Ashurst, P.R. (eds) *Production and Packaging of Non-Carbonated Fruit Juices and Fruit Beverages*. Springer, Boston, MA.
- [16] Tang, X., Tigerstedt, P.M.A. (2001). Variation of physical and chemical parameters within an elite sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.)



- breeding population. *Scientia Horticulturae*, 88(3), 203-214.
- [17] Zakyntinos, G., Varzakas, T., Petsios, D. (2016). Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) lipids and their functionality on health aspects. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 4(3), 182-195.
- [18] Yang, B., Kallio, H. (2002). Effects of harvesting time on triacylglycerols and glycerophospholipids of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries of different origins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(2), 143-157.
- [19] Mann, J.I., Cummings, J.H. (2009). Possible implications for health of the different definitions of dietary fibre. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 19(3), 226-229.
- [20] Tkacz, K., Wojdyło, A., Turkiewicz, I.P., Bobak, L., Nowicka, P. (2019). Anti-oxidant and anti-enzymatic activities of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) fruits modulated by chemical components. *Antioxidant*, 8(12), 618.
- [21] Viškelis, P., Ianauskas, J., Segliņa, D., Ruisa, S. (2008). The changes of biochemical content in seabuckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.) during ripening. Proceedings of international scientific conference "Sustainable Fruit Growing: From Plant To Product" 274 May 28 – 31, Jūrmala – Dobeles, Latvia.
- [22] Criste, V.A., Urcan, A.C., Bunea, A., Furtuna, F.R.P., Olah, N.K., Madden, R.H., Corcionivoschi, N. (2020). Phytochemical composition and biological activity of berries and leaves from four Romanian sea buckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.). *Molecules*, 25(5), 1170.
- [23] Zadernowski, R., Naczek, M., Czaplicki, S., Rubinskiene M., Szalkiewicz M. (2005). Composition of phenolic acids in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 82, 175-179.
- [24] Guo, R., Guo, X., Li, T., Fu, X., Liu, R.H. (2017). Comparative assessment of phytochemical profiles, antioxidant and antiproliferative activities of Sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries. *Food Chemistry*, 221, 997-1003.
- [25] Pintea, A., Marpeau, A., Faye, M., Socaciu, C., Gleizes, M. (2001). Polar lipid and fatty acid distribution in carotenolipoprotein complexes extracted from sea buckthorn fruits. *Phytochemical Analysis*, 12(5), 293-298.
- [26] Ercisli, S., Orhan, E., Ozdemir, O., Sengul, M. (2007). The genotypic effects on the chemical composition and antioxidant activity of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries grown in Turkey. *Scientia Horticulturae*, 115(1), 27-33.
- [27] Sytařová, I., Orsavová, J., Snopek, L., Miček, J., Byczyński, L., Mišurcová L. (2020). Impact of phenolic compounds and vitamins C and E on antioxidant activity of sea buckthorn (*Hippophaë hamnoides* L.) berries and leaves of diverse ripening times. *Food Chemistry*, 310, 125784.
- [28] Saeidi, K., Alirezalu, A., Akbari, Z. (2016). Evaluation of chemical constitute, fatty acids and antioxidant activity of the fruit and seed of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) grown wild in Iran. *Natural product research*, 30(3), 366-368.
- [29] Rentsendavaa, C., Székely, D., Furulyás, D., Végvári, Gy., Gonelimali, F., Kumar, P., Stéger-Máté, M. (2021). Stability of carotene and phenols of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) juice with pomace during storage. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 65(2), 210-218.

## Antioxidant Activity, Physico-Chemical and Fatty Acid Composition of Oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) Varieties Naturally Grown in Western Mediterranean Region of Turkey

Rabia Faki<sup>1</sup> , Hale Seçilmiş Canbay<sup>2</sup> , Oguz Gursoy<sup>3</sup> , Yusuf Yilmaz<sup>3</sup>  ✉

<sup>1</sup>Graduate School of Natural and Applied Sciences, Division of Food Engineering, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Turkey

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science and Literature, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Turkey

<sup>3</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 12.09.2022, Accepted (Kabul Tarihi): 15.11.2022

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [yusufyilmaz@mehmetakif.edu.tr](mailto:yusufyilmaz@mehmetakif.edu.tr) (Y. Yilmaz)

☎ +90 248 213 2722 📠 +90 248 213 2704

### ABSTRACT

*Elaeagnus angustifolia* L. belongs to the family of Elaeagnaceae, and its fruits are consumed as an appetizer. Mesocarp tissue of *Elaeagnus* fruits contains mainly carbohydrates while endocarp part (kernel) is rich in lipids. In this study, fatty acid profiles and nitrogen contents of the endocarp tissues of four different *Elaeagnus angustifolia* varieties naturally grown in the Western Mediterranean Region of Turkey were determined as well as the total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of their mesocarp and exocarp tissues. The crude fat content of endocarp tissues of *Elaeagnus* fruits ranged from 24.45 to 30.13%, and the highest nitrogen content (0.205%) was in the Native variety. The dominant fatty acid in endocarp tissue lipids was linoleic acid (ca. 48%), and the content of mono- and polyunsaturated fatty acids in this tissue was about 90%. Varietal differences were found in the total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activities of mesocarp and exocarp tissues. The mesocarp tissues of Sugar variety had the highest total phenolic content (161.9 mg GAE 100/g dry matter (dm)) and antioxidant activity (118.3  $\mu$ mol Trolox® equivalent (TE) g dm) while the highest total flavonoid content (216.5 mg catechin equivalent (CE) 100 g dm) was in the exocarp tissue of Native variety. Results indicated that endocarp tissue lipids can be a good source of polyunsaturated fatty acids for human consumption in food, feed and cosmetics industries.

**Keywords:** Antioxidant activity, *Elaeagnus angustifolia* L., Fatty acid composition, Flavonoid

### Batı Akdeniz Bölgesi'nde Doğal Olarak Yetişen İğde (*Elaeagnus angustifolia* L.) Çeşitlerinin Antioksidan Aktivitesi, Fiziko-Kimyasal Özellikleri ve Yağ Asidi Kompozisyonu

#### ÖZ

*Elaeagnus angustifolia* L., Elaeagnaceae (İğdegiller) familyasından meyveleri iştah açıcı olarak tüketilen bir bitkidir. *Elaeagnus* meyvesinin mezokarp dokusu ağırlıklı olarak karbonhidrat içerirken, endokarp (çekirdek) kısmı lipidler bakımından zengindir. Bu çalışmada, Batı Akdeniz Bölgesi'nde doğal olarak yetişen dört farklı *Elaeagnus angustifolia* çeşidinin endokarp dokularının yağ asidi kompozisyonu ve nitrogen içeriği ile bunların mezokarp ve ekzokarp dokularının toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. *Elaeagnus* meyvelerinin endokarp dokularının ham yağ içeriği %24.45 ile 30.13 arasında değişmiş ve en yüksek azot içeriği (%0.205) Yerli çeşidinde bulunmuştur. Endokarp doku lipidlerindeki baskın yağ asidi linoleik asit olarak belirlenmiş (yaklaşık %48) ve bu dokudaki tekli ve çoklu doymamış yağ asitlerinin içeriğinin yaklaşık %90 olduğu tespit edilmiştir. Mezokarp ve ekzokarp dokularının toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinde ve antioksidan aktivitelerinde çeşit farklılıklar belirlenmiştir. Şeker çeşidinin mezokarp dokuları en yüksek toplam fenolik içerik (161.9 mg GAE/100 g kuru madde

(km)) ve antioksidan aktiviteye (118.3  $\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}$  eşdeğeri (TE) g km) sahipken, en yüksek toplam flavonoid içeriği (216.5 mg kateşin eşdeğeri (CE)/100 g km) Yerli çeşidi ekzokarp dokusunda tespit edilmiştir. Sonuçlar, endokarp doku lipitlerinin gıda, yem ve kozmetik endüstrisinde iyi bir çoklu doymamış yağ asitleri kaynağı olabileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan aktivite, *Elaeagnus angustifolia* L., Yağ asidi bileşimi, Flavonoid

## INTRODUCTION

*Elaeagnus angustifolia* L., known as Russian olive, is a shrub or tree, which can grow up to 7 m in height. It has been widely cultivated for its edible fruits in Central and Eastern Anatolia, and its fruits are elliptic-oblong, 10-20 x 6-12 mm in diameter and reddish-brown in color [1, 2] and consumed as an appetizer [3]. *E. angustifolia* L. can grow under different climatic conditions [4]. It can withstand temperatures between 45–46°C and requires a minimum of 20 cm of precipitation during the year [5]. It is a plant that likes the sunlight, and growth requirements include a shallow-dry, very poor or even salty in terms of soil and moderate in terms of water demands [6]. The leaves of *E. angustifolia* L. are 4-8 cm long, narrow and lance-shaped, with flat edges, sharp edges and sharp edges. It blooms in June. The flowers are very sharp and beautiful fragrance. Fruits are olive berry-sized and yellowish-brown, consumed fresh or dried [7].

Fruits of *E. angustifolia* L. have many nutritive constituents such as carbohydrates, proteins, organic substances, amino acids and vitamins [8]. In recent years, conscious of consumers has increased for eating more healthy foods. The fruits of *Elaeagnus* are low in calorie content, but contain a variety of nutrients like dietary fiber and minerals, especially Na, P, Ca and Mg [9]. The composition of *E. angustifolia* L. fruits varies according to their variety, cultivation, soil and geographical location [10]. Dry flowers of this plant are rich in folic acid and vitamin B12 [11]. The leaves and flowers of *E. angustifolia* L. contain phenolic and flavonoid compounds, and these compounds have antioxidant properties that protect the cells from oxidative damage [12].

Valuable extractable compounds found in the flowers and leaves of *Elaeagnus* species have been used in pharmacology. *Elaeagnus* plant has been used as a drought resistant species in Turkey to completely stop dune movements in arid regions. Exocarp tissues of *Elaeagnus* can be used in chemistry, textile, cosmetics and pharmacology industries, making it as an important crop in Turkey [13]. The medical value of plants depends on their phytochemical components such as alkaloids, tannins, flavonoids and phenolic compounds, which are probably the most important [14]. Dry leaves and fruits are astringent and have antipyretic effects. *Elaeagnus* flowers are used to flavor some liqueurs. Fruits and flower of this plant have also been applied to treat nausea, vomiting, jaundice, asthma and abdominal distention [15]. Leaves are known to be used in the production of tea, animal feed and paper clay while fruits can be used in jam and liquor production. This plant is highly resistant to diseases and insect damages [16].

Due to these properties, it is frequently used in afforestation of roadsides in Europe and the US. *Elaeagnus* is a species that should be considered important for erosion sensitive areas with its ability to make degraded soils available and their soil protection properties [17].

*Elaeagnus* species provide nectar for bees in natural life. It is also widely used as a medicinal and aromatic plant by the residents in Europe and the US since it has less insect and disease problems [15, 18, 19].

The aim of this current study was to determine the biochemical content of four varieties of *E. angustifolia* L., widely and naturally grown in the Western part of Turkey. The analyses of fatty acid composition and nitrogen content in endocarp tissues, and total phenolic and total flavonoid contents and antioxidant activity in mesocarp and exocarp tissues of *E. angustifolia* L. were performed. Limited number of studies are available on the fatty acid composition of endocarp tissues of *E. angustifolia* or on the antioxidative nutrient data of their mesocarp and exocarp tissues of these native varieties.

## MATERIALS and METHODS

### Materials

Ripe fruits of *Elaeagnus* species were directly obtained from local farmers in Western Mediterranean Region in Turkey in 2017 (Figure 1). About two kilograms of fruits for each variety (Sugar, Native, Hurma and Red varieties of *Elaeagnus angustifolia* L.) at a commercial maturity were stored at -20°C in a freezer until use. Each batch was randomly divided into three parts, and endocarp, mesocarp and exocarp tissues (Figure 2) of each part were carefully and separately removed from fruits. They were used as triplicates for further analyses.

Trolox<sup>®</sup>, sodium carbonate, NaOH, AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, chromatographic grade methanol and n-hexane and HCl (35%) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) while Folin-Ciocalteu reagent, NaNO<sub>2</sub> and chromatographic grade ethanol were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) was obtained from Fluka (Kenilworth, NJ, USA).

Aqueous ethanol (70%, v/v) was used for the extraction in total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity assays. Mesocarps and endocarps of *Elaeagnus* fruits were carefully separated from each other and crushed separately in a porcelain mortar into a powder form. Powders were mixed with aqueous ethanol at a ratio of 1:10 (w/v), and the mixture was subjected to ultrasonication (WUCD06H, Daihan Scientific Co. Ltd.,

Korea) for 10 minutes in an ultrasonic water bath (100% at 40kHz). Then, they were shaken on the orbital shaker (Widshake, Daihan Scientific Co. Ltd., Korea) for 15 minutes at room temperature and centrifuged at 10,000g at 10°C. Supernatants were transferred in a volumetric

flask. This process was repeated twice for each sample. Clear supernatants were collected in the amber flasks and stored at -24°C until analysis.



Figure 1. Pictures of four varieties of Elaeagnus (A: Sugar, B: Native, C: Hurma and D: Red)

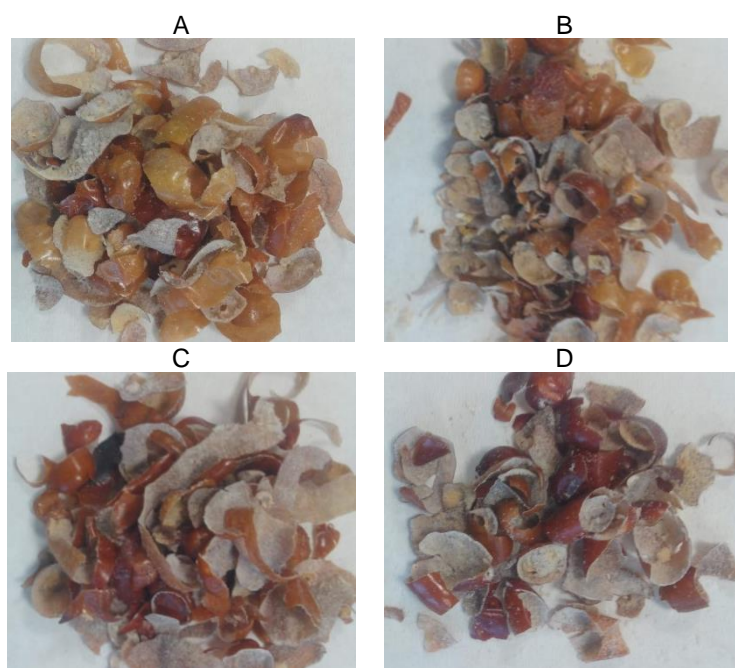


Figure 2. Pictures of exocarp tissues of four Elaeagnus varieties (A: Sugar, B: Native, C: Hurma and D: Red)

### Analysis for Fatty Acid Methyl Esters

Apparatus GC-MS was Agilent 7890A gas chromatograph equipped with a 5975 mass detector (MSD), a 7693B automatic sampler and a MSDCHEM (Agilent, USA) data system. Analytes were separated in a fused silica capillary column CP-Wax stationary phase (50 m x 0.25 mm; film thickness 0.2 µm) (Agilent, USA). Oven temperature program was as follows: initial temperature 60°C, held for 1 min, increase by 13°C/min

to 175°C, increase at 4°C/min to 215°C, and then hold at 215°C for 25 min, total run was 76 min. The split ratio was 1:20 and the carrier gas (helium) flow rate was 2 mL/min. Temperature of the detector was 250°C, and injector was fixed at 250°C. MSD conditions were ion source temperature, 230°C; electron energy, 70 eV; mass scan range, 30–500 amu [20].

FAMEs were obtained by methylation with HCl in methanol (1.5 M). 200 µL lipid fraction was mixed and

shaken vigorously for 15 min in an ultrasonic shaker (Bandelin Berlin, Germany). Lipid fraction was methylated 2 h (70°C), and then 1 mL hexane was added to collect the FAME in hexane as above and analyzed by GC-MS.

### Nitrogen Content

Nitrogen contents of endocarps were determined by the Dumas method, which is based on the combustion of a sample in an oxygen-enriched atmosphere at a high temperature in order to ensure complete combustion chamber. Gerhardt Dumas Analyser (Gerhardt GmbH & Co. KG, Königswinter, Germany) was used. Each sample (0.4 g) was weighed into a porcelain holder for its introduction into the combustion chamber utilizing an automated sample loader.

### Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity

Total phenol contents (TPC) were determined by the Folin-Ciocalteu method [21]. Gallic acid was used as a standard. A UV-Vis spectrophotometer with a rotary type 8 position multi cell holder (Optizen Pop, Mecasys Co., Ltd., Daejeon, Korea) was used to determine the total phenol contents of mesocarp and endocarp tissues in terms of Gallic Acid Equivalents (GAE). Total flavonoid contents were determined by the method described by [22]. Catechin (20-100 mg/L) was used as a standard, and total flavonoid contents of mesocarp and endocarp tissues were determined in terms of Catechin Equivalents (CE). DPPH assay procedure described by Thaipong et al. [23] was used to determine antioxidant activities of mesocarp and endocarp tissues. For this assay, the absorbance readings of extracts were taken at 515 nm wavelength. The linear standard curve was between 10 and 50 µM Trolox®. Antioxidant activities of mesocarps and endocarps in DPPH assay were expressed in µmol TE/g of dry matter.

### Physical Properties of Fruits

A digital caliper with 1% precision (Wert W2325, Ningbo Sun Group Tools Co., Ltd., Yuyao, Zhejiang, China) was used to determine the size of Elaeagnus fruits. The

measurements on samples were made randomly from four different Elaeagnus varieties.

### Dry Matter Content of Endocarps

The method described by the AOAC (1990) was used to determine dry matter contents of endocarps of four different Elaeagnus varieties. Briefly, the sample (5 g) was weighed into aluminum containers and dried to a constant weight at 105°C.

### Statistical analysis

Data were analyzed using the Statistical Analysis System software (SAS Institute Inc., Carry, North Carolina, USA). The significant differences among means were determined by the Duncan multiple comparison test at  $\alpha=0.05$  and the results were expressed as mean  $\pm$  standard deviation.

## RESULTS and DISCUSSION

### Physical Properties of Elaeagnus Fruits

Physical properties of fruits of four different Elaeagnus varieties are shown in Table 1. The ranges for the fruit width (maximum diameter) and length values were 13.5-17.1 mm and 15.5-29.5mm, respectively. Native variety had the smallest fruit width and length values while Hurma variety had the highest fruit length ( $p<0.05$ ). In a study by Akbolat et al. [24], the fruit length for Elaeagnus species grown in Turkey ranged from 17.8 to 33.7 mm while the range for the fruit width was 12.3 to 22.0 mm. Cansev et al. [8] reported the fruits of Elaeagnus species grown in northwest Turkey had a mean width of 16.2 and length of 24.8mm. Bartha and Csiszár, [25] reported that the fruits of Elaeagnus species are usually "10-16 mm long, ovoid or elliptic, silvery grey colored, densely covered by scale hairs" and matured fruits are yellowish or reddish brown in color. In our study, ranging from 18.5 to 29.5 mm, the length of Elaeagnus species was in good agreement with Akbolat *et al.* [24] and Cansev et al. [8] but it was about twice higher than the value reported by Bartha and Csiszár [25], which indicated significant differences among Elaeagnus species grown in different geographical locations.

Table 1. Physical properties of fruits of different Elaeagnus varieties

Elaeagnus variety	Fruit width* (mm)	Fruit length (mm)
Sugar	17.1 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>	24.7 $\pm$ 1.6 <sup>b</sup>
Native	13.5 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	18.5 $\pm$ 0.8 <sup>c</sup>
Hurma	16.1 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	29.5 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>
Red	15.8 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	24.4 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>

\*Means followed by different superscripts within a column are significantly different at  $\alpha=0.05$ .

### Approximate Composition of Endocarp Tissues of Elaeagnus Varieties

Approximate composition of endocarp tissues in four different Elaeagnus varieties are shown in Table 2. The crude fat content of endocarp tissues in Native variety

was about 30%, which was the highest in wet basis ( $p<0.05$ ). Dry matter content of endocarp tissues of this variety was also the lowest (80%) ( $p<0.05$ ). Results indicated that endocarp tissues of Elaeagnus varieties were low in nitrogen content, thus crude protein content (Table 2).

Dry matter content of the fruits (mesocarp tissues) of *Elaeagnus* species grown in Turkey was reported between 82.4 and 83.6% while their protein content ranged from 11.8 to 12.8% [24]. Cansev et al. [8] reported that the dry matter, total soluble sugar, crude fat and protein contents of *Elaeagnus* species grown in Bursa (Northwest of Turkey) were 73.5, 70.6, 0.5 and 4.6%, respectively. Focusing on the endocarp tissue of the *Elaeagnus* species grown in the Western

Mediterranean Region of Turkey, our study indicated that this tissue was low in protein content but significantly high in crude fat content. To the best of our knowledge, the literature on the crude fat content of the seeds of *Elaeagnus* species is very limited, and in a study by Kadir and Kuerban-Jiang [26] the crude fat content of the seeds of wild *Elaeagnus* species in Xinjiang (China) was reported as 8.2%. In our study, three times higher crude fat contents were determined in the *Elaeagnus* species studied.

Table 2. Approximate composition of kernels in four different *Elaeagnus* varieties

<i>Elaeagnus</i> variety	Crude fat* (% dw)	Nitrogen (%)	Dry matter (%)
Sugar	26.88±0.12 <sup>b</sup>	0.052±0.003 <sup>b</sup>	89.4±0.4 <sup>a</sup>
Native	30.13±1.39 <sup>a</sup>	0.205±0.006 <sup>a</sup>	80.0±2.5 <sup>b</sup>
Hurma	25.18±0.96 <sup>b</sup>	0.047±0.004 <sup>b</sup>	87.9±0.3 <sup>a</sup>
Red	24.45 ±0.21 <sup>b</sup>	0.004±0.001 <sup>c</sup>	89.8±0.4 <sup>a</sup>

\*Means followed by different superscripts within a column are significantly different at  $\alpha=0.05$ .

### Fatty Acid Composition of Endocarp Lipids in *Elaeagnus* Varieties

Endocarp tissues of *Elaeagnus* varieties are not consumed or utilized by human; however, they can be used as a feed material for animals. Fatty acid composition of *Elaeagnus* endocarp tissue lipids are shown in Table 3. More than 55% of the lipids in these tissues consisted of polyunsaturated fatty acids. With about 48%, linoleic acid (C18:2) was the most dominant fatty acid in endocarp lipids, which was followed by the oleic (C18:1), linolenic (C18:3), palmitic (C16:0) and stearic acids (C18:0) in decreasing order (Table 3). About one third of the lipids in endocarp tissues were

monounsaturated. In a study by Yıldırım et al. [27] the ratios of C16:1, C18:0, C18:1, C18:2 and C18:3 fatty acids in *E.angustifolia* were reported as 10.40, 16.95, 8.64, 16.31 and 5.13%, respectively. Kadir and Kuerban-Jiang [26] reported that the ratios of C18:0, C18:1, C18:2 and C18:3 fatty acids in the endocarp tissue lipids of *E.angustifolia* from Xinjiang Uigur Autonomous Region of China were 5.31, 33.17, 46.52 and 9.21%, respectively. In the current study, varietal differences were found among the ratios of dominant fatty acids in endocarp tissue lipids but results were generally in good agreement with those reported by Kadir and Kuerban-Jiang [26] for wild *Elaeagnus* species grown in Xinjiang (China).

Table 3. Fatty acid composition (%) of kernel lipids extracted from four different varieties of *Elaeagnus* fruits

Fatty acid methyl ester	Sugar*	Native	Hurma	Red
C14:0	0.28±0.01 <sup>u-x</sup>	0.25±0.05 <sup>u-x</sup>	0.32±0.08 <sup>u-x</sup>	0.20±0.00 <sup>v-x</sup>
C15:0	0.18±0.00 <sup>wx</sup>	0.12±0.01 <sup>wx</sup>	0.21±0.01 <sup>u-x</sup>	0.13±0.00 <sup>wx</sup>
C16:0	6.84±0.01 <sup>m</sup>	6.29±0.04 <sup>n</sup>	5.43±0.05 <sup>o</sup>	5.42±0.08 <sup>o</sup>
C16:1	0.42±0.08 <sup>s-w</sup>	0.42±0.03 <sup>s-w</sup>	0.62±0.10 <sup>st</sup>	0.48±0.03 <sup>s-v</sup>
C17:0	0.17±0.06 <sup>wx</sup>	0.08±0.03 <sup>x</sup>	0.25±0.01 <sup>u-x</sup>	0.09±0.01 <sup>x</sup>
C17:1	0.30±0.20 <sup>u-x</sup>	0.13±0.02 <sup>wx</sup>	0.14±0.02 <sup>wx</sup>	0.08±0.01 <sup>x</sup>
C18:0	4.16±0.00 <sup>p</sup>	3.34±0.01 <sup>q</sup>	2.72±0.03 <sup>r</sup>	2.70±0.02 <sup>r</sup>
C18:1n-9	27.97±0.30 <sup>h</sup>	33.65±0.12 <sup>e</sup>	31.14±0.08 <sup>f</sup>	30.52±0.00 <sup>g</sup>
C18:2n-6	47.86±0.04 <sup>b</sup>	47.03±0.34 <sup>c</sup>	46.18±0.07 <sup>d</sup>	49.14±0.01 <sup>a</sup>
C18:3n-6	10.34±0.02 <sup>j</sup>	7.55±0.04 <sup>l</sup>	10.81±0.06 <sup>i</sup>	9.94±0.02 <sup>k</sup>
C20:0	0.40±0.27 <sup>s-w</sup>	0.68±0.42 <sup>s</sup>	0.28±0.08 <sup>u-x</sup>	0.29±0.02 <sup>u-x</sup>
C20:1	0.40±0.05 <sup>s-w</sup>	0.34±0.20 <sup>t-x</sup>	0.50±0.01 <sup>s-u</sup>	0.70±0.03 <sup>s</sup>
Others	0.69±0.27 <sup>b</sup>	0.16±0.04 <sup>d</sup>	1.41±0.39 <sup>a</sup>	0.32±0.08 <sup>c</sup>
SFA**	12.16±0.44 <sup>a</sup>	10.79±0.44 <sup>b</sup>	9.09±0.22 <sup>c</sup>	8.82±0.08 <sup>c</sup>
MUFA	28.71±0.30 <sup>d</sup>	34.18±0.07 <sup>a</sup>	32.10±0.07 <sup>b</sup>	31.44±0.00 <sup>c</sup>
PUFA	58.21±0.06 <sup>b</sup>	54.58±0.38 <sup>d</sup>	56.99±0.13 <sup>c</sup>	59.08±0.03 <sup>a</sup>

\*Means followed by different superscripts across the table are significantly different at  $\alpha=0.05$ . \*\*SFA, MUFA and PUFA are saturated, mono- and poly-unsaturated fatty acids, respectively.

### TPC, TFC and DPPH Values of Mesocarp and Exocarp Tissues in *Elaeagnus* Varieties

Mesocarp tissues of *Elaeagnus* varieties are generally consumed after exocarp tissues (peels) were removed. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of mesocarp and exocarp tissues of four different

*Elaeagnus* varieties are shown in Table 4. Current study showed that mesocarp tissues were a better source of total phenolics than exocarp tissues in general. Varietal differences were found among total phenolic and flavonoid contents of mesocarp and exocarp tissues. Among mesocarp tissues, Sugar variety had the highest total phenolic content (161.9 mg GAE/100 g of dm)

( $p < 0.05$ ). Mesocarp and endocarp tissues of Hurma variety had a similar TPC value ( $p > 0.05$ ). In terms of flavonoid content, exocarp tissues of Native variety had the highest value (216.5 mg CE/ 100 g of dm).

Mesocarp tissues of Sugar variety had the highest antioxidant value (118.3  $\mu\text{mol TE/g}$  of dm) followed by the Red variety.

Table 4. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of mesocarp and exocarp tissues of four different *Elaeagnus* varieties

Elaeagnus variety	Part of fruit	Total phenolic content* (mg GAE/100 g of dw)	Flavonoid content (mg CE/100 g of dw)	Antioxidant activity ( $\mu\text{mol TE/g}$ of dw)
Sugar	Mesocarp	161.9 $\pm$ 4.9 <sup>a</sup>	102.4 $\pm$ 10.5 <sup>cbd</sup>	118.3 $\pm$ 4.8 <sup>a</sup>
	Exocarp	54.2 $\pm$ 11.1 <sup>e</sup>	84.3 $\pm$ 20.6 <sup>cd</sup>	12.4 $\pm$ 3.7 <sup>cd</sup>
Native	Mesocarp	136.6 $\pm$ 7.3 <sup>b</sup>	33.3 $\pm$ 0.4 <sup>ef</sup>	20.7 $\pm$ 8.2 <sup>c</sup>
	Exocarp	113.5 $\pm$ 13.7 <sup>c</sup>	216.5 $\pm$ 4.0 <sup>a</sup>	50.0 $\pm$ 12.2 <sup>b</sup>
Hurma	Mesocarp	46.1 $\pm$ 1.0 <sup>e</sup>	8.01 $\pm$ 0.8 <sup>f</sup>	1.4 $\pm$ 0.6 <sup>d</sup>
	Exocarp	55.4 $\pm$ 13.3 <sup>e</sup>	121.9 $\pm$ 37.8 <sup>bc</sup>	15.3 $\pm$ 0.5 <sup>cd</sup>
Red	Mesocarp	138.7 $\pm$ 10.4 <sup>b</sup>	64.3 $\pm$ 8.9 <sup>de</sup>	50.3 $\pm$ 14.1 <sup>b</sup>
	Exocarp	84.7 $\pm$ 0.7 <sup>d</sup>	135.2 $\pm$ 12.5 <sup>b</sup>	21.6 $\pm$ 1.1 <sup>c</sup>

\*Means followed by different superscripts within a column are significantly different at  $\alpha = 0.05$ .

In a study by Gökbulut [28], fruits and flowers of *Elaeagnus* species were reported to be high in antioxidant activity (0.03-4.64 ABTS and 0.54-4.45  $\mu\text{g}$  Trolox/g of dm) and fruit extracts had a total phenolic content of 0.12-6.39 mg GAE/ g of dm. Saboonchian et al. [11] reported that the methanol extraction of *Elaeagnus* leaves resulted in a total phenolic content of 8.64-10.28 mg GAE 100/g fresh weight (fw) while ethanol extraction was 7.78-10.91. Total phenolic contents of the flower were 5.86-6.36mg GAE/ 100 g of fw in methanol extracts and 4.63-6.24 in ethanol extracts. Leaves had a total flavonoid content of 3.34-3.36 mg QE/ 100 g of fw in methanol extracts and 4.81-5.80 in ethanol extracts. Cansev et al. [8] determined the total phenolic content and antioxidant activity (DPPH assay) of exocarp and mesocarp tissues of *E. angustifolia* L., and reported that methanolic extracts of exocarp and mesocarp tissues had a total phenolic content of 524.40 and 413.95 mg GAE/100 g of fw, respectively. Antioxidant activity of exocarp and mesocarp tissues was about 27 mmol Trolox/g of fw, and the difference in the antioxidant activity of the aqueous, acetone and methanol extracts of both tissues was found insignificant.

In a recent study by Hassanzadeh and Hassanpour [29], total phenolic and flavonoid contents and antioxidant capacities of thirty-eight genotypes of *E. angustifolia* L. from five different locations in Iran were determined. The total phenolic content ranged from 262.4 to 1179.0 mg GAE/100 g of fw in exocarp tissues of *E. angustifolia* L. while it ranged from 250.6 to 850.9 mg GAE/100 g of fw in mesocarp tissues. Flavonoid contents of exocarp tissues were between 23.5 and 313.50 mg CE/100 g of fw while mesocarp tissues had a flavonoid content ranging from 16.5 to 266.3 mg CE per 100 g fw. In general, the flavonoid contents of mesocarp and endocarp tissues in four native varieties of *E. angustifolia* L. in our study were in good agreement with the results of this recent study. On the other hand, the total phenolic contents of mesocarp and endocarp tissues in four native varieties of *E. angustifolia* L. were lower than those reported by Hassanzadeh and Hassanpour [29].

## CONCLUSION

Results of the current study indicated that four varieties of *E. angustifolia* L. naturally grown in Western Mediterranean Region of Turkey had significant differences in their crude fat contents of endocarp tissues. Fatty acid composition of the endocarp tissues showed that most of the lipids were polyunsaturated while saturated fatty acids were about 10%. In general, mesocarp tissues of the four varieties had a higher total phenolic content than exocarp tissues, but this trend was not evident for the flavonoid content and antioxidant activity of these varieties of *E. angustifolia* L. Containing highly unsaturated fatty acids, lipids of the endocarp tissues of *E. angustifolia* L. could be utilized in food, feed and cosmetic industries.



## REFERENCES

- [1] Dirr, M. (1990). Manual of Woody Landscape Plants: Their Identification, Ornamental Characteristics, Culture, Propagation and Uses, Stipes Publishing Company, Champaign, Illionis, USA, pp. 301-306.
- [2] McKean, D.R. (1982). In Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 7, (Ed. P. H. Davis), Edinburgh University Press, Edinburgh, pp. 533-534.
- [3] Baytop, T. (1984). Curing by Plants in Turkey (Past and Present). Istanbul University Press, No. 3255, Faculty of Pharmacy, No. 40, Istanbul, pp. 260.
- [4] Carman, J.G., Brotherson, J.D. (1982). Comparisons of sites infested and not infested with saltcedar (*Tamarix pentandra*) and Russian olive (*Elaeagnus angustifolia*). *Weed Science*, 30, 360-364.
- [5] Kalyoncu, I.M., Ersoy, N., Yılmaz, M.A. (2008). Research on the effects of some hormone and relative humidity levels on rooting of softwood top cuttings of Russian olive (*Elaeagnus angustifolia* L.) determined by the selection of breeding. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3(1), 9-18.

- [6] Anonymous (2017). [https://www.eyasamrehberi.com/photo/meyva\\_agac\\_lari/igde.htm](https://www.eyasamrehberi.com/photo/meyva_agac_lari/igde.htm) (accessed on 19.11.2017).
- [7] Hays Jr., J.F. (1990). Wildlife considerations in windbreak renovation. In: Great Plains Agricultural Council, Compiler. Windbreaks: Living with the wind: Proceedings, Windbreak Renovation Workshop, pp. 23-25.
- [8] Cansev, A., Sahan, Y., Celik, G., Taskesen, S., Ozbey, H. (2011). Chemical properties and antioxidant capacity of *Elaeagnus angustifolia* L. fruits. *Asian Journal of Chemistry*, 23(6), 2661-2665.
- [9] Ercisli, S., Orhan, E. (2007). Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food Chemistry*, 103, 1380-1384.
- [10] Güler, N., Liman, B.C. (2005). The investigation of vitamin B12, folic acid and biotin content of different plant species by enzyme immuno assay. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 14(3), 184-190.
- [11] Saboonchian, F., Jamei, R., Sarghein, S.H., (2014). Phenolic and flavonoid content of *Elaeagnus angustifolia* L. (leaf and flower). *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 4, 231-238.
- [12] Shariff, Z.U. (2001). Modern herbal therapy for common ailments, Spectrum Books Ltd., Ibadan, Nigeria in Association with Safari Books Ltd. Nature Pharmacy Series, UK, 1, 9-84,
- [13] Akgül, M., Akça, M. (2014). Chemical analysis in Russian olive wood (*Elaeagnus angustifolia* L.) and barks. II. National Mediterranean Forest and Environment Symposium: The future of Mediterranean forests: Sustainable society and environment, Isparta, Turkey.
- [14] Ge, Y., Liu, J., Su, D. (2009). *In vivo* evaluation of the anti-asthmatic, antitussive and expectorant activities of extract and fractions from *Elaeagnus pungens* leaf. *Journal of Ethnopharmacology*, 126, 538-542.
- [15] Peterson, G.W. (1976). Disease of Russian olive caused by *Botryodiplodia theobromae*. *Plant Disease Reporter*, 60, 490-494.
- [16] Gülcü, S., Çelik-Uysal, S. (2010). The effects of seedling density on morfological characteristics of oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) seedlings. *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, A(2), 74-81.
- [17] Shaw, D.L. (1988). The design and use of living snow fences in North America. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 22(23), 351-362.
- [18] Carrol, R.B., Morehart, A.L., Stuart, M. (1976). Phomopsis canker of Russian-olive in Delaware. *Plant Disease Reporter*, 60, 787-788.
- [19] Krupinsky, J.M., Frank, A.B. (1986). Effects of water stress on Tubercularia canker of Russian olive. *Great Plains Agriculture [i.e. Agricultural] Council Publication*, 117, 171-172.
- [20] Seçilmiş Canbay, H., Bardakçı, B. (2011). Determination of fatty acid, C, H, N and trace element composition in grape seed by GC/MS, FTIR, elemental analyzer and ICP/OES. *SDU Journal of Science*, 6, 140-148.
- [21] Vernon, L.S., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- [22] Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.
- [23] Thaipong, K., Boonprakop, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrne, D.H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669-675.
- [24] Akbolat, S., Ertekin, C., Menges, H.O., Guzel, E., Ekinci, K. (2008). Physical and nutritional properties of oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) growing in Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 20(3), 2358-2366.
- [25] Bartha, D. Csiszár, A. (2008). Russian Olive (*Elaeagnus angustifolia* L.). In: The most important invasive plants in Hungary, edited by Zoltán Botta-Dukát and Lajos Balogh, Institute of Ecology and Botany, Hungarian Academy of Sciences, Vácrátót, Hungary, pp. 85-93.
- [26] Kadir, M., Kuerban-Jiang, B. (2011). Research on fat and protein compositions in seeds of wild *Elaeagnus angustifolia* from Xinjiang Uigur Autonomous Region. *Medicinal Plants*, 2, 51-53.
- [27] Yıldırım, I., Gökçe, Z., Yılmaz, Ö. (2015). The investigation of biochemical content of *Elaeagnus angustifolia*. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 2(1), 34-41.
- [28] Gökbulut, İ. (2014). Volatile composition, antimicrobial and antioxidant properties of different parts from *Elaeagnus angustifolia* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(6), 1187-1202.
- [29] Hassanzadeh, Z. Hassanpour, H. (2018). Evaluation of physicochemical characteristics and antioxidant properties of *Elaeagnus angustifolia* L. *Scientia Horticulturae*, 238, 83-90.



## Changes in Emulsifying Properties, Droplet Size, Turbidity and Lipid Oxidation of Pea Protein Nanoemulsions Exposed to High-Intensity Ultrasound and High-Pressure Homogenization during Storage

Gulcin Yildiz  

İğdır University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, 76000, İğdır

Received (Geliş Tarihi): 29.03.2022, Accepted (Kabul Tarihi): 24.10.2022

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [gulcn86@gmail.com](mailto:gulcn86@gmail.com) (G. Yildiz)

☎ +90 476 223 0010 (4121) 📠 +90 476 223 0017

### ABSTRACT

The current work was conducted to explore the influence of two non-thermal technologies (high pressure homogenization (HPH) and high-intensity ultrasound (HIU)) on emulsifying properties, droplet size, turbidity and lipid oxidation of pea protein-stabilized nanoemulsions (PPNs) during seven days of storage. The smallest droplet size (198.3 nm) was obtained for the samples exposed to 10 min HIU at 100% amplitude among all treatments. The same sample also showed the least lipid oxidation (98 mmol/kg) during storage. There was a positive relationship between droplet size and turbidity values. All HIU-treated PPNs exhibited less turbidity and smaller droplet size where the control PPN samples demonstrated the most turbid structure (4.05) with the biggest droplet size (413.9 nm). Similar positive relationship was also found between the variables of droplet size and lipid oxidation. All HIU-treated PPNs exhibited less lipid oxidation and smaller droplet size where the control PPNs demonstrated the most lipid oxidation with the biggest droplet size. Last but not least, among the treatments, the PPNs exposed to 10 min HIU at 100% amplitude showed the highest emulsifying activity index (EAI, 212 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>) and emulsifying stability index (ESI, 59 min), whereas the PPNs with no treatment showed the lowest EAI (69 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>) and ESI (21 min).

**Keywords:** High intensity ultrasound, high pressure homogenization, emulsifying properties, lipid oxidation, pea protein nanoemulsion

### Yüksek Yoğunluklu Ultrason ve Yüksek Basıncılı Homojenizasyona Maruz Bırakılan Bezelye Proteini Nanoemülsiyonlarının Depolanması Sırasında Emülsifiye Edici Özellik, Parçacık Boyutu, Bulanıklık ve Lipid Oksidasyonundaki Değişimler

### ÖZ

Mevcut çalışmada, ısıl olmayan iki teknolojinin (yüksek basınçlı homojenizasyon (HPH) ve yüksek yoğunluklu ultrason (HIU)) bezelye proteini nanoemülsiyonunun (PPN) emülsiyonlaştırma özellikleri, parçacık boyutu, bulanıklık ve lipid oksidasyonu üzerindeki etkisi 7 günlük depolama süresince araştırılmıştır. Tüm muameleler arasında %100 genlikte 10 dakikalık HIU'ya maruz bırakılan numuneler en küçük parçacık boyutunu sergilemiştir (198.3 nm). Aynı örnek, 7 günlük depolama sırasında en az lipid oksidasyonunu göstermiştir (98 mmol/kg). Parçacık boyutları ile bulanıklık arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir. HIU ile muamele edilmiş tüm PPN'ler daha az bulanıklık ve daha küçük parçacık boyutu sergilerken, kontrol PPN numuneleri en bulanık yapıyı (4.05) ve en büyük parçacık boyutunu (413,9 nm) sergilemiştir. Parçacık boyutu ve lipid oksidasyonu değişkenleri arasında da benzer pozitif bir ilişki bulunmuştur. HIU ile muamele edilmiş tüm PPN'ler, daha düşük lipid oksidasyonu ve daha küçük damlacık boyutu sergilerken, kontrol PPN'leri, en büyük damlacık boyutuyla en yüksek lipid oksidasyonunu göstermiştir. Son olarak, muameleler

arasında, %100 genlikte 10 dakika HIU'ya maruz kalan PPN'ler en yüksek EAI'yi ( $212 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ) ve ESI'yi (59 min) gösterirken, kontrol PPN'ler en düşük EAI'yi ( $69 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ) ve ESI'yi (21 min) göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Yüksek yoğunluklu ultrason, yüksek basınçlı homojenizasyon, emülsifiye edici özellikler, lipid oksidasyonu, bezelye proteini nanoemülsiyonu

## INTRODUCTION

Legumes are not expensive and a high-quality source for foods compared to animal sources. They include high quantity of protein sources, dietary fiber, mineral substances and various vitamins. Today, soybean proteins are the most utilized and searched pulse proteins on the markets. The alternative potential legume protein has the identical and/or similar functional characteristics and nutritional properties as soy protein. Those alternative protein sources are needed to also have a price competitive to that of soybean proteins. An alternative pulse protein which is told to have a big potential for food processes are pea protein products. Pea proteins are also lesser in anti-nutritional compounds rather than soy proteins, and are not identified as an allergen (like soy and egg protein sources). Pea proteins are one of the few hypoallergenic plant protein sources with no genetic modification issues. Pea protein isolates (PPIs) are natural emulsifiers along with high nutritional quality. However, the application of PPI in food sources is limited because of its relatively poor solubility and functional properties [1].

Various methodologies have been promoted to alter the native protein structure for the purpose of improvement of the functionality. Modified pea proteins exhibit a very high level of functionality capacity. By molecular and physical alterations, it is achievable to reorganize protein compounds so that they develop into more practical and useful form. Both high-intensity ultrasound (HIU) and high pressure homogenization (HPH) applications are novel non-thermal technologies. HIU technology is a cost effective and fast application which has been employed to alter both the structure and functional properties of protein molecules [2, 3, 4]. The impact of HIU treatment is accomplished by the chemical, molecular, and physical consequences of acoustic cavitation. The cavitation mostly defined as a creation, development, and powerful breakdown of tiny droplets in the solution. The cavitation could be the

reason of protein structure modification thanks to hydrogen bonds and hydrophobic cooperation, and falling apart the protein molecules [5]. By taking into account the benefits of HIU and HPH applications such as being a cost-effective, non-toxic, fast and efficient process, it is anticipated to reach a goal of advanced pea protein nanoemulsion functionality by using these applications. In this work, the purpose of the present research is to analyze the impact of HIU and HPH applications on the emulsifying properties, droplet size, turbidity and lipid oxidation of PPNs during a week storage period.

## MATERIALS and METHODS

### Chemicals

Pea protein isolate (PPI, NUTRALYS® S85F, 85% pea protein on dry basis) was provided by Roquette (Geneva, IL, USA). It was stored in a refrigerator at 4 °C before use. Reagents and chemicals were purchased from Bio-Rad (Hercules, CA, USA) and Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

### Nanoemulsion Preparation by HIU and HPH

Oil-in-water (O/W) nanoemulsions were prepared with canola oil and pea protein isolate (PPI). The oil concentration was 0.25 (w/w). Canola oil (5 mL) was mixed with 15 mL PPI and stirred powerfully for a 5 min with a magnetic stirrer. For the achievement of better homogenization, PPN specimens were sonicated at 100% amplitude for 5, 10 and 15 minutes using a VC-750 ultrasound unit (20 kHz, Sonic & Materials, Inc., Newton, CT, USA). In addition, The HPH application was employed via a high-pressure homogenizer (APV two stage homogenizer; SPX Flow Technology, Denmark) at 8000 psi for 5,10 and 15 minutes. The conditions for HIU and HPH applications (Table 1) and the processing steps of PPN production for each treatment were listed in Table 2.

Table 1. The description of the PPNs and treatments

Sample name	Treatment
Control	Untreated PPN, no ultrasound
PPN-HIU5	HIU treatment with 5 min at 100% amplitude
PPN-HIU10	HIU treatment with 10 min at 100% amplitude
PPN-HIU15	HIU treatment with 15 min at 100% amplitude
PPN-HPH5	HPH treatment with 5 min at 8000 psi
PPN-HPH10	HPH treatment with 10 min at 8000 psi
PPN-HPH15	HPH treatment with 15 min at 8000 psi

Table 2. The processing steps of PPN production for each treatment (“Q” displays the stages applied and “-” displays the stages that were not applied)

Treatment	Stirring (5 min)	HIU (5 min)	HIU (10 min)	HIU (15 min)	HPH (5 min)	HPH (10 min)	HPH (15 min)
Control	Q	-	-	-	-	-	-
PPN-HIU5	Q	Q	-	-	-	-	-
PPN-HIU10	Q	-	Q	-	-	-	-
PPN-HIU15	Q	-	-	Q	-	-	-
PPN-HPH5	Q	-	-	-	Q	-	-
PPN-HPH10	Q	-	-	-	-	Q	-
PPN-HPH15	Q	-	-	-	-	-	Q

(Control: Untreated PPN; PPN-HIU5: HIU treatment with 5 min at 100% amplitude; PPN-HIU10: HIU treatment with 10 min at 100% amplitude; PPN-HIU15: HIU treatment with 15 min at 100% amplitude; PPN-HPH5: HPH treatment with 5 min at 8000 psi; PPN-HPH10: HPH treatment with 10 min at 8000 psi; PPN-HPH15: HPH treatment with 15 min at 8000 psi)

### Droplet Size and Turbidity

The droplet sizes of PPN were measured following the methodology figured out by Yıldız et al. [5] via dynamic light scattering (DLS) with the assist of NICOP 38 DLS instrument (Santa Barbara, CA, USA). PPNs were diluted 500-fold with deionized H<sub>2</sub>O before achieving DLS analysis. All experiments were conducted at a stable scattering angle of 90° along with the wavelengths of 658 nm at room environment. The average droplet size was achieved as the mean of 3 measurements where each measurement was performed for about a minute.

Turbidity of the PPN dispersions was figured out by a spectrophotometer according to the methodology proposed by Yıldız et al. [5]. DI water was used as the blank, and the absorbance at 600 nm was obtained.

### Emulsifying Characteristics

Emulsifying properties of pea protein nanoemulsions was achieved by the approach of Jiang et al. [6]. Oil in H<sub>2</sub>O suspensions were made with the addition of a mL of canola oil in three mL of the pea protein samples. The ratios of oil concentration were 0.25% (w/w) in this measurement. The combined oil and pea protein concentration solution were stirred harshly for around 5 min and then sonicated for about 5 minutes. After suspension occurrence, the absorbances of the pea proteins were determined at 500 nm at 0 (A<sub>0</sub>) and 10 min (A<sub>10</sub>), subsequently. Both emulsifying activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) were determined by using the following formulas:

$$EAI (m^2/g) = 2T A_0 \times \text{dilution factor} / c \times Q \times L \times 10.000$$

$$ESI (\text{minute}) = A_0 / (A_0 - A_{10}) \times 10 (\text{minute})$$

where T: 2.303, dilution element: 100, c: protein weight per unit volume (g/mL), L: width of the optical pathway (0.01 m), and Q: volumetric oil concentration (0.25).

### Lipid Oxidation

Lipid hydroperoxide values formed at storage of PPN were measured as stated in Min et al. [7]. PPN samples (around 5 mL) were added in a test tubes and let the oxidation under 25°C in the dark. Lipid hydroperoxide

value was determined after mixing 0.3 mL of pea emulsions with 1.5 mL of isooctane/2-propanol (3:1, v/v) via vortexing (around 10 s and 3 times) and isolation of organic solvent parts subsequent to centrifugation at 1000 g for about 2 min. The organic solvent part (200 µL) was mixed into 2.8 mL of methanol/1-butanol (2:1, v/v), and followed by 15 µL of 4 M ammonium thiocyanate and 15 µL of ferrous iron solutions (created via blending 0.15 M BaCl<sub>2</sub> & 0.144 M FeSO<sub>4</sub>). Subsequent to 20 minutes time period, the absorbances of the pea protein solutions were determined at the wavelengths of 510 nm. Lipid hydroperoxide values of the PPN was determined at the days of 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7.

### Statistical Analysis

The results were achieved using the General Linear Model process in SAS (version 9.3, SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA). A significant difference among the mean values was defined by Fisher's least significant difference (LSD) test at alpha = 0.05.

## RESULTS and DISCUSSION

### Droplet Size and Turbidity

Figure 1 displays the findings related to droplet sizes of the PPN samples exposed to HIU and HPH treatments. Both HIU- and HPH-treated PPN samples displayed significantly smaller droplet size in comparison with the control PPNs. Moreover, the smallest droplet size was obtained for the PPN samples exposed to 10 min HIU at 100% amplitude (PPN-HIU10: 198.3 nm). PPN samples treated with HIU for 10 min showed smaller particle size compared to HIU-treated samples for 5 and 15 minutes (Figure 1). An inverse relationship between the droplet size and HIU times was determined for first 10 min. The higher the time (5 to 10 min), the smaller the droplet sizes. It was obviously seen that enhancing US time advances the droplet size of pea protein nanoemulsions. On the other hand, HPH-treated PPN samples also displayed significantly smaller sizes in comparison with the control PPNs. However, they also showed significantly bigger droplet sizes compared to HIU-treated PPN samples. Similar to HIU treatment, increasing HPH time from 5 to 10 min caused a smaller size. While the droplet size was obtained as 306.5 nm for the HPH-treated PPN samples for 5 min (PPN-

HPH5), smaller droplet sizes (279.4 nm) was determined for the HPH-treated PPN samples for 15 min (PPN-HPH15). Increasing HPH time from 5 to 15 min led to smaller droplet size. The unfolding process especially by ultrasound process may cause PPN samples to become more susceptible to break-down. The decline in the droplet sizes of plant protein sources (i.e., soy protein, and pea protein) were reported in previous works [1, 5, 6, 8]. In the study of Jambrak et al. [9] following application with an ultrasonic probe (20 kHz), high intensity ultrasound treatment led to a decrease in droplet size as well as narrowed their distribution, and significantly raise specific free surface ( $p < 0.05$ ) in whey protein specimens. When the use in protein suspensions, ultrasound treatment was expressed to significantly lower the droplet sizes of protein samples [3]. Moreover, Karki et al. [10]

determined that the droplet sizes of defatted soy flakes samples were decreased approximately 10-fold after ultrasound application. It was figured out that the cavitation may be the explanation of the breakage of protein aggregates, and decline in the droplet size [11, 12]. Gordan and Pilosopf [13] accomplished to control particle size via high intensity ultrasound by merging several treatment periods, temperatures and ratios of protein dispersions. Ultrasound process develops a new surface and makes lower the sizes of the aggregates [14]. In this case, the protein droplet sizes are decreased due to the cavitation phenomena. This involves the degradation of protein aggregates and agglomerates. Ultrasonic cavitation is very efficient to break up protein substances and smaller particle aggregates the van der Waals's forces [9].

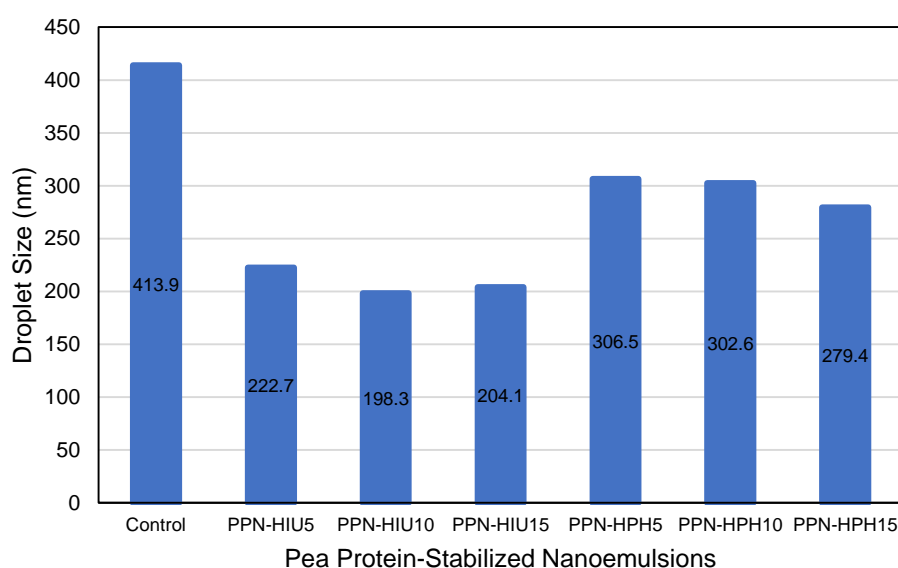


Figure 1. Droplet sizes (nm) of the pea protein-stabilized nanoemulsions (Control: Untreated PPN; PPN-HIU5: HIU treatment with 5 min at 100% amplitude; PPN-HIU10: HIU treatment with 10 min at 100% amplitude; PPN-HIU15: HIU treatment with 15 min at 100% amplitude; PPN-HPH5: HPH treatment with 5 min at 8000 psi; PPN-HPH10: HPH treatment with 10 min at 8000 psi; PPN-HPH15: HPH treatment with 15 min at 8000 psi)

The turbidity findings of PPN specimens are demonstrated in Figure 2. The highest decline in turbidity values was determined for the samples treated with HIU for 10 min at 100% amplitude (PPN-HIU10 samples). While the highest turbidity was obtained for the untreated PPN (4.05), the lowest turbidity was observed for the PPN-HIU10 samples (2.17). There is a positive relationship between the variables of droplet sizes and turbidities. All HIU- and HPH- treated PPN specimens showed less turbidity and smaller droplet size where the control PPN samples exhibited most turbid appearance and the biggest droplet size (Figure 2). In overall, PPN-HIU10 samples showed the smallest droplet size (198.3 nm) and least turbidity (2.17) compared to HPH-treated PPN samples. Both the number of soluble protein components in the dispersion figured out by solubility and the size of the soluble protein components determine the turbidities of protein dispersions [15]. Employing the HIU at 20 kHz raised the clearness and transparency of protein suspensions

mostly because of the decrease in the size of the suspended insoluble protein components [16].

### Emulsifying Properties

Table 3 shows the EAI and ESI of PPN samples treated with HIU and HPH treatments. It was found that the PPN samples treated with 10 min HIU at 100% amplitude resulted with the highest EAI ( $212 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ) and ESI (59.0 minutes), while the PPNs with no HIU and/or HPH treatments exhibited the lowest EAI ( $69 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ) and ESI (21.0 min). Similar progression in the emulsion characteristics of proteins with HIU process was pointed out in the works of Yildiz et al. [5]. It is possible to see an inverse relationship between droplet size and emulsifying properties (Table 3). Basically, the PPN samples with the smallest droplet size, namely PPN-HIU10 samples, showed the highest ESI and EAI. On the other hand, HPH-treated PPN samples showed significantly higher EAI and ESI in comparison with control PPN samples (Table 3). PPN-HPH15 samples

where PPN exposed to HPH treatment with 15 min at 8000 psi showed the highest EAI and ESI among the HPH-treated PPNs. However, HIU-treated PPN samples showed better emulsifying characteristics compared to

HIU-treated PPN samples. In overall, the use of HIU treatment, especially for 10 min, was resulted with an enhanced emulsifying property (ESI and EAI).

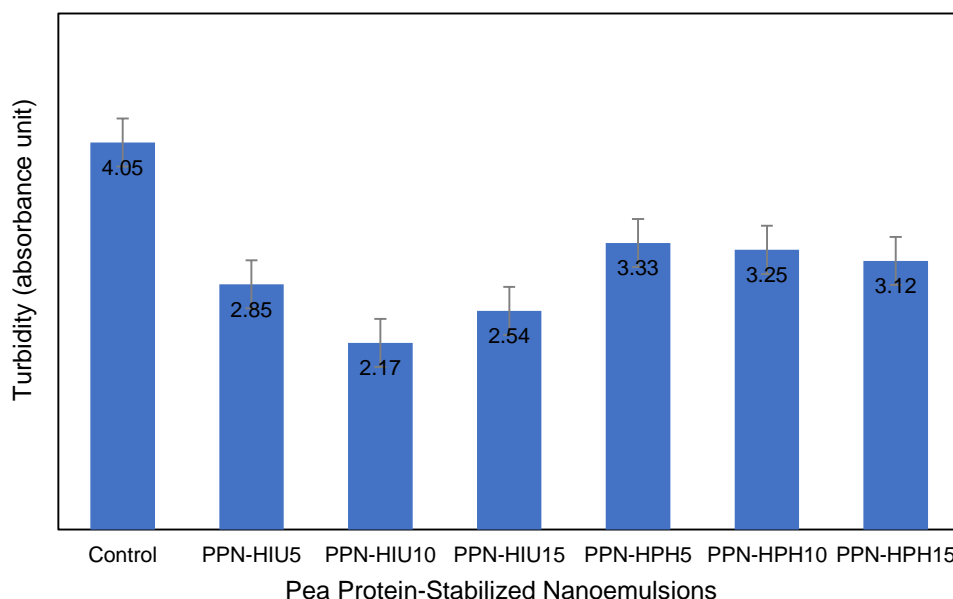


Figure 2. Turbidity values (absorbance at 600 nm) of the pea protein-stabilized nanoemulsions (Control: Untreated PPN; PPN-HIU5: HIU treatment with 5 min at 100% amplitude; PPN-HIU10: HIU treatment with 10 min at 100% amplitude; PPN-HIU15: HIU treatment with 15 min at 100% amplitude; PPN-HPH5: HPH treatment with 5 min at 8000 psi; PPN-HPH10: HPH treatment with 10 min at 8000 psi; PPN-HPH15: HPH treatment with 15 min at 8000 psi)

Table 3. EAI and ESI of PPN samples treated with HIU and HPH treatments

Treatment	EAI (m <sup>2</sup> /g)	ESI (min)
Control	69±0.3 <sup>f</sup>	21.0 <sup>f</sup>
PPN-HIU5	198±1.2 <sup>c</sup>	46.0 <sup>c</sup>
PPN-HIU10	212±0.3 <sup>a</sup>	59.0 <sup>a</sup>
PPN-HIU15	205±2.1 <sup>b</sup>	51.0 <sup>b</sup>
PPN-HPH5	144±1.6 <sup>e</sup>	33.0 <sup>e</sup>
PPN-HPH10	175±0.5 <sup>d</sup>	38.0 <sup>d</sup>
PPN-HPH15	178±1.6 <sup>d</sup>	39.0 <sup>d</sup>

<sup>a-f</sup> Mean ± standard deviation (n=3) of feature with the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ); \*All the statistics were done separately for all and each variable (Emulsifying activity index (EAI), Emulsifying stability index (ESI)); (Control: Untreated PPN; PPN-HIU5: HIU treatment with 5 min at 100% amplitude; PPN-HIU10: HIU treatment with 10 min at 100% amplitude; PPN-HIU15: HIU treatment with 15 min at 100% amplitude; PPN-HPH5: HPH treatment with 5 min at 8000 psi; PPN-HPH10: HPH treatment with 10 min at 8000 psi; PPN-HPH15: HPH treatment with 15 min at 8000 psi)

### Lipid oxidation

Lipid hydroperoxide value of the pea protein nanoemulsions with oil concentration of 0.50% for 7-days (168 h in total) of storage period under 25°C is demonstrated in Figure 3. No oxidized lipid particles were measured for the first day for all PPN samples including untreated PPN samples. Starting from the second day, the lipid oxidation was started to defined. Significant increases in lipid oxidation beginning from the 2<sup>nd</sup> days to last days for control PPN samples were determined. The tendency of pea proteins' role as a chemical stopper for the purpose of delay lipid oxidation is proved at the first 6 days of storage period for PPN-HIU10 samples. For the PPN samples treated with 10 min HIU at 100% amplitude, no oxidized lipids were

observed until the day of 6 (Figure 3). The lipid oxidation was detected in 7<sup>th</sup> days for the first time for PPN-HIU10 samples. On the other hand, while the lipid oxidation for PPN-HIU5 samples was observed in the sixth and seventh days, it was observed in the 5<sup>th</sup>, 6<sup>th</sup>, and 7<sup>th</sup> days for PPN-HIU15 samples. HPH-treated PPN samples compared to HIU-treated PPN samples showed higher and earlier lipid oxidation. The lipid oxidation was detected for PPN-HPH5, PPN-HPH10 and PPN-HPH15 samples starting from 4<sup>th</sup> days. It can be concluded that the encapsulation of secondary metabolites with the pea protein nanoemulsions might be conducted within 144 hours (6 days) subsequent to preparation of pea protein nanoemulsions, right before oxidation stage of oil used in the nanoemulsion.

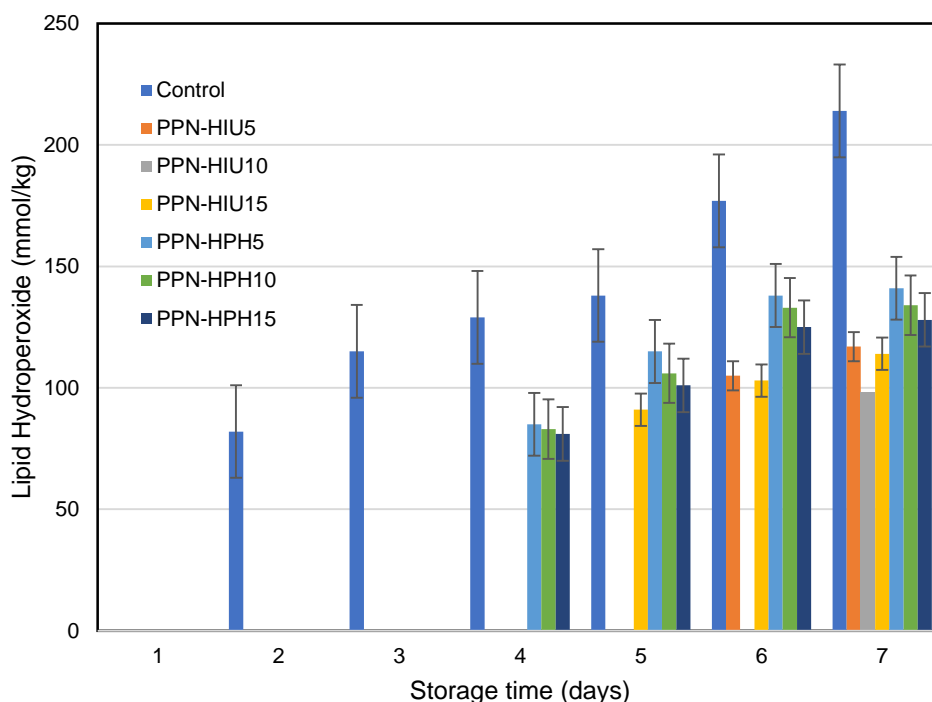


Figure 3. Lipid hydroperoxide values of pea protein-stabilized nanoemulsions during storage at 25°C for 7 days (Control: Untreated PPN; PPN-HIU5: HIU treatment with 5 min at 100% amplitude; PPN-HIU10: HIU treatment with 10 min at 100% amplitude; PPN-HIU15: HIU treatment with 15 min at 100% amplitude; PPN-HPH5: HPH treatment with 5 min at 8000 psi; PPN-HPH10: HPH treatment with 10 min at 8000 psi; PPN-HPH15: HPH treatment with 15 min at 8000 psi)

## CONCLUSIONS

HIU and HPH treatments were examined for the purpose of modification and enhancement of the PPN functionality. Compared with HPH treatment, a significant improvement in the emulsifying properties, droplet size, turbidity and lipid oxidation of PPN samples was achieved with a PPN-HIU10 treatment. Overall, PPN-HIU10 (pea protein nanoemulsions treated with high-intensity ultrasound for 10 min at 100% amplitude) is a promising treatment to strengthen the functional characteristics of PPNs as indicated within the present study by its ability to smaller droplet size, less turbidity and lipid oxidation, enhanced emulsifying properties right after ultrasonication. The findings of current research proved the potential of the PPN-HIU10 treatment as an effective method for the protein modification. The PPNs produced by HIU treatment can be used in a liquid food with less precipitation. In addition, pea protein-stabilized nanoemulsions produced by this method are able to used as a great wall material alternative to animal-based proteins in order to encapsulate secondary metabolites.

## CONFLICT OF INTEREST




The author declares no conflict of interest.

## REFERENCES

- [1] Jiang, S., Yildiz, G., Ding, J., Andrade, J., Rababah, T.M., Almajwal, A., Abulmeaty, M.M., Feng, H. (2019). Pea protein nanoemulsion and nanocomplex as carriers for protection of cholecalciferol (vitamin D3). *Food and Bioprocess Technology*, 12(6), 1031-1040.
- [2] Mason, T.J., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3, 253-260.
- [3] Jambrak, A.R., Mason, T.M., Lelas, V., Herceg, Z., Herceg, I.L. (2008). Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering*, 86, 281-287.
- [4] Chen, L., Chen, J., Ren, J., Zhao, M. (2011). Effects of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties of hydrolysates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6), 2600-2609.
- [5] Yildiz, G., Andrade, J., Engeseth, N.C., Feng, H. (2017). Functionalizing soy protein nano-aggregates with pH-shifting and mano-thermo-sonication. *Journal of Colloid and Interface Science*, 505, 836-846.
- [6] Jiang, S., Ding, J., Andrade, J., Rababah, T.M., Almajwal, A., Abulmeaty, M.M., Feng, H. (2017). Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH-shifting and ultrasound combined treatments. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 835-842.
- [7] Min, H., McClements, D.J., Decker, E.A. (2003). Lipid oxidation in corn oil-in-water emulsions stabilized by casein, whey protein isolate, and soy

- protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1696-1700.
- [8] Lee, H., Yildiz, G., Dos Santos, L.C., Jiang, S., Andrade, J., Engeseth, N.C., Feng, H. (2016). Soy protein nano-aggregates with improved functional properties prepared by sequential pH treatment and ultrasonication. *Food Hydrocolloids*, 55, 200-209.
- [9] Jambrak, A.R., Mason, T.J., Lelas, V., Paniwnyk, L., Herceg, Z. (2014). Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins. *Journal of Food Engineering*, 121, 15-23.
- [10] Karki, B., Lamsal, B.P., Jung, S., van Leeuwen, J., (Hans), Pometto, A.L., III Grewell, D. (2010). Enhancing protein and sugar release from defatted soy flakes using ultrasound technology. *Journal of Food Engineering*, 96(2), 270-278.
- [11] Puppo, M.C., Speroni, F., Chapleau, N., De Lamballerie-Anton, M., Anon, M.C., Anton, M. (2005). Effect of high-pressure treatment on emulsifying properties of soybean proteins. *Food Hydrocolloids*, 19, 289-296.
- [12] Arzeni, C., Martinez, K., Zema, P., Arias, A., Perez, O.E., Pilosof, A.M.R. (2012). Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 463-472.
- [13] Gordon, L., Pilosof, A.M.R. (2010). Application of high-intensity ultrasounds to control the size of whey proteins particles. *Food Biophysics*, 5, 203-210.
- [14] Hu, H., Wu, J., Li-Chan, E.C.Y., Zhu, L., Zhang, F., Xu, X., Fan, G., Wang, L., Huang, X., Pan, S. (2013). Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. *Food Hydrocolloids*, 30(2), 647-655.
- [15] Gregory, J. (1998). Turbidity and beyond. *Filtration & Separation*, 35(1), 63-67.
- [16] Zisu, B., Lee, J., Chandrapala, J., Bhaskaracharya, R., Palmer, M., Kentish, S., Ashokkumar, M. (2011). Effect of ultrasound on the physical and functional properties of reconstituted whey protein powders. *Journal of Dairy Research*, 78, 226-232.
- 
-



## Effect of Temperature and Packaging Method on Bioactive Compounds of Freeze-dried Red Beet Powder during Storage

Ozgur Aktok , Engin Demiray  

Pamukkale University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Denizli, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 18.10.2022, Accepted (Kabul Tarihi): 22.12.2022

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): edemiray@pau.edu.tr (E. Demiray)

 +90 258 296 3090  +90 258 296 3262

### ABSTRACT

In this study, the effect of two different storage temperatures (4 and 25°C) and two different packaging techniques (normal atmosphere (NAP) and modified atmosphere (MAP)) on some quality properties of freeze-dried red beet powder during storage for 28 days. Color, total phenolic content, total antioxidant activity and betanin analyses were performed weekly during storage. The L\*, a\*, b\*, chroma and hue angle values of all samples stored at low temperature and room temperature decreased during storage while their ΔE values increased. At the end of the storage, a loss between 1.20 and 2.30% occurred in the total phenolic contents of powder samples. The highest antioxidant activity value was determined in MAP samples stored at low temperature, and the lowest antioxidant activity value in NAP samples stored at room temperature. Losses in the betanin contents of NAP and MAP samples stored at room temperature were 12.02 and 10.14%, respectively. In samples stored at low temperature, their loss rates were 2.03 and 0.81%, respectively. In general, the storage condition in which the bioactive compounds of freeze-dried red beet powder suffered the least loss was at low temperature and in samples packaged with a MAP technique.

**Keywords:** Antioxidant activity, Betanin, Freeze-drying, Phenolics, Red beet

### Depolanma Sırasında Sıcaklık ve Paketleme Yönteminin Dondurarak Kurutulmuş Kırmızı Pancar Tozunun Biyoaktif Bileşenleri Üzerine Etkisi

#### Öz

Bu çalışmada, iki farklı depolama sıcaklığının (4 ve 25°C) ve iki farklı paketleme tekniğinin (normal atmosfer (NAP) ve modifiye atmosfer (MAP)) dondurarak kurutulmuş kırmızı pancar tozunun 28 günlük depolanması sırasındaki bazı kalite özelliklerine etkisi incelenmiştir. depolama süresince haftalık olarak renk, toplam fenolik içerik, toplam antioksidan aktivite ve betanin analizleri yapılmıştır. Renk sonuçları incelendiğinde NAP ve MAP koşulları altında 4 ve 25°C'de depolanan tüm numunelerin L\*, a\*, b\*, kroma ve hue açısı değerlerinin düştüğü ve ayrıca ΔE değerlerinin arttığı saptanmıştır. Depolama sonunda örneklerin toplam fenolik içeriğinde %1.20-2.30 oranında kayıp meydana gelmiştir. En yüksek antioksidan aktivite değerinin 4°C'de depolanan MAP numunelerinde, en düşük antioksidan aktivite değerinin ise 25°C'de depolanan NAP numunelerinde olduğu belirlenmiştir. 25°C'de depolanan NAP ve MAP numunelerinde sırasıyla %12.02 ve 10.14 betanin içeriği kaybı meydana gelmiştir. 4°C'de depolanan numunelerde bu kayıp oranları sırasıyla %2.03 ve 0.81 olarak hesaplanmıştır. Genel olarak biyoaktif bileşenlerin en az kayba uğradığı depolama koşulunun düşük sıcaklıkta ve MAP tekniği ile ambalajlanan örneklerde olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan aktivite, Betanin, Dondurarak-kurutma, Fenolikler, Kırmızı pancar



## INTRODUCTION

Red-colored vegetables are quite important in terms of nutrition with their essential vitamin and mineral contents. In addition, being a source of fiber has made it widely consumed in a variety of cultures and climates. Red-colored vegetables, containing high amounts of antioxidants, scavenge free radicals that are harmful to the body and have protective properties against cardiovascular diseases and cancer [1]. Red beet (*Beta vulgaris* L.) is a tuberous plant belonging to the *Chenopodiaceae* family which can grow in all climatic conditions. By means of the carotenoids, ascorbic acid, phenolic substances and betalains in its structure, the importance of red beet which is rich in minerals is increasing in human nutrition [2]. Red beet, which is consumed in various ways, is used in its fresh form to make salads, fermented carrot juice drinks and pickles, and as a natural colorant in baby foods, ready-made soup mixes and sauces in dried form. Red beet is grown in a wide variety of areas around the world extending to America, Europe and India [1, 2].

Betalains have strong antioxidant, antiviral, anticancer, antilipidemic and antibacterial activities having some positive health effects, and they are divided into main betacyanins (red-violet) and betaxanthins (yellow) according to their structures [2, 3]. The main betacyanins are specified as betanin in beet, and betaxanthins as vulgaxanthin I and II. The color of betanin is pH dependent; it is bright bluish red between 4-5, turning into a blue-violet color as the pH increases. When the pH value reaches levels above 7 (alkaline), betanin is decomposed by hydrolysis and a yellow-brown color is formed. Betanin, being an organic product, has a wide range of uses in the food industry; it is used as a colorant in meat, sausages, ice cream and powdered soft drinks and other confectionery [2, 3].

Being one of the traditional food preservation methods, drying has an important role in food processing. An extended shelf life is obtained for a standard product by the drying process, which basically aims to reduce the water content and water activity in the food. Undesirable enzymatic, chemical, biochemical, textural and sensory changes and microbial spoilage can be controlled by reducing the moisture content of the dried product by 1-5% during drying. It provides an economic advantage since the decrease in weight and volume after drying will reduce packaging, storage and transportation costs [4].

Freeze drying, also known as lyophilization, is a drying method widely used in biotechnology, chemistry, pharmacy and food industry. Freeze drying process is based on the principle of removing the free water from the frozen product by sublimation and the bound water by desorption under low pressure. In the freeze-drying process, during which the water is removed from the structure of the product with the help of vacuum in the solid phase, the texture and shape of the product is less damaged compared to other drying methods, and the valuable components losses such as minerals, vitamins and aroma in the structure of the product are minimized [5, 6].

In this study, it is aimed to obtain red beet powder by freeze-drying method, which could be a product that is easy to transport and store. This powder product can be used as a coloring and flavoring additive in food formulations. For this purpose, the physical and chemical properties of freeze-dried red beets and the obtained powder products were investigated. Besides, in the study, the effects of two different storage temperatures (4°C and 25°C) and two different packaging techniques (normal atmosphere (NAP) and modified atmosphere (MAP)) were also determined regarding the nutrient compounds of freeze-dried red beet during one-month storage.

## MATERIALS and METHODS

### Raw Material

Red beets used in the study were purchased from the local market in Pamukkale district of Denizli, Turkey. Those red beets were brought to the laboratory of the department in cold conditions and in a rapid manner. The samples, which were undergone the selection process, were kept in the refrigerator until freeze-drying. Before starting the freeze-drying process, the initial moisture content of the red beets used in the experiments was determined by keeping them in an oven at 100°C for 24 hours. The dry matter content was found to be 11.32% and the initial moisture content was calculated as 7.834 kg water/kg dry matter.

### Chemicals

All chemicals were of analytical grade unless stated. Solvents used in antioxidant assays were of HPLC grade. Gallic acid and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) were purchased from Fluka (Switzerland) while sodium carbonate was from Riedel-de Haen (Germany). Folin-Ciocalteu reagent was purchased from Merck (Germany). Trolox® (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) and betanin standards were obtained from Sigma (St. Louis, MO, USA).

### Methods

#### Freeze-Drying, Packaging and Storage

At least 30 minutes before starting the drying experiments, refrigerated and selected red beets (500±10 g) were allowed to reach the ambient temperature. Then, after the red beets were washed and sorted, their stems were cut. Then the shells were peeled and sliced with a ring-shaped stainless steel knife. A portion of sliced samples was taken and their dry matter content was determined together with the initial amounts of bioactive compounds. The remaining samples were chopped for a minute with a Waring blender (Waring Products Inc., Torrington, CT, USA). Chopped samples were frozen in flasks at -80°C for 24 hours. At the end of this period, samples were placed in a laboratory scale freeze-drier (Labconco FreeZone 2.5 Plus, Kansas City, MO) and freeze-drying was performed. After 24 hours, powder product (about 100 g) was collected and packed in low-density polyethylene bags in NAP and MAP techniques.

Two experimental batches were prepared, namely, NAP: packed with air (20.4% O<sub>2</sub> + 0.83%CO<sub>2</sub> + 78.77%N<sub>2</sub>); MAP: packed with 100%N<sub>2</sub>. These samples were packed and sealed using a semi-automatic packaging machine (DZ-260Seles, Wenzhou Xingye Machinery Equipment Co. Ltd., Beijing, China). Packed samples were stored in a test cabinet (NUVE TK120, İstanbul, Turkey) for a month at different storage temperatures (4 and 25°C). The color values (L\*, a\*, b\*, C, H° and ΔE), total phenolic content, total antioxidant activity and betanin contents of powder products were determined weekly during storage and the changes in these properties were monitored during storage.

### Color Measurements

CIE (International Illumination System-Commission Internationale de l'Éclairage) L\*, a\* and b\* color values of fresh and dried samples were determined from three different points with PCE-CSM1 (PCE Instruments, UK) colorimeter. From L\*, a\* and b\* values measured, C (chroma-color saturation) calculated by the Equation 1, H° (hue angle-color intensity angle) by the Equation 2, and total color change (ΔE) by the Equation 3 [7].

$$C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (1)$$

$$H^{\circ} = \tan^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad (2)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L^*_0 - L^*)^2 + (a^*_0 - a^*)^2 + (b^*_0 - b^*)^2} \quad (3)$$

According to the CIE color coordinate system, L\* value is an indicator of whiteness-blackness, ranges from 0 (black) to 100 (white), a\* value is an indicator of green-red and ranges from -60 (green) to +60 (red), and b\* value is an indicator of blue-yellow ranges from -60 (blue) to +60 (yellow). H° value indicates the quality of the color and 0° or 360° represents red, 90° yellow, 180° green, 270° blue. The chroma value, on the other hand, expresses the vividness and saturation of the color, while the 0 value represents gray achromatic (colorless) colors, the more the value the higher the vividness of the color [7].

### Extraction of Bioactive Compounds

For the analysis of total phenolic content and antioxidant activity in fresh and freeze-dried red beet samples, the extraction process was carried out by modifying the methods specified by Singleton et al. [8] and Thaipong et al. [9]. For the extraction process, firstly, the fresh sample was homogenized with a blender (Waring) and turned into pulp, and the dry samples were crushed into powder by grinding at 10,000 rpm for 20 seconds with a blade grinder (Isolab, Turkey). Fresh or dry samples (3 g) were weighed into Falcon tubes, distilled water (45 mL) was added as extraction solution, and they were extracted in an orbital shaker (SHO-1D, Daihan, Seoul, South Korea) at 200 rpm for 15 min. At the end of the period, the tubes were centrifuged at 9000 rpm for 60 min at 4°C and transferred to amber bottles with a Pasteur pipette. Extracts were stored at -18°C prior to analyses.

### Determination of Phenolic Content

The phenolic content determination of fresh red beet puree and freeze-dried red beet powder was made according to the method suggested by Singleton et al. [8]. Extracts of prepared red beet puree and powders, Folin-Ciocalteu (Merck, Germany). reagent (10%, volume/volume (v/v), in water) and sodium carbonate solution (20%, weight/volume (w/v), in water) were mixed in a test tube and kept at room temperature for 2 hours, and the absorbance of the solutions were read at 760 nm in a spectrophotometer (EMC-11-UV Spectrophotometer, Duisburg, Germany). Gallic acid (3,4,5-trihydroxybenzoic acid) (Fluka, Switzerland) solution was prepared at different concentrations, and the steps performed in the samples were carried out in the same way and a calibration curve was created. By using the calibration curve prepared ( $y=0.0099x+0.0792$  where x is concentration and y is absorbance;  $r^2=0.9999$ ), the total phenolic content of red beet puree or powder was calculated as mg gallic acid equivalent (GAE)/100 g dry matter in red beet puree and powder.

### Determination of Antioxidant Activity

DPPH stock solution was prepared in methanol with a final concentration of 24 mg/100mL. The working solution was prepared with methanol by diluting the stock solution so that the final absorbance to be  $1.20 \pm 0.02$ . The calibration curve was obtained with Trolox®. Trolox® solution was prepared with a concentration of 12.5 mg/25mL and a final concentration of less than 50 µM in the spectrophotometer cuvette for the Trolox® calibration curve. In the experiments, 150 µL of sample or standard 2850 µL of DPPH working solution was mixed in test tubes and the reaction continued for 60 minutes in a dark environment. At the end of the period, the absorbance was read in a spectrophotometer (EMC-11-UV Spectrophotometer, Duisburg, Germany) at a wavelength of 515 nm. Samples that did not fall within the calibration curve range at the end of the reading were diluted until they fell in this range [9].

### Determination of Betanin Contents

According to Slatnar et al. [10], the betanin content of samples was determined by HPLC (High performance liquid chromatography) device with some modifications. For this purpose, fresh or dried samples (3 g) were taken into plastic tubes, and the samples were homogenized for a minute with 45 mL of ultrapure water. Then tubes were centrifuged at 4°C in a centrifuge (Nüve, NF1200R, İstanbul, Turkey) for 60 min at 9000 rpm. After centrifugation, clear supernatant was taken into amber bottles with a Pasteur pipette. Supernatants collected in amber bottles were passed through a 0.45 µm pore diameter membrane filter (Cronus, SMI-Labhut Ltd, Gloucester, United Kingdom) before being injected into the HPLC device. Betanin was defined by comparing the arrival time of the peak in the chromatogram of the samples with the arrival time of the peak in the chromatogram of pure betanin standard. The betanin content of samples was calculated as mg/100 g dry matter according to the standard betanin curve prepared

in the concentration range of 1000-3000 mg/L and the equation defining this curve ( $y=220.95x-26473$  where  $x$  is concentration in mg/L and  $y$  is absorbance;  $r^2=0.9970$ ).

In analyses, a Shimadzu LC-20AD (Japan) model HPLC device and a PDA (photo-diode array) detector were used. In the separation of betanin, acetonitrile and formic acid/ultrapure water (1:99, v/v) were utilized as mobile phase. Separation was performed with a C-18 column (250 × 4.6 mm, ID, 5 mm) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) at a wavelength of 320 nm at a flow rate of 0.25 mL/min. Injection volume was 20 µL, and the column temperature was 35°C. Elution was conducted by using a solvent gradient system containing solvent A (acetonitrile) and solvent B (formic acid and ultra-pure water solution 1:99, v/v). Gradient was as follows: 0–6 min: 97%–84% B, 6–10 min: 84%–50% B and 10–15 min: 50%–97% B.

### Statistical Analysis

Storage studies of freeze-dried samples were carried out in 2 replications. Variance analysis was applied to determine the effects of storage conditions, storage time and their interactions on the color properties, total phenolic content, total antioxidant activity and betanin content of red beet powders, and significant differences were subjected to Duncan multiple comparison test. Statistical analyses were performed using the SAS statistical package program (Version 6.12, SAS Institute, Cary, NC, USA), and the results were given as mean ± standard deviation.

## RESULTS and DISCUSSION

### Effect of Storage Conditions on Color of Freeze-dried Red Beet Powder

Color is one of the most important parameters affecting consumer expectations in dried products. The color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ) of the samples are shown in Table 1. The  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  color values of fresh red beet were  $24.02\pm0.21$ ,  $22.13\pm0.42$  and  $5.07\pm0.33$ , respectively.

The  $L^*$  value of freeze-dried red beet powder was  $24.51\pm0.20$  at the beginning of storage.  $L^*$  values decreased for samples packed with both atmospheric air (NAP) and 100%  $N_2$  gas (MAP) stored at 4 and 25°C. While the maximum decrease occurred in NAP samples stored at 25°C, the least decrease was determined in MAP samples stored at 4°C. In terms of  $L^*$  value, it was shown that it could be appropriate to pack freeze-dried red beet powders with 100%  $N_2$  gas and store them at low temperatures. The  $a^*$  color value, which was  $25.31\pm1.02$  at the beginning of storage, decreased in all samples at the end of storage. But, it was determined that there was a statistically insignificant difference between the  $a^*$  values on the 7th day of storage and the ones on the 28th day of storage, except for the MAP samples stored at 4°C ( $p>0.05$ ). On the 21st and 28th days of storage, there was a statistically insignificant difference in all samples ( $p>0.05$ ). When the  $b^*$  values in Table 1 were examined, it was seen that there is no statistical difference between the 0th day and the 7th day of storage in all samples ( $p>0.05$ ). But, from the 14th day, the  $b^*$  values of all samples were statistically different from  $8.38\pm0.71$  determined at the beginning of storage ( $p<0.05$ ).

Table 1. Changes in color parameters of freeze-dried red beet powder samples during storage

Color parameter	Storage Condition		Storage Period (day)				
	Temperature (°C)	Packaging	0	7	14	21	28
$L^*$	4	NAP	24.51±0.20 <sup>a</sup>	22.60±0.39 <sup>bA</sup>	21.21±0.62 <sup>cA</sup>	21.97±0.78 <sup>bcA</sup>	20.81±0.43 <sup>cdA</sup>
		MAP	24.51±0.20 <sup>a</sup>	23.34±0.98 <sup>abA</sup>	22.88±1.43 <sup>abA</sup>	22.00±0.44 <sup>bA</sup>	21.80±0.57 <sup>bcA</sup>
	25	NAP	24.51±0.20 <sup>a</sup>	20.37±0.46 <sup>bB</sup>	20.45±0.54 <sup>bB</sup>	22.11±1.23 <sup>cA</sup>	19.65±0.55 <sup>bdA</sup>
		MAP	24.51±0.20 <sup>a</sup>	19.67±0.91 <sup>1bB</sup>	25.66±0.57 <sup>cC</sup>	22.47±0.68 <sup>cA</sup>	20.31±0.45 <sup>bA</sup>
$a^*$	4	NAP	25.31±1.02 <sup>a</sup>	23.62±0.67 <sup>bA</sup>	23.69±0.76 <sup>bA</sup>	23.11±1.15 <sup>abA</sup>	22.57±1.37 <sup>bA</sup>
		MAP	25.31±1.02 <sup>a</sup>	25.67±0.82 <sup>ab</sup>	23.19±1.22 <sup>bA</sup>	23.34±0.67 <sup>bA</sup>	23.72±0.66 <sup>bB</sup>
	25	NAP	25.31±1.02 <sup>a</sup>	23.56±1.04 <sup>bA</sup>	22.98±0.76 <sup>bA</sup>	24.54±1.15 <sup>abB</sup>	22.84±1.37 <sup>bA</sup>
		MAP	25.31±1.02 <sup>a</sup>	23.45±1.32 <sup>bA</sup>	21.80±0.81 <sup>cB</sup>	23.47±0.34 <sup>bA</sup>	23.87±0.80 <sup>bB</sup>
$b^*$	4	NAP	8.38±0.71 <sup>a</sup>	7.56±1.51 <sup>abA</sup>	6.67±0.65 <sup>bA</sup>	6.48±0.11 <sup>bA</sup>	5.56±0.88 <sup>bcA</sup>
		MAP	8.38±0.71 <sup>a</sup>	7.32±1.77 <sup>abA</sup>	5.98±0.98 <sup>bB</sup>	6.16±1.61 <sup>abA</sup>	6.35±0.89 <sup>bB</sup>
	25	NAP	8.38±0.71 <sup>a</sup>	8.41±0.73 <sup>ab</sup>	6.67±0.65 <sup>bA</sup>	6.48±0.11 <sup>bA</sup>	5.56±0.88 <sup>bcA</sup>
		MAP	8.38±0.71 <sup>a</sup>	8.98±1.63 <sup>ab</sup>	6.70±0.82 <sup>bA</sup>	6.23±0.76 <sup>bA</sup>	6.39±0.78 <sup>bB</sup>
C	4	NAP	26.66±0.75 <sup>a</sup>	24.80±0.67 <sup>bA</sup>	24.49±0.53 <sup>bA</sup>	24.05±0.44 <sup>bA</sup>	23.38±0.58 <sup>cA</sup>
		MAP	26.66±0.75 <sup>a</sup>	26.69±0.78 <sup>ab</sup>	23.95±0.44 <sup>bA</sup>	24.14±0.68 <sup>bA</sup>	24.56±0.34 <sup>bB</sup>
	25	NAP	26.66±0.75 <sup>a</sup>	25.02±0.59 <sup>bA</sup>	23.93±0.29 <sup>cA</sup>	25.38±0.43 <sup>bB</sup>	23.51±0.49 <sup>cA</sup>
		MAP	26.66±0.75 <sup>a</sup>	25.11±0.50 <sup>bA</sup>	22.81±0.25 <sup>cB</sup>	24.28±0.76 <sup>bA</sup>	24.71±0.73 <sup>bB</sup>
$H^\circ$	4	NAP	18.32±0.78 <sup>a</sup>	17.75±0.43 <sup>aA</sup>	14.71±0.57 <sup>bA</sup>	16.10±0.49 <sup>cA</sup>	15.10±0.65 <sup>bA</sup>
		MAP	18.32±0.78 <sup>a</sup>	15.92±0.52 <sup>bB</sup>	14.46±0.33 <sup>cA</sup>	14.78±0.39 <sup>cB</sup>	14.99±0.58 <sup>cA</sup>
	25	NAP	18.32±0.78 <sup>a</sup>	19.64±0.95 <sup>aC</sup>	16.19±0.62 <sup>bB</sup>	14.79±0.40 <sup>bB</sup>	13.68±0.37 <sup>dB</sup>
		MAP	18.32±0.78 <sup>a</sup>	20.95±0.64 <sup>bc</sup>	17.08±0.36 <sup>cC</sup>	14.87±0.44 <sup>dB</sup>	14.99±0.45 <sup>dA</sup>
$\Delta E$	4	NAP	0	2.68±0.37 <sup>aA</sup>	4.26±0.45 <sup>bA</sup>	3.77±0.51 <sup>bcA</sup>	5.14±0.48 <sup>bdA</sup>
		MAP	0	1.62±0.27 <sup>ab</sup>	3.59±0.52 <sup>bB</sup>	3.89±0.32 <sup>bA</sup>	3.74±0.28 <sup>bB</sup>
	25	NAP	0	4.50±0.41 <sup>aC</sup>	4.98±0.76 <sup>aC</sup>	3.16±0.98 <sup>bB</sup>	6.14±0.44 <sup>cc</sup>
		MAP	0	5.22±0.45 <sup>aD</sup>	4.06±0.57 <sup>bA</sup>	3.49±0.88 <sup>cB</sup>	4.87±0.52 <sup>bA</sup>

<sup>A-D</sup> Means in the same row having a common letter are not significantly different ( $p>0.05$ ). <sup>a-d</sup> Means in the same row having a common letter are not significantly different ( $p>0.05$ ).

At the beginning of storage, the chroma value of samples was  $26.66 \pm 0.75$ . At the end of storage, the chroma value of all samples was between 23 and 25. In general, the chroma value of all samples decreased. The greatest reduction was detected in NAP samples. There was no statistically significant difference in the chroma values of MAP samples calculated between the 21st and 28th days of storage ( $p > 0.05$ ). Considering the Hue angle values in Table 1, it was determined that this value, which was  $18.32 \pm 0.78$  at the beginning of storage, decreased in all samples at the end of storage. As in the chroma value, there was no statistically significant difference in Hue angle values between the 21st and 28th days of storage in the MAP samples ( $p > 0.05$ ). Considering the Hue angle values calculated for the NAP samples, it was seen that there was no statistical difference between the 0th day and the 7th day of storage. The  $\Delta E$  value is an important parameter that indicates the total color change in freeze-dried and stored samples. At the end of storage, while the  $\Delta E$  values of samples were calculated as  $5.14 \pm 0.48$  and  $3.74 \pm 0.28$ , respectively, for NAP and MAP samples stored at  $4^\circ\text{C}$ , it was calculated as  $6.14 \pm 0.44$  and  $4.87 \pm 0.52$  for those samples stored at  $25^\circ\text{C}$ .

As can be seen, the  $\Delta E$  value of samples stored at  $4^\circ\text{C}$  was lower than those stored at  $25^\circ\text{C}$ . This demonstrated that it would be appropriate to store red beet powder at temperatures lower than room temperature. In addition, the  $\Delta E$  values of MAP samples were calculated lower than those of NAP samples at both storage temperatures. As a result, it is thought that the storage of red beet powder, packed with 100%  $\text{N}_2$  gas and at  $4^\circ\text{C}$ , will be important in terms of product color quality.

These results were coincided with some references in the literature to dried some fruit and vegetables. The effects of different temperatures (4, 15, 25, and  $35^\circ\text{C}$ ), package (vacuum and normal pressure) and light/dark conditions on the quality changes of dried apricots during storage for 6 months were investigated [11]. Color values ( $L^*$ ,  $a^*$ , and

$b^*$ ) significantly ( $p < 0.05$ ) decreased with increase of storage temperature, especially at temperatures higher than  $25^\circ\text{C}$  [11]. Besides, the color deterioration accelerated by increased temperature during storage were also found in dried orange juice powder [12].

### Effect of Storage Conditions on Total Phenolic Content of Freeze-dried Red Beet Powder

Table 2 shows changes in the total phenolic content of freeze-dried red beets during storage at different temperatures ( $4^\circ\text{C}$  and  $25^\circ\text{C}$ ) and in packages with different gas contents (NAP and MAP). The initial total phenolic content of freeze-dried red beets was  $369.54 \pm 0.16$  mg GAE/100 g dry matter. Hamid and Nour [13], in their study, dried red beet in the sun, an oven or a freeze-drier. They reported the total phenolic content of sun-dried samples as 34.74 mg GAE/g wet matter. The total phenolic content of oven-dried samples was 33.28 mg GAE/g wet matter while it was 30.19 mg GAE/g wet matter for freeze-dried samples.

At the end of 28 days of storage, a loss between 1.20 and 2.30% in the total phenolic content of freeze-dried red beet powder samples occurred. This decrease in samples stored at  $4^\circ\text{C}$  was less than the samples stored at  $25^\circ\text{C}$ . Namely, the decrease in the total phenolic content of samples increased with an increase in storage temperature. It was determined that the highest total phenolic content loss was in samples packaged with NAP and stored at  $25^\circ\text{C}$ . The least loss was determined in samples packaged at  $4^\circ\text{C}$  and 100%  $\text{N}_2$  (MAP). After 28 days of storage, it was determined that the total phenolic content of NAP and MAP samples stored at  $25^\circ\text{C}$  were not statistically different from each other ( $p > 0.05$ ). At the end of the 28th day, the total phenolic content of NAP and MAP samples were statistically different from each other in those stored at  $4^\circ\text{C}$  ( $p < 0.05$ ).

Table 2. Changes in total phenolic content (mg GAE/100 g DM) during storage of freeze-dried red beets

Storage Period (day)	Storage Condition			
	$4^\circ\text{C}$		$25^\circ\text{C}$	
	NAP	MAP	NAP	MAP
0	$369.54 \pm 0.16^{aA}$	$369.54 \pm 0.16^{aA}$	$369.54 \pm 0.16^{aA}$	$369.54 \pm 0.16^{aA}$
7	$366.67 \pm 1.82^{aA}$	$366.55 \pm 1.16^{aA}$	$367.50 \pm 2.22^{aA}$	$367.01 \pm 1.00^{aA}$
14	$361.44 \pm 2.17^{bA}$	$367.31 \pm 2.57^{aB}$	$366.86 \pm 1.91^{abB}$	$366.08 \pm 0.81^{bB}$
21	$362.57 \pm 2.06^{bA}$	$367.21 \pm 1.22^{aB}$	$365.47 \pm 2.54^{abB}$	$359.90 \pm 2.35^{cC}$
28	$361.45 \pm 3.01^{bA}$	$365.12 \pm 3.14^{aB}$	$361.03 \pm 2.36^{cA}$	$362.79 \pm 2.49^{cA}$

<sup>A-C</sup> Means in the same row having a common letter are not significantly different ( $p > 0.05$ ). <sup>a-c</sup> Means in the same column having a common letter are not significantly different ( $p > 0.05$ ).

### Effect of Storage Conditions on Total Antioxidant Activity of Freeze-dried Red Beet

Total antioxidant activity values of freeze-dried red beet samples were between  $122.47 \pm 1.54$  and  $123.00 \pm 0.09$  mmol TE/100 g dry matter after 28 days of storage (Table 3). The total antioxidant activity values of red beet powder samples packaged in two different atmospheres and

stored at two different temperatures increased compared to the 0th day of storage. This may be due to the formation of secondary compounds with antioxidant activity formed during storage processes. Gokhale and Lele [14] stored red beet powder in polyamide bags at  $27^\circ\text{C}$  for 150 days. They stated that there was an increase of 9.37% in the antioxidant activity value at the end of storage.

Table 3. Changes in total antioxidant activity of freeze-dried red beet powder samples (mmol TE/100g DM) during storage

Storage Period (day)	Storage Condition			
	4°C		25°C	
	NAP	MAP	NAP	MAP
0	120.52±0.44 <sup>AA</sup>	120.52±0.44 <sup>AA</sup>	120.52±0.44 <sup>AA</sup>	120.52±0.44 <sup>AA</sup>
7	122.94±2.11 <sup>BA</sup>	121.92±0.67 <sup>AA</sup>	122.56±1.29 <sup>BA</sup>	121.55±0.81 <sup>AA</sup>
14	122.91±1.58 <sup>BA</sup>	123.24±1.11 <sup>BA</sup>	122.33±1.27 <sup>BA</sup>	123.04±1.10 <sup>BA</sup>
21	122.75±0.21 <sup>BA</sup>	123.88±0.67 <sup>BB</sup>	122.43±0.76 <sup>BA</sup>	123.11±0.49 <sup>BB</sup>
28	122.80±3.01 <sup>BA</sup>	123.00±0.09 <sup>BA</sup>	122.47±1.54 <sup>BA</sup>	122.92±0.18 <sup>BA</sup>

<sup>A-B</sup> Means in the same row having a common letter are not significantly different ( $p>0.05$ ). <sup>a-b</sup> Means in the same column having a common letter are not significantly different ( $p>0.05$ ).

According to the Table 3, the highest antioxidant activity value was determined at the end of 28-day storage for MAP samples stored at 4°C, and the lowest antioxidant activity value was for NAP samples stored at 25°C. It was determined that there was no statistically significant difference between the antioxidant activity values between the 14th and 28th days of storage in the samples stored at 4°C ( $p>0.05$ ). The same is true for samples stored at 25°C.

### Effect of Storage Conditions on Betanin Content of Freeze-dried Red Beet

The initial betanin content of freeze-dried red beet powder was 3582.67±0.21 mg /100 g dry matter. The betanin values of freeze-dried powder samples packaged in different forms during 28-day storage are given in Table 4. It was determined that decreases in their betanin contents were more for the samples stored at room temperature. In NAP and MAP samples stored at 25°C, losses in their betanin contents were 12.02 and 10.14%,

respectively. In samples stored at 4°C, these loss rates were calculated as between 2.03 and 0.81%. By looking at the loss rates, it was seen that MAP samples have the least loss and the NAP samples the most. This showed that, in packaging of freeze-dried red beets it would be appropriate to prefer MAP conditions instead of normal atmosphere conditions. In addition, with the preference of low temperatures as storage temperature, the amount of loss in betanin content will be less. Betanin contents of NAP and MAP samples stored at 4°C after 28 days of storage were not statistically different from each other ( $p>0.05$ ). This means that freeze-dried red beets should be packaged with modified atmosphere packaging technique and also stored at low temperatures in terms of low betanin loss.

Kaur et al. [15] stored red beet powder in HDPE bags at 4°C for 3 months, and betacyanin, betaxanthin and betalain analyses were performed during storage. They stated that there was a loss of 21.03, 17.95 and 21.13% in the betacyanin, betaxanthin and betalain contents of samples, respectively.

Table 4. Changes in betanin contents of freeze-dried red beet powder samples (mg/100g DM) during storage

Storage Period (day)	Storage Condition			
	4°C		25°C	
	NAP	MAP	NAP	MAP
0	3582.67±0.21 <sup>AA</sup>	3582.67±0.21 <sup>AA</sup>	3582.67±0.21 <sup>AA</sup>	3582.67±0.21 <sup>AA</sup>
7	3572.01±0.22 <sup>AA</sup>	3562.25±0.96 <sup>AA</sup>	3552.01±0.15 <sup>BA</sup>	3537.25±0.96 <sup>AB</sup>
14	3512.29±0.82 <sup>CA</sup>	3551.56±0.90 <sup>AB</sup>	3374.29±0.79 <sup>CA</sup>	3412.56±0.96 <sup>BA</sup>
21	3505.83±0.60 <sup>AA</sup>	3515.01±0.99 <sup>AB</sup>	3275.83±0.65 <sup>DC</sup>	3315.01±0.69 <sup>CD</sup>
28	3509.90±0.72 <sup>AA</sup>	3553.53±0.13 <sup>AA</sup>	3151.90±0.12 <sup>EC</sup>	3219.53±0.43 <sup>DC</sup>

<sup>A-D</sup> Means in the same row having a common letter are not significantly different ( $p>0.05$ ). <sup>a-d</sup> Means in the same column having a common letter are not significantly different ( $p>0.05$ ).

### CONCLUSION

When the color values of samples packaged with the NAP and MAP technique, which were stored both at 4°C and at 25°C, were examined during storage, it was determined that there was a significant difference between color values of the 0th and 28th days. The highest total color change ( $\Delta E$ ) was calculated in samples packaged with NAP technique stored at 25°C, and the lowest in samples packaged with MAP technique stored at 4°C. At the end of 28 days of storage, a loss between 1.20 and 2.30% occurred in the total phenolic content of powder samples. The antioxidant activity values of freeze-dried red beet powder samples packaged in two different atmospheres and stored at two different

temperatures increased compared to the 0th day of storage. In NAP and MAP samples stored at 25°C, losses in their betanin content were 12.02 and 10.14%, respectively. In samples stored at 4°C, these loss rates were 2.03 and 0.81%, respectively. Freeze-drying did not cause any significant reduction in color values and bioactive components of red beets. In general, it was determined that the storage condition in which the bioactive compounds suffered the least loss was low temperature and MAP technique.

### ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the Unit of Scientific Research Projects (USRP) of Pamukkale University.

Project number is 2021FEBE039. The authors would express their thanks to Pamukkale University for their kind supports.

## REFERENCES

- [1] Özcan, K., Bilek, S.E. (2018). Kırmızı pancardan renk maddesi üretimi ve stabilitesinin sağlanması. *Akademik Gıda*, 16(4), 439-449.
- [2] Masih, D., Singh, N., Singh, A. (2019). Red beetroot: A source of natural colourant and antioxidants: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 162-166.
- [3] Zia, P., Sunita, M., Sneha, S. (2021). Extraction of natural colour from beet root (*Beta vulgaris*) its phytochemical analysis and antibacterial activity. *EAS Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(4), 80-85.
- [4] Sangamithra, A., Venkatachalam, S., John, S.G., Kuppuswamy, K. (2015). Foam mat drying of food materials: A review. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39, 3165-3174.
- [5] Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: A review. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 311-319.
- [6] Vidinamo, F., Fawzia, S., Karim, M.A. (2021). Effect of drying methods and storage with agro-ecological conditions on phytochemicals and antioxidant activity of fruits: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(2), 353-361.
- [7] Pathare, P.B., Opara, U.L., Al-Said, F.A.J. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 36-60.
- [8] Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- [9] Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrne, D.H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675.
- [10] Slatnar, A., Stampar, F., Veberic, R., Jakopic, J. (2015). HPLC-MS identification of betalain profile of different beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*) parts and cultivars. *Journal of Food Science*, 80(9), 1952-1958.
- [11] Deng, L.Z., Xiong, C.H., Pei, Y.P., Zhu, Z.Q., Zheng, X., Zhang, Y., Xiao, H.W. (2022). Effects of various storage conditions on total phenolic, carotenoids, antioxidant capacity, and color of dried apricots. *Food Control*, 136, 108846.
- [12] Islam, M.Z., Kitamura, Y., Kokawa, M., Monalisa, K. (2017). Degradation kinetics and storage stability of vacuum spray-dried micro wet-milled orange juice (*Citrus unshiu*) powder. *Food and Bioprocess Technology*, 10(6), 1002-1014.
- [13] Hamid, M.G., Nour, A.A.A.M. (2018). Effect of different drying methods on quality attributes of beetroot (*Beta vulgaris*) slices. *World Journal of Science, Technology and Sustainable Development*, 15(3), 287-298.
- [14] Gokhale, S.V., Lele, S.S. (2014). Betalain content and antioxidant activity of *Beta vulgaris*: Effect of hot air convective drying and storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(1), 585-590.
- [15] Kaur, S., Kaur, N., Aggarwal, P., Grover, K. (2021). Bioactive compounds, antioxidant activity, and color retention of beetroot (*Beta vulgaris* L.) powder: Effect of steam blanching with refrigeration and storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), e15247.

## Amperometric Glucose Biosensor Prepared by Using Multi-Walled Carbon Nanotubes/Polythiophene Composite

Derya Kahraman<sup>1</sup> , Songül Şen Gürsoy<sup>2</sup>  <sup>1</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Institute of Applied and Natural Sciences, Division of Chemistry, TR-15030 Burdur, Turkey<sup>2</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Chemistry, TR-15030 Burdur, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 07.08.2022, Accepted (Kabul Tarihi): 12.11.2022

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [ssen@mehmetakif.edu.tr](mailto:ssen@mehmetakif.edu.tr) (S. Şen Gürsoy)

☎ +90 248 213 3030 📠 +90 248 213 3099

### ABSTRACT

In this study, multi-walled carbon nanotubes/polythiophene composite (MWCNTs/PTh) modified glassy carbon electrode was used for the amperometric detection of glucose. Glucose oxidase (GOx) was entrapped by a crosslinking agent on the MWCNTs/PTh composite film synthesized by electrochemical polymerization of thiophene onto MWCNTs. Characterization of composite film was achieved by cyclic voltammetry (CV), fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and scanning electron microscopy (SEM) techniques. The amperometric measurements of electrode was performed at +0.70V vs. SCE, which was the electrooxidation potential of enzymatically produced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The effects of thiophene amount in the composite, pH, temperature and substrate concentration were investigated on the response of enzyme electrode. Optimum pH was 7.0 at room temperature and the response time of enzyme electrode was 25 s. The upper limit of the linear working range was 4.85 mM glucose concentration. The limit of detection of sensor was calculated as 148 µM. The sensitivity of glucose biosensor was determined as 4.39 µA mM<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup>. The value of apparent Michaelis-Menten constant (K<sub>Mapp</sub>) was 1.68 mM according to the Lineweaver-Burk equation. The activation energy of this immobilized enzyme system was 88.92 kJ mol<sup>-1</sup>.

**Keywords:** Polythiophene, Multi-walled carbon nanotube, Glucose, Biosensor, Composite

### Çok Duvarlı Karbon Nanotüpler/Politiyofen Kompozit Kullanılarak Hazırlanan Amperometrik Glikoz Biyosensörü

### ÖZ

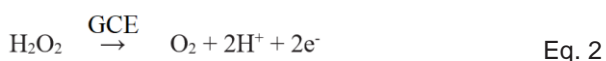
Bu çalışmada, glikozun amperometrik tespiti için çok duvarlı karbon nanotüpler/politiyofen kompozit (MWCNTs/PTh) modifiye camı karbon elektrot kullanılmıştır. Glikoz oksidaz (GOx), tiyofenin MWCNT'ler üzerine elektrokimyasal polimerizasyonu ile sentezlenen MWCNT'ler/PTh kompozit film üzerinde çapraz bağlama ajanı tarafından tutulmuştur. Kompozit filmin karakterizasyonu, döngüsel voltametri (CV), fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskopu (SEM) teknikleri ile yapılmıştır. Elektrodun amperometrik ölçümleri, enzimatik olarak üretilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin elektrooksidasyon potansiyeli olan SCE'ye karşı +0.70V'de gerçekleştirilmiştir. Kompozit içindeki tiyofen miktarı, pH, sıcaklık ve substrat derişiminin enzim elektrodunun tepkisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Oda sıcaklığında optimum pH, 7.0 olarak bulunmuş ve enzim elektrodunun tepkime süresi 25 saniye olarak belirlenmiştir. Lineer çalışma aralığının üst sınırı 4.85 mM glukoz derişimi olarak elde edilmiştir. Sensörün tespit limiti 148 µM olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen glukoz biyosensörünün duyarlılığı 4.39 µA mM<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup> olarak belirlenmiştir. Lineweaver-Burk denklemine göre görünür Michaelis-Menten sabiti (K<sub>Mapp</sub>) değeri 1.68 mM olarak hesaplanmıştır. Bu immobilize enzim sisteminin aktivasyon enerjisi 88.92 kJ mol<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Politiyofen, Çok duvarlı karbon nanotüp, Glikoz, Biyosensör, Kompozit

## INTRODUCTION

Quantitative determination of the amount of sugars such as glucose, which is very important in terms of diabetes and obesity for the food and beverage industry, is very important in terms of quality, storage and food safety. The amount of glucose is determined by conventional analytical methods in routine analysis. These methods can be examined in two main groups as enzymatic and non-enzymatic. Enzymatic ones can be classified as glucose meters and spectrophotometric ones. High performance liquid chromatography (HPLC) and other related methods are among the second group of methods. [1].

Biosensors have recently become one of the most common methods used for glucose determination. Among the glucose sensors prepared using electrochemical methods, enzymatic glucose sensors attract attention due to their simplicity, fast response, sensitivity, high selectivity and cheapness. According to the following reactions (Equations 1 and 2), when glucose reacts with oxygen with the help of glucose oxidase, it forms gluconolactone and hydrogen peroxide.



The resulting  $\text{H}_2\text{O}_2$  is oxidized to form free electrons. Materials modifying the electrode surface are used to provide comfortable passage of electrons that form the electrochemical response. In recent years, enzymatic glucose sensors using conductive polymers, which have a great potential for the immobilization of biomolecules, continue to be studied. Conductive polymers are one of the most suitable materials for enzyme entrapment and mass transfer between solid-liquid phase due to their high surface area and porosity.

Among the conductive polymers, polythiophene and its composites attract attention in many application areas due to their beneficial mechanical and chemical properties. Because these materials have the flexibility to change their chemical structures and redox characteristics required for biosensors. Although polythiophene and its composites are used in gas and pH sensors [2, 3], their use as glucose sensors is very limited [4].

Composite structures resulting from the combination of polythiophene with nanomaterials are used for the development of new generation electrochemical biosensors [5, 6]. This combination, especially with CNTs, has advantages such as high surface area, increased electron transfer, improved electrical conductivity and mechanical properties. [7].

However, polymers weakly attached to the surface of the working electrodes which is significantly reducing the electron transport efficiency [8]. CNTs can modify the

surface for the formation of conductive polymer by improving the bonding on the electrode [9].

The aggregation increment is a limitation for CNT using in biosensor systems. Modifying the surface of CNTs with covalent or non-covalent methods can overcome this limitation [10]. Therefore, in this study, WCNTs were used after functionalization with acid.

To the best of our knowledge, there are no reports on MWCNTs/PTH based glucose sensor in the literature. In this study, the GCE electrode surface was modified by electrochemical synthesis of polythiophene in the presence of MWCNTs. GOx was immobilized on the electrode surface with a crosslinker and the prepared electrode was used as a working electrode in biosensor studies. The synthesized MWCNTs/PTH composite was characterized electrochemically, structurally and morphologically. Glucose biosensor properties were optimized using the amperometric method.

## MATERIALS and METHODS

### Materials

Thiophene (Merck) was purified by distillation at reduced pressure prior to use. Tetrabutylammonium hexafluorophosphate was purchased from Merck. Glucose oxidase (GOx, EC 1.1.3.4, 179,000 units/g, type VII-S from *Aspergillus niger*, Sigma) and 25% Glutaraldehyde (GA) water solution (Aldrich) was used as crosslinking agent. D-(+)-glucose anhydrous (Fluka) were used to test the performance of the developed biosensor. The buffer solution was prepared using  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Riedel De Haen) and NaOH (Riedel De Haen). Alumina polishing suspension agglomerate (0.05cr micron) (Baikowski) was used to polish the electrode surface. Buffer solution was prepared with double-distilled water. All other compounds were of analytical reagent grade.

The modification of MWCNTs was achieved in 96%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ :70%  $\text{HNO}_3$  (3:1) mixture for 2 hours in ultrasonic bath. After that MWCNTs were washed with distilled water and dried in a vacuum oven at 60°C. Polythiophene was synthesized in presence of MWCNTs by using the electrochemical method with three electrode system. Glassy carbon electrode (GCE), saturated calomel electrode (SCE) and Pt wire were used as working, reference and auxiliary electrode, respectively. Polymerization of thiophene and biosensor studies were performed by three-electrode system with potentiostat/galvanostat (CompactStat, Ivium Technologies, Netherlands). FTIR spectra were obtained between 400  $\text{cm}^{-1}$  and 4000  $\text{cm}^{-1}$  with a 4  $\text{cm}^{-1}$  resolution on a Perkin Elmer Frontier (Beaconsfield, Buckinghamshire, HP91QA, England). For SEM analysis, JEOL JSM-7100-F (Zaventem, Belgium) model scanning electron microscope was used.

### Electrode Fabrication

The GCE was polished with alumina polishing suspension, washed with distilled water and dried.



Polymerization of thiophene was achieved in dichloromethane included 5 mg MWCNTs in the presence of tetrabutylammonium hexafluorophosphate as an oxidant.  $n_{ox}/n_{mon}$  was 2. 15 microliter of thiophene was dissolved in this suspension in ultrasonic bath for 5 minutes to obtain a homogeneous solution. Thiophene was polymerized onto MWCNTs by cyclic voltammetry (CV) in the range of 0.0-2.5 V with 5 cycle at room temperature [11]. After polymerization, the electrode was washed several times with dichloromethane to remove remaining monomer molecules.

440  $\mu$ L of phosphate buffer solution (0.1 mol/L, pH 7.4) was used to prepare GOx (2.2 mg) enzyme solution. After that, 2  $\mu$ L of 5% GA solution and 10  $\mu$ L of the enzyme solution were blended completely. 10  $\mu$ L of this solution was dropped on to the MWCNTs/PTh modified GCE electrode. A crosslinking phase was continued during 30 minutes at room temperature. When not used, glucose sensor was stored at 4°C.

### Glucose Detection

Oxygen was passed through the buffer solution to keep it saturated with oxygen during the measurements. MWCNTs/PTh composite modified electrode has been pre-potentiostated at +0.7 V to allow back ground current to set a constant value. After the steady-state current of the system the current due to the electrooxidation of  $H_2O_2$  produced enzymatically at +0.7 V versus SCE in a  $O_2$  saturated phosphate buffer solution during the addition of known amounts of glucose solution was also measured

amperometrically. To optimize the working conditions and to find the best glucose sensing, thiophene amounts and cycling number used for polymer coating were investigated.

## RESULTS and DISCUSSION

### Characterizations

#### FTIR Results

The FTIR spectra of MWCNT and PTh/MWCNT composites are shown in Figure 1. The FTIR spectrum of the PTh/MWCNT composite was examined. The stretching vibration of the C-S bond in the aromatic ring at 705  $cm^{-1}$ , the aromatic C-H stretching vibration at 838  $cm^{-1}$ , C-O stretching vibration at 1073  $cm^{-1}$  and the aromatic C=C stretching vibration of the thiophene ring at 1474  $cm^{-1}$  were observed. Then the FTIR spectrum of MWCNT was evaluated. The aromatic C-H stretching vibration at 800  $cm^{-1}$ , C-O stretching vibration at 1055  $cm^{-1}$ , C=C stretching vibration at 1460  $cm^{-1}$  and finally C=O stretching vibration of the carbonyl group were observed in the range of 1624-1707  $cm^{-1}$  [12]. The peak group around 2900  $cm^{-1}$  in both spectra corresponds to aromatic C-H stresses. When these spectra were examined, vibration peaks of both MWCNT and PTh were found in the spectrum of the composite. This showed that the composite structure was formed.

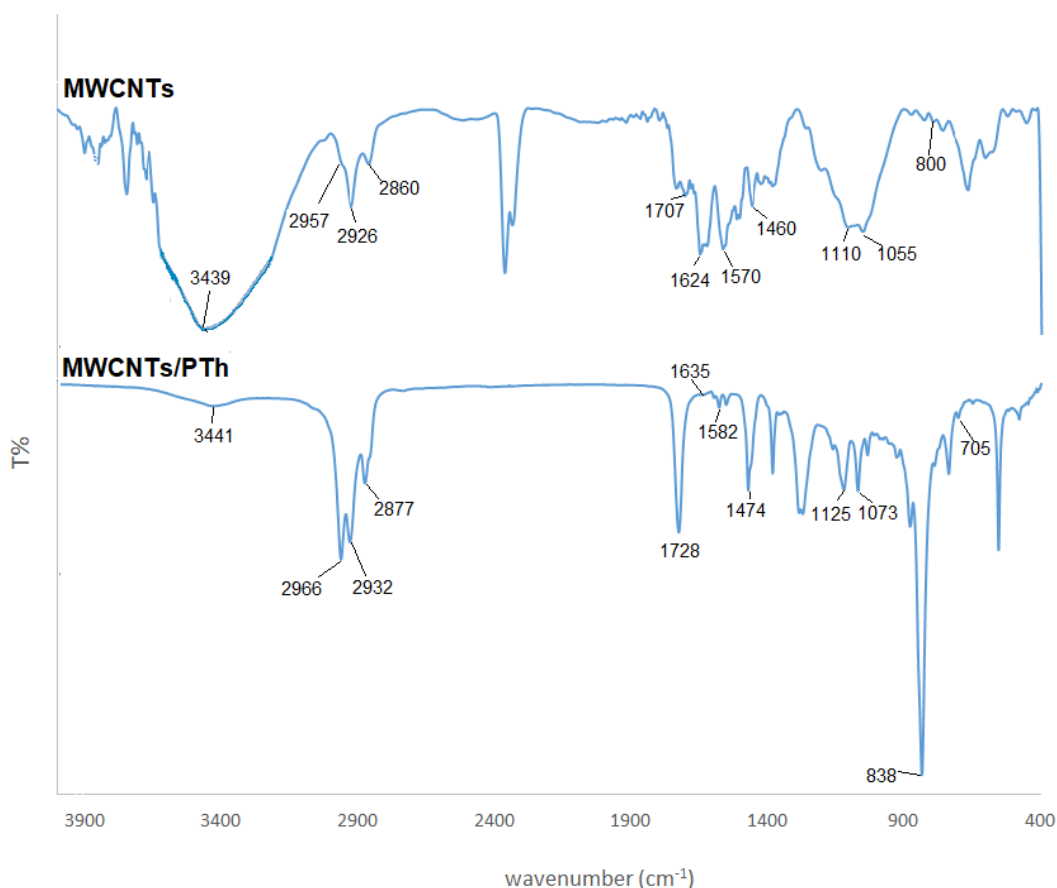


Figure 1. FTIR spectra of MWCNTs and MWCNTs/PTh

Table 1. Characteristic bands of MWCNTs and MWCNTs/PTh

Bands	C=C stretching	C-H bending	C-S stretching	C-O stretching	C=O stretching	O-H stretching
MWCNTs	1460	800	---	1055	1624-1707	3439
MWCNTs/PTh	1474	838	705	1073	1635-1728	3441

## CV Results

CV studies were carried out in unstirred solution at a scan rate of  $50 \text{ mV s}^{-1}$  (Figure 2). The onset point of the MWCNTs/PTh composite started at 1.3 V. This value was

compatible with the polymerization potential of PTh [13]. An increase in oxidation peak current with repeated scans indicated that composite gradually precipitated on the GCE surface [14].

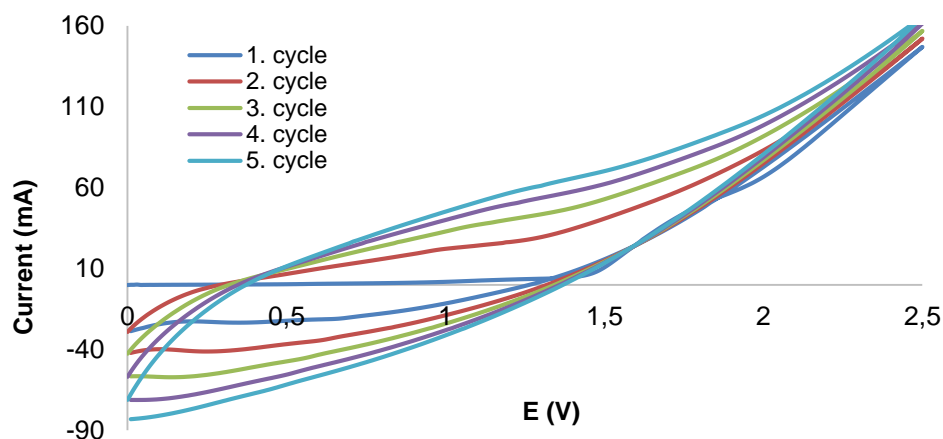


Figure 2. Electrochemical formation of MWCNTs/PTh onto GCE electrode in dichloromethane by cyclic voltametry (CV) in the range of 0.0-2.5 V with 5 cycle at room temperature.

## SEM Results

Figure 3 shows the SEM micrographs of MWCNTs and MWCNTs/PTh composite. SEM results showed that MWCNTs were in micron size and did not form agglomerates. Tubes were apart from each other.

MWCNTs/PTh composite structure showed that the tubes were covered by globular morphology of polythiophene. It could be said that SEM results supported composite formation.

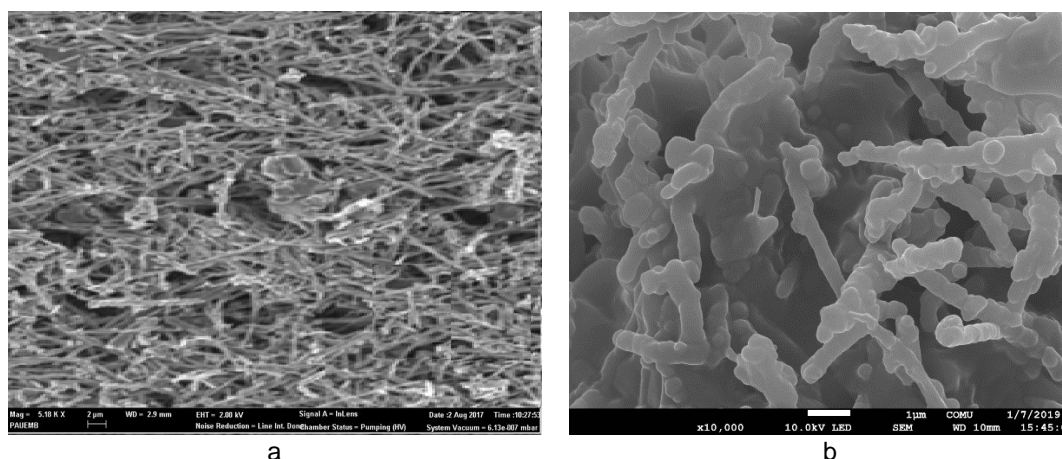


Figure 3. SEM micrographs of MWCNTs (a) and MWCNTs/PTh (b)

## Glucose Sensing Studies

### Effect of Thiophene Amount in Composite

The effect of thiophene amount in the composite on the glucose response was investigated. Results were

evaluated for composite deposition solutions prepared using 10, 15 and 20  $\mu\text{L}$  of thiophene. Composite could not be deposited on the electrode surface for the solution using 20  $\mu\text{L}$  of thiophene. The glucose response for the composite using 10  $\mu\text{L}$  of thiophene was less than the glucose response obtained for the solution containing 15  $\mu\text{L}$  of thiophene. Therefore, in future studies, the amount

of thiophene in the composite deposition solution was used as 15  $\mu\text{L}$ .

### Effect of Number of Coating Cycles

The coatings were made for the synthesis of MWCNTs/PTh composite on the GCE electrode by applying CVs at a scanning rate of 50 mV, in the range of

0-2.5 volts, and at 3, 5 and 7 cycles. Electrodes were used as working electrodes for the amperometric determination of glucose at 0.7 volt. The current values obtained for each electrode were compared and the highest current value was found for the electrode coated with composite with deposited by 5 cycles. In subsequent studies, 5 was used as the number of coating cycles.

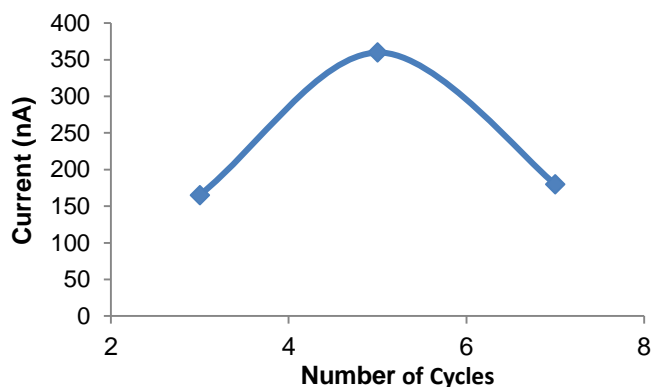


Figure 4. Effect of the number of coating cycles

### Effect of pH

The pH value is another parameter that affects the current response of the enzyme electrode. The pH dependence of the response of the MWCNTs/PTh composite modified enzyme electrode was investigated using the chronoamperometric method in 0.1 M phosphate buffer. A fresh enzyme electrode was prepared for each pH

value to eliminate errors that may arise from reuse. The electrode response was determined at each step by changing the pH values between 6.0 and 8.0 in 0.5 unit increments. While the current increased with an increase in pH in the range of 6.0-7.0, it decreased sharply above pH 7.0. The best current value was observed at pH 7.0.

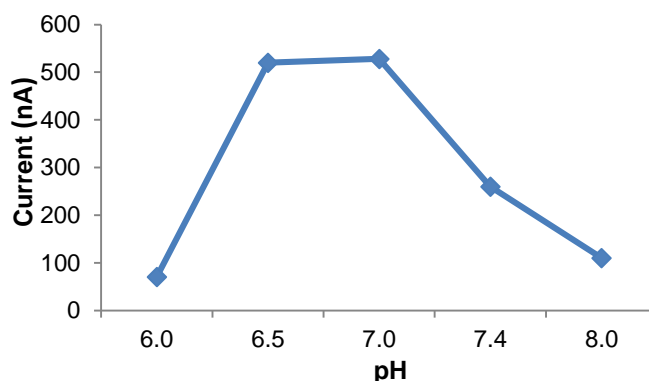


Figure 5. Effect of pH on the glucose response of the enzyme electrode

### Effect of Temperature

The operating temperature is also an important factor for the activity of the enzyme electrode. The response of the enzyme electrode was measured at pH 7.0 in the temperature range of 25-45°C as shown in Figure 3. The current response increased dramatically from 30°C to 35°C and likewise decreased after 35°C. Thus, the highest amperometric response of the enzyme electrode was obtained at 35°C. The activation energy of the enzyme electrode was calculated according to the Arrhenius equation given below (Eq. 3):

$$\ln k = \ln A - (E_a/RT)$$

Eg. 3

where  $k$  is the rate constant and the  $E_a$  is the apparent activation energy. Since the enzyme and substrate concentration remains constant while the surface area of electrode is fixed, the reaction rate becomes directly proportional to the glucose response current. Therefore,  $\ln I$  can be used instead of  $\ln k$ . According to the Arrhenius equation, when the  $1/T$  versus  $\ln I$  graph was drawn, the activation energy for the immobilized GOx was calculated as 88.92  $\text{kJ mol}^{-1}$ . It could be concluded that the MWCNTs/PTh composite provided a safe environment for GOx.

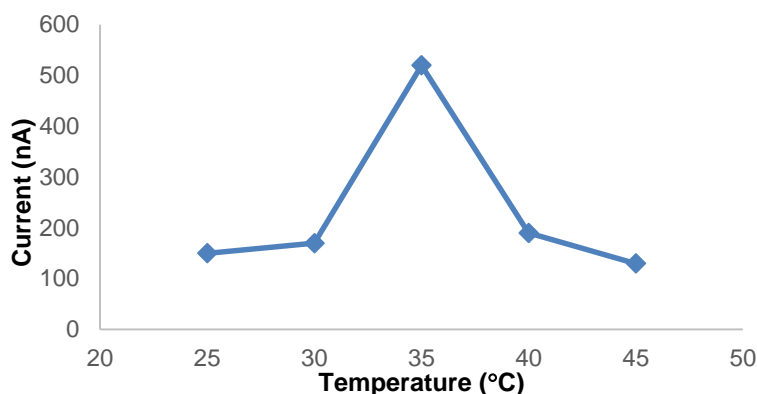


Figure 6. Effects of the temperature on the activity of the enzyme electrode in 0.1 M buffer solution at pH 7.0.

### Effect of Glucose Concentration

Figure 7 is the current-time graph showing the amperometric response of the MWCNTs/PTh composite modified electrode versus glucose concentration. The current increased linearly with the addition of glucose and reached the certain constant value. The stabilization time of the current at each addition was 25 s. The linear operating range was found from the calibration graph prepared with the data obtained from the current-time graph. The upper limit of the linear region was determined as 4.85 mM and the detection limit was 148  $\mu$ M glucose. The Michaelis–Menten equation is the most important approach for the catalysis of biological and chemical reactions with apparent kinetic constants that is shown below:

$$\frac{1}{I} = \frac{K_M}{I_{\max}[c]} + \frac{1}{I_{\max}} \quad \text{Eq. 4}$$

where [c] is the glucose concentration and  $K_{Mapp}$  is the apparent Michaelis-Menten constant. The apparent Michaelis-Menten constant ( $K_{Mapp}$ ) was calculated as 1.68 mM from the Lineweaver–Burk graphs and equation. This  $K_{Mapp}$  value was lower than that (1.68 mM) of the soluble GOx which were published in our previous studies [15]. The lower  $K_{Mapp}$  value of enzyme electrode indicated that no diffusional limitations in the cross linked state and the non-denaturing character of enzyme immobilization procedure [16]. Besides, a low  $K_{Mapp}$  value indicated a strong relationship between enzyme and substrate.

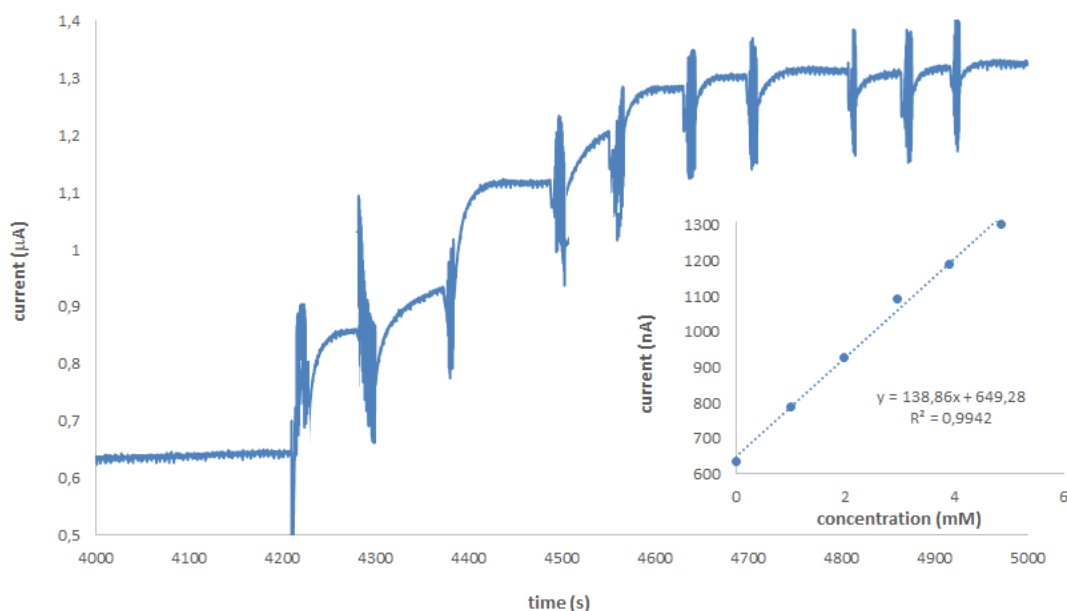


Figure 7. Effect of the glucose concentration on the response of the enzyme electrode in 0.1 M buffer solution at pH 7.0.

### Stability and Selectivity

In biosensor studies, the stability parameter is an important parameter in terms of the usage time of the electrode. The response of the developed glucose sensor

to 4.85 mM glucose was recorded at the same hour for 33 days and it was determined that the electrode response decreased rapidly after 26 days. According to the results obtained, it could be said that the developed glucose sensor was stable for 26 days.

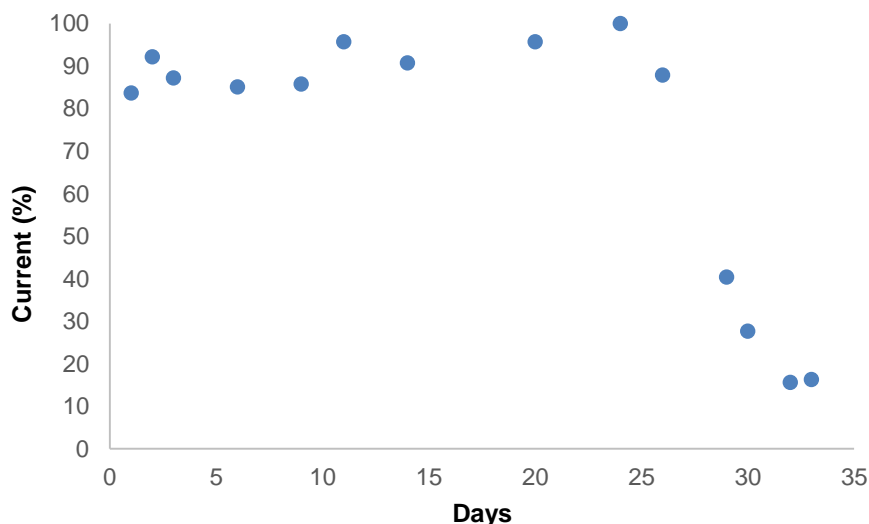


Figure 8. Effect of stability

The interference of ascorbic and uric acids on the response of the developed electrode were also studied. It was determined that the effect of these compounds on the relative response of MWCNTs/PTh modified electrode was insignificant (<1%). This high selectivity of the developed glucose electrode indicated that ascorbic and uric acids had an insignificant effect on the glucose sensor based on MWCNTs/PTh composite.

## CONCLUSIONS




In the present study, we developed a new MWCNTs/PTh based amperometric glucose sensor. MWCNTs/PTh composite was synthesized and characterized by electrochemical (CV), structural (FTIR) and morphological (SEM) analysis.  $K_{\text{Mapp}}$  value of immobilized GOx (1.68 mM) indicated that the enzyme was not denaturated when the MWCNTs/PTh modified enzyme electrode was prepared. The  $E_a$  value of the immobilized GOx on to composite was 88.92 kJ/mol which in good agreement with literature. The upper limit of the linear working range was determined as 4,85 mM glucose concentration according to calibration curve when the detection limit of the sensor was calculated as 148  $\mu\text{M}$ . While the developed glucose sensor provided high interaction between GOx and glucose, it also provided simplicity, short response time and cheapness compared to commercial electrodes.

## REFERENCES

- [1] Pilo, M., Farre, R., Lachowicz, J. I., Masolo, E., Panzanelli, A., Sanna, G., Senes, N., Sobral, A., Spano, N. (2018). Design of amperometric biosensors for the detection of glucose prepared by immobilization of glucose oxidase on conducting (poly)thiophene films. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2018, 1-7.
- [2] Panda, B.R., Chattopadhyay, A. (2007). A water-soluble polythiophene-Au nanoparticle composite for pH sensing. *Journal of Colloid and Interface Science*, 316(2), 962–967.
- [3] Jang, J., Chang, M., Yoon, H. (2005). Chemical sensors based on highly conductive poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanorods. *Advanced Materials*, 17(13), 1616–1620.
- [4] Uygun, A., Yavuz, A.G., Sen, S., Omastová, M. (2009). Polythiophene/SiO<sub>2</sub> nanocomposites prepared in the presence of surfactants and their application to glucose biosensing. *Synthetic Metals*, 159(19-20), 2022–2028.
- [5] Rashed, M.A., Ahmed, J., Faisal, M., Alsareii, S.A., Jalalah M., Tirth, V., Harraz, F.A. (2022). Surface modification of CuO nanoparticles with conducting polythiophene as a non-enzymatic amperometric sensor for sensitive and selective determination of hydrogen peroxide. *Surfaces and Interfaces*, 31, 101998-102011.
- [6] Cherian, A.R., Benny, L., George, A., Sirimahachai, U., Varghese, A., Hegde, G. (2022). Electro fabrication of molecularly imprinted sensor based on Pd nanoparticles decorated poly-(3 thiophene acetic acid) for progesterone detection. *Electrochimica Acta*, 408, 139963-139977.
- [7] Alba, N., Du, Z., Catt, K., Kozai, T., Cui, X. (2015). In vivo electrochemical analysis of a PEDOT/MWCNT neural electrode coating. *Biosensors*, 5(4), 618–646.
- [8] Ramanavicius, S., Ramanavicius, A. (2020). Conducting polymers in the design of biosensors and biofuel cells. *Polymers*, 13(1), 49.
- [9] Luong, J.H.T., Glennon, J.D., Gedanken, A., Vashist, S.K. (2016). Achievement and assessment of direct electron transfer of glucose oxidase in electrochemical biosensing using carbon nanotubes, graphene, and their nanocomposites. *Microchimica Acta*, 184(2), 369-388.
- [10] Tilmaciu C.M., Morris M.C. (2015). Carbon nanotube biosensors. *Frontiers in Chemistry*, 3, 59.
- [11] Sari, B., Talu, M., Yildirim, F., Balci, E.K. (2003). Synthesis and characterization of polyurethane/polythiophene conducting copolymer by electrochemical method. *Applied Surface Science*, 205(1-4), 27-38.
- [12] Senthilkumar, B., Thenamirtham, P., Kalai Selvan, R. (2011). Structural and electrochemical properties of

- polythiophene. *Applied Surface Science*, 257(21), 9063-9067.
- [13] Çil, M., Büyükbayram, A.E., Kıralp, S., Toppare, L., Yağcı, Y. (2007). Various applications of immobilized glucose oxidase and polyphenol oxidase in a conducting polymer matrix. *International Journal of Biological Macromolecules*, 41(1), 49-55.
- [14] Contal, E., Sougueh, C.M., Lakard, S., Et Taouil, A., Magnenet, C., Lakard, B. (2019). Investigation of polycarbazoles thin films prepared by electrochemical oxidation of synthesized carbazole derivatives. *Frontiers in Materials*, 6, 131.
- [15] Sen, S. (2009). Amperometric glucose sensor based on the entrapment of glucose oxidase in electrochemically synthesized pyrrole/N,N-dimethylaminopyrrole (Py/DMAPy) copolymer film. *Asian Journal of Chemistry*, 21(5), 4063-4076.
- [16] Sen, S., Gülce, A., Gülce, H. (2004). Polyvinylferrocenium modified Pt electrode for the design of amperometric choline and acetylcholine enzyme electrodes. *Biosensors and Bioelectronics* 19, 1261-1268.
- 
-

## Hayvancılık İşletmesi ve Termal Kaynak Kökenli Toprak ve Su Örneklerinden Miksobakteri İzolasyonu ve İzolatların Antibakteriyel Aktivitesi

Neşecan Duman<sup>1</sup> , Melike Baran Ekinci<sup>2</sup>  ✉, Arzu Kart<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Denizli Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, Denizli

<sup>2</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur

<sup>3</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

Geliş Tarihi (Received): 10.08.2022, Kabul Tarihi (Accepted): 12.11.2022

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): melikebaran@mehmetakif.edu.tr (M. Baran Ekinci)

📞 0 248 213 2706 📠 0 248 213 2704

### ÖZ

Miksobakteriler pek çok antibakteriyel, antifungal, antikanser, antiparazit, immunosupresif, sitotoksik ve antioksidatif biyoaktif bileşiklerin önemli kaynağı kabul edilmektedir. Antibiyotiğe dirençli patojen bakterilerin neden olduğu hastalıkların artmasıyla birlikte, doğal kaynaklardan bu patojenlerin kontrol edilmesi/yok edilmesini sağlayacak daha etkili yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada farklı illerden (Antalya, Burdur, Isparta, İzmir, Eskişehir, Bursa, ve Denizli) toplanan 50 adet toprak (4 adet termal kaynak civarı) ve 6 adet su örneği (4 adet termal su) miksobakteri izolasyonu için kullanılmıştır. Toplam 50 miksobakteri izolatından 10 izolatin biyokimyasal tanı testleri kullanılarak 5 cinse (*Myxococcus* sp., *Cystobacter* sp., *Stigmatella* sp., *Nannocytis* sp. ve *Polyangium* sp.) ait olduğu belirlenmiştir. Miksobakteri izolatlarının antibakteriyel aktiviteleri kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılarak Gram pozitif (*Bacillus cereus* ATTC 6051 ve *Staphylococcus aureus* ATTC 25923) ve Gram negatif (*Escherichia coli* ATTC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* PA01) suşlar için incelenmiştir. MB23, MB33 ve MB34 miksobakteri izolatları *S. aureus* için (sırasıyla 22.0, 24.7 ve 19.3 mm) ve MB9, MB23, MB28, MB33 ve S134 miksobakteri izolatları ise *B. cereus* için (sırasıyla 10.0, 18.5, 10.0, 28.0 ve 20.0 mm) antibakteriyel etki göstermiştir. Bu izolatların *E. coli* ve *P. aeruginosa* için antibakteriyel etkisi olmamıştır. Bu sonuçlara göre miksobakterilerin Gram pozitif patojen bakterilere antibakteriyel etki göstermesi önemlidir ve mevcut potansiyelin anlaşılabilmesi için üzerinde detaylı çalışma gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Miksobakteri, Kayan bakteri, Antibakteriyel etki

### Isolation and Antibacterial Activity of Myxobacteria in Soil and Water Samples from Livestock Farm and Thermal Source Origin

#### ABSTRACT

Myxobacteria are considered as an important source of new antibacterial, antifungal, anticancer, antiparasitic, immunosuppressive, cytotoxic and antioxidative bioactive compounds. The importance of developing new antibiotics from natural sources is increasing because of an increase in diseases caused by antibiotic-resistant pathogens. In this study, 50 soil samples, four of which were from near thermal sources, and 6 water samples, four of which were from thermal sources, were collected from different provinces (Antalya, Burdur, Isparta, İzmir, Eskişehir, Bursa and Denizli, Turkey), and they were used for myxobacteria isolation. They belonged to five genus of myxobacteria; *Myxococcus* sp., *Cystobacter* sp., *Stigmatella* sp., *Nannocytis* sp., *Polyangium* sp. The antibacterial activities of myxobacteria isolates were investigated for Gram positive (*Bacillus cereus* ATTC 6051 and *Staphylococcus aureus* ATTC 25923) and Gram negative (*Escherichia coli* ATTC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* PA01) strains using the well diffusion method. myxobacteria isolates of MB23, MB33 and MB34 showed antibacterial effects against *S. aureus* (zone diameters of 22.0,

24.7 and 19.3 mm, respectively) and myxobacteria isolates of MB9,MB23, MB28, MB33,MB34 against *B. cereus* (zone diameters of 10.0, 18.5, 10.0, 28.0 and 20.0 mm, respectively) but they had no activity against *E. coli* and *P. aeruginosa*. According to these results, it is important that the antibacterial activity of myxobacteria affects Gram positive pathogenic bacteria and detailed studies are required to understand their potential.

**Keywords:** Myxobacteria, Gliding bacteria, Antibacterial effect

## GİRİŞ

Günümüzde sentetik kimyanın gelişimi ile zengin bir çeşitlilikte organik bileşik üretilmesine rağmen, yeni ilaçların geliştirilmesinde doğal bileşikler önemli bir rol oynamaya devam etmektedir [1]. 1981 ile 2010 yılları arasında onaylanan küçük moleküllü ilaçların %34'ü doğal ürünler olup, %16'sı toplam sentez ile yapılmış farmakofor doğal ürünlerdir [2]. Antibiyotiklerin öyküsüne baktığımızda ise mikroorganizma türevli ikincil metabolitler yarım yüzyılı aşkın bir süredir zengin bir kaynaktır. Ancak antibiyotik keşfinin hızı yavaşlamış ve dirençli bakteri yayılımı önemli bir halk sağlığı tehdidi haline gelmiştir [3]. ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) her yıl ABD'de en aşağı iki milyon insanın antibiyotiklere dirençli bakterilerin sebep olduğu ciddi enfeksiyonlara yakalandığı antibiyotiklerin etkisiz kalmasından ötürü bunlardan 23000'nin ölümle sonuçlandığını tahmin edildiğini açıklamıştır [4]. Direnç oranının bu hızla artmaya devam etmesi halinde, 2050 yılında antimikrobiyal dirence bağlı olarak her yıl 10 milyon kişinin hayatını kaybedeceği tahmin edilmektedir [5]. Bu yüzden bakteriler gibi doğal kaynaklardan yeni antimikrobiyal maddelere ihtiyaç duyulmaktadır ve antimikrobiyal madde üreten potansiyel bakteriler araştırılmaktadır [4]. Biyoteknolojik gelişmeler kültür olarak elde edilmesinin zor olduğu ya da hiç elde edilemeyeceği düşünülen mikroorganizmaların geleceğine umut olmuştur. Bunlardan biri de miksobakterilerdir [6] ve sahip oldukları genomik özelliklerinden dolayı ikincil metabolit üretimi açısından çok önemli bir grup olduğu görülmektedir [7-9].

Miksobakteriler Gram negatif, kayarak hareket eden [10-13], kurumaya dirençli [14] meyvemsi yapı oluşturan [15] çubuk şekilli [13, 16],  $\delta$ -proteobakteri sınıfına ait bakterilerdir [17]. *Anaeromyxobacter dehalogenans* [18] (fakültatif aneorob) hariç tüm miksobakteriler zorunlu aéroptur [19, 20]. Miksobakteriler genelde doğada çeşitli toprak katmanı, kompost, çürümüş ağaç ve otçul hayvanların dışkısında bol miktarda bulunmaktadır. Kum ve taşlı yüzeylerde de gelişebilirler [11, 12]. Ayrıca buzul [21], deniz ve diğer tuzlu alanlarda [22-26] ve mağara [27] gibi değişik habitatlardan da izole edilmişlerdir. Birçoğu gelişikleri ortamlarda renkli pigmentler meydana getirir. Bazı türleri ise selülozun yanı sıra, agar ve kitin gibi kompleks substratları da parçalama yeteneğindedir. miksobakteriler insanlar için patojenik değildir, ancak besin kaynağı olarak Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri kullanabilmektedirler [17]. Çoğunlukla pH 5-8 arasındaki topraklarda bulunurlar. Prokaryotlar arasında eşsiz olarak kabul edilen miksobakteriler, bakterilerin çok ilginç bir grubu olup hayat döngüleri [10, 12, 28] ve ürettikleri ikincil metabolitleri [29, 30] bir hayli dikkat çekmektedir.

Dünyada miksobakteriler üzerinde yapılmakta olan çalışmalarda halen yeni miksobakteri türlerine ve bu türlerin ürettiği önemli biyolojik aktiviteleri olan yeni ikincil metabolitler rapor edilmektedir [15]. Bu yönüyle de miksobakteriler farklı biyolojik özellikler açısından büyük potansiyele sahiptir.

Bu çalışmada, endüstriyel ve tıbbi alanlar açısından biyoteknolojik öneme sahip olan miksobakterilerin çeşitli toprak, su ve termal su kaynaklarından izole edilerek tanımlanmasıyla, ülkemize özgü mikroorganizma kaynaklarından izole edilen miksobakterilerin antibakteriyel özelliklerinin ve antibiyotik üretimleri açısından potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Farklı bölgelerden (Antalya, Burdur, Denizli (Bozkurt ve Pamukkale ilçesi, Karahayıt bölgesi), Eskişehir ve Isparta) alınan 50 farklı toprak ve 6 farklı (termal) su örneği bakteri izolasyonu amacıyla toplanmıştır.

### Örneklerin Toplanması ve İzolasyonu

Örnekler steril malzemeler kullanılarak aseptik olarak toplanmıştır. Örnekler ortam sıcaklığında ve steril koşullarda laboratuvara getirilmiştir. Miksobakterilerin geliştirilmesi, izolasyonu ve tanımlanması için nutrient agar besiyeri kullanılmıştır. Laboratuvara getirilen örnekler 10 katlı dilüsyonlar halinde [31] hazırlanarak NA besiyerinde 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda meyvemsi yapı oluşturan koloniler ışık ve stereo mikroskop kullanılarak saflik kontrolleri yapılmıştır. İzolatlar çalışma boyunca +4°C'de muhafaza edilmiştir.

### Yöntem

Seçilen izolatların ışık ve stereo mikroskopta koloni morfolojisi incelenerek, Gram boyama, selülozu hidrolize etme, kazeini hidrolize etme, Kongo kırmızısı ile boyanma özellikleri belirlenmiştir [11].

### Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi

Sıvı besiyerine aşılardan örneklerin inkübe edilmesi amacıyla çalkalamalı inkübatör kullanılmıştır. Bakteriler 200 rpm/dk hızla çalkalanarak 28 C'de 24-36 saat inkübe edilmiştir [32].

İzolatların antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla Agar Difüzyon Yöntemi kullanılmıştır [33] Tanı testleri sonucunda miksobakteri olarak belirlenen izolatlar NB besiyerinde 15 gün 28°C ve 150 rpm' de inkübe



edilmiştir. İnkübasyon sonunda kültürler Whatman No:1 kağıdından filtre edilerek üzerine 1:1 (v/v) oranında etil asetat eklenerek 3 kez katlı ekstraksiyon yapılmıştır. Toplanan üst fazın döner buharlaştırıcıda (HL/HB G3, Heidolp, Almanya) 37°C'de ve 80 rpm'de etil asetatı uçurularak ham metabolit ekstresi elde edilmiştir. Ekstre üzerine dimetil-sülfoksit ilave edilerek antibakteriyel aktiviteleri belirlenmek üzere -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Antibakteriyel test için Gram pozitif (*Bacillus cereus* ATTC 6051 ve *Staphylococcus aureus* ATTC 25923) ve Gram negatif (*Escherichia coli* ATTC 25922) ve *Pseudomonas aeruginosa* PA01) suşları kullanılmıştır. Bu amaçla sıvı besiyerinde inkübe edilmiş ve bulanıklığı 0,5 McFarland bulanıklığa eşdeğer bulanıklığa ayarlanmış kültürlerden 100 µL alınarak 5 mL (BPW 25,5 g/L, Agar 5 g/L) içerisine eklenmiştir ve NA petrilere ikinci kat olarak dökülmüştür. Katılaştıran soft agara pastör pipeti yardımıyla kuyucuklar açılmıştır. Kuyucuklar içerisine 70'er µL MB4, MB5, MB9, MB23, MB28, MB30, SB31, MB32, MB33 ve S134 kodlu izolat ekstratlarından ilave edilerek 35°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonra kuyucuk çevresinde oluşan inhibisyon zon çapları (mm) ölçülmüştür. Gentamisin (8mg/mL) pozitif kontrol olarak

kullanılmıştır. Oluşan inhibisyon zon çapları antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesi için kullanılmıştır.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

İzmir Denizli, Eskişehir ve Bursa illerinden toplamda 56 toprak ve su örneğinden 10 izolat elde edilmiştir. 10 izolatın 8 tanesi toprak örneklerinden, iki tanesi ise İzmir ve Bursa illerinden alınan su örneklerinden elde edilmiştir. Termal su kaynaklarından mikrobakteri elde edilememiştir. İki adet su örneğinden mikrobakteri izolasyonunun sağlanması, genel habitatları toprak olan bu mikroorganizmaların ülkemizdeki su kaynaklarından da elde edilebileceğini göstermesi açısından önem taşımaktadır. Termal kaynaklardan (Karahayıt ve Pamukkale) alınan 4 adet toprak ve 4 adet su örneğinden hiçbirinde mikrobakteri türüne rastlanmamış olması bu bakterilerin daha çok mezofilik özellik göstermesinden kaynaklanmaktadır [11].

Çalışmada Gram negatif ve Kongo red pozitif olduğu belirlenen izolatların koloni özellikleri (büyüklüğü, rengi, şekli), çözünebilir pigment oluşumları ve kazein hidrolizleri incelenerek dahil olabilecekleri mikrobakteri cinsleri belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Mikrobakteri izolatlarının petri plağındaki koloni morfolojileri ve bazı biyokimyasal özellikleri

Table 1. Colony morphologies and some biochemical properties of myxobacteria isolates on petri plate

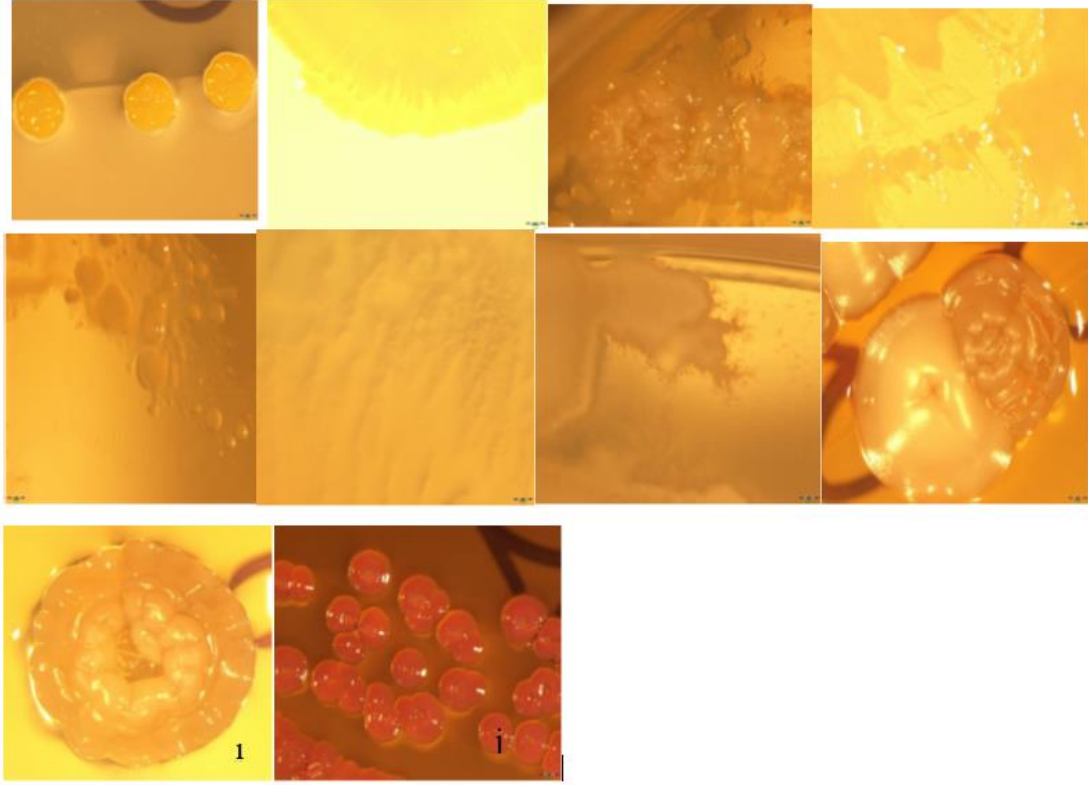
İzolat numaraları	İzolasyon materyali	Gram boyama	Kazein Hidrolizi	Kongo Kırmızısını Absorbe Etme	Çözünebilir Pigment	Koloni Büyüklüğü ve Şekli	Koloni rengi	Hücre Şekli
MB4	TE	Gr(-)	-	+	-	Orta	Açık Sarı	Çubuk
MB5	TE	Gr(-)	-	+	Koyu Sarı	Orta	Kahverengi	Çubuk
MB9	TE	Gr(-)	+	+	-	Orta	Beyaz	Çubuk
MB23	TB11	Gr(-)	-	+	Açık Sarı	Çok Küçük	Gri	Çubuk
MB 28	TB11	Gr(-)	-	+	-	Çok Küçük	Koyu Sarı	Çubuk
MB 30	TB11	Gr(-)	-	+	-	Çok Küçük	Çok Açık Sarı	Çubuk
MB 31	SB	Gr(-)	-	+	-	Çok Büyük	Koyu Pembe/Mor	Çubuk
MB 32	TB8	Gr(-)	+	+	Çok Açık Sarı	Orta, Zincir Şeklinde	Sarı (Etrafı Beyaz Zonlu)	Çubuk
MB 33	KÜE	Gr(-)	-	+	-	Büyük	Koyu Sarı	Çubuk
MB 34	S1	Gr(-)	-	+	Açık Sarı	Küçük	Pembe/Kırmızı	Çubuk

TE: toprak örneği Eskişehir, TB: toprak örneği Bozkurt, SB: su örneği Bursa, KÜE: kümes toprağı Eskişehir, S1: su örneği İzmir

Çalışma kapsamında izole edilen mikrobakterilerin saflaştırma sonucunda elde edilen kolonilerinin stereo mikroskop ile yapılan inceleme ile morfolojik özelliklerine ilişkin karakteristik görüntüler elde edilmiştir (Şekil1).

Şimdiye kadar selülozu parçaladığı bilinen tek mikrobakteri familyası *Polyangiacea*'dir. [34]. Bu sebeple selülozu parçalayan MB23 ve MB28 kodlu izolatların (Şekil 1d, Şekil 1e) *Polyangium* sp. cinsine ait olduğu düşünülmektedir. *Myxococcus* sp. cinsine ait kolonilerin genellikle sarımsı renkte ortası turuncu olduğu ve bu kolonilerin çok büyük boyutlarda olmadığı, *Cystobacter* sp. cinsine ait kolonilerin kahverengi olduğu ve zincir şeklinde koloni oluşturdıkları, *Nannocytis* cinslerinin tek

tek ayrı koloniler şeklinde oluştuğu ve açık sarı bir renge sahip olduğu, *Stigmatella* sp. cinsinin beyaz renk koloniler şeklinde oluştuğu bilinmektedir [11]. Şekil 1 de belirtilen elde edilen izolatlarla ilişkin görüntüler yer almaktadır. Koloni morfolojisi ve stereo mikroskop (x28) görüntülerine göre MB4 kodlu örneğin (Şekil 1a) *Nannocytis* cinsine, MB5, M31 ve M34 kodlu izolatların (Şekil 1b, g ve j) *Cystobacter* cinsine, MB9 kodlu izolatın (Şekil 1c) *Stigmatella* sp. cinsine, MB30, MB32 ve S134 kodlu izolatların (Şekil 1f, h ve j) ise *Myxococcus* cinsine ait olduğu düşünülmektedir. Tür düzeyinde bir sınıflandırma yapabilmek için moleküler sınıflandırma yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 1. Miksobakteri izolatlarının karakteristik kolonilerine ait stereo mikroskop görüntüleri (x28) [1a MB4 no'lu izolat (*Nannocytis*), 1b MB5 nolu izolat (*Cystobacter*) 1c MB9 no'lu izolat (*Stigmatella*) 1d MB23 no'lu izolat (*Polyangium*) 1e MB28 no'lu izolat (*Polyangium*) 1f MB30 nolu izolat (*Myxococcus*) 1g SB31 no'lu izolat (*Cystobacter*) 1h MB32 no'lu izolat (*Myxococcus*) 1i MB33 nolu izolat (*Myxococcus*) 1j Sİ34 no'lu izolat (*Cystobacter*)]

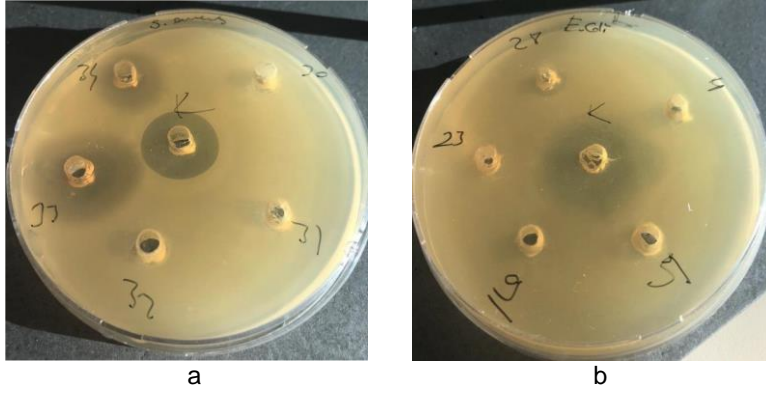
Figure 1. Stereo microscope images of characteristic colonies of myxobacteria isolates (x28) [1a isolate MB4 (*Nannocytis*), 1b isolate MB5 (*Cystobacter*) 1c isolate MB9 (*Stigmatella*) 1d isolate MB23 (*Polyangium*) 1e isolate MB28 (*Polyangium*) 1f isolate MB30 (*Myxococcus*) 1g isolate SB31 (*Cystobacter*) 1h isolate MB32 (*Myxococcus*) 1i isolate MB33 (*Myxococcus*) 1j isolate Sİ34 (*Cystobacter*)]

### Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi

Çalışma kapsamında elde edilen izolatların antibakteriyel potansiyellerinin belirlenebilmesi için *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* için antibakteriyel özellikleri değerlendirilmiştir. İzolatlardan MB23, MB33 ve Sİ34 kodlu miksobakterilere ait ekstreler hem *S. aureus* ATCC 25923 ( $22.0 \pm 1.0$ ,  $24.7 \pm 0.6$  ve  $19.3 \pm 1.2$  mm) hem de *B. cereus* ATCC 6051 ( $18.5 \pm 0.5$ ,  $28.0 \pm 1.0$  ve  $20.0 \pm 1.0$  mm) için antibakteriyel aktivite göstermiştir (Tablo 2 ve Şekil 2). MB9 ve MB28 ekstreleri ise *B. cereus* ATCC 6051 için  $10.0 \pm 1.0$  mm çapında antibakteriyel etki göstermiştir (Tablo 2). Özellikle Gentamisin'in *S. aureus* ATCC 25923'a ait inhibisyon zon çapı ( $21.8 \pm 3.55$  mm) olup MB23 ve MB33 ekstrelerinin zon çaplarının gentamisinden daha yüksek olması söz konusu izolatların gentamisinden daha etkili antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca *B. cereus* ATCC 6051 için MB33 izolatına ait ekstrelerin inhibisyon zon çapının, gentamisine ait zon çapına ( $31.7 \pm 2.9$  mm) yakın değerde olması ileride yapılacak çalışmalar için potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Ekstrelerin hiçbirisi *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* PA01 için antibakteriyel etki göstermemiştir. Bu durumun Gram (-) bakterilerdeki peptidoglikan, lipoprotein ve lipopolisakkarid yapıdan meydana gelen hücre duvarının bu etkiyi engellediği anlaşılmaktadır. Elde edilen izolatların Gram (+) bakterilere etkili antibakteriyel etki göstermesi, Gram (+) bakterilerde hücre duvarının daha kalın olmasına rağmen peptidoglikan ve teikoik asitten meydana gelmiş basit bir yapıya sahip olması ve bu yapıda antibakteriyel etkili bileşiklerin hücre zarından içeriye girerek bakterilere daha kolay etki etmesine neden olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir [35].

Miksobakterilerin antibakteriyel etkilerinin Gram (+) bakterilere mi yoksa Gram (-) bakteriler üzerine mi daha fazla olduğu ile ilgili farklı araştırma sonuçları bulunmaktadır. Ancak yapılan çalışmaların ekserisinde miksobakterilerin çoğunlukla Gram (+) bakterileri inhibe eden doğal ürünleri salgıladıkları, buna karşın çok az sayıda miksobakteriyel izolatın Gram (-) bakterilere karşı inhibisyon aktivitesi gösterdikleri ortaya konmuştur [36, 37]. Aksine Gaspari ve ark.'nın [38] İsrail'de izole ettikleri miksobakterilerin %50'den fazlasının Gram (-) bakterilere karşı etkili olduğu ve eczacılık alanındaki ihtiyaçlara karşılık verebileceği saptanmıştır.



Şekil 2. Agar difüzyon yöntemine göre MB4, MB5, MB9, MB23, MB28, MB30, SB31, MB32, MB33, S134 izolatlarına ait ekstraktların a) *S. aureus*, b) *E. coli* için bazı antibakteriyel petri görüntüleri  
 Figure 2. Some antibacterial petri images of extracts of MB4, MB5, MB9, MB23, MB28, MB30, SB31, MB32, MB33, S134 isolates according to agar diffusion method a) *S. aureus*, b) *E. coli*

Tablo 2. İzolatlara ait ekstraktların ve kontrol grubuna ait inhibisyon zon çapları (mm)  
 Table 2. Inhibition zone diameters of the extracts of the isolates and the control group (mm)

İzolat kodları	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
MB4	*	*	*	*
MB5	*	*	*	*
MB9	*	10.0±1.0	*	*
MB23	22.0±1.0	18.5±0.5	*	*
MB28	*	10.0±1.0	*	*
MB30	*	*	*	*
SB31	*	*	*	*
MB32	*	*	*	*
MB33	24.7±0.6	28.0±1.0	*	*
MB34	19.3±1.2	20.0±1.0	*	*
Gentamisin	21.8±3.55	31.7±2.9	25.2±2.8	40.0±5.0

\*Antibakteriyel aktivite gözlenmemiştir.

Başka bir çalışmada ise Büyük Britanya'dan alınan toprak örneklerinden elde edilen izolatların büyük bir kısmının *Corallococcus* spp. ve *Myxococcus* spp. türlerine ait olduğu ve Gram (+) ve Gram (-) patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite açısından çok farklı sonuçların bulunduğu, belirlenmiştir. Bu sonuç yani *Myxococcus* cinsinin antimikrobiyal etkisinin Gram (+) ve Gram (-) türler üzerinde farklı olması bu bakterilerin makromolekülleri parçalayan ya da hücre duvarını yıkan enzimler tarafından farklı şekilde etkilendiğini göstermektedir [39].

## SONUÇ

Çalışmada kullanılan 10 mikrobakteri izolatının %20 sinin su kaynaklarından izole edilmiş olması, genel habitatlarının toprak olduğu bilinen mikrobakterilerin su kaynaklarında da önemli miktarda bulunduğu bir göstergesidir. Jeotermal kaynakların bakteriyel çeşitliliği hakkında çok sayıda çalışma yayınlanmış olmasına rağmen, termofilik mikrobakterilerin veya sıcak su kaynaklarında yaşayan mikrobakterileri konu alan sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Ancak önemli biyolojik özellikleri olan yeni mikrobakterileri izole etmek için bu habitatların daha detaylı incelenmesi gerekmektedir.

Yapılan kaynak araştırmasında ülkemiz kaynaklarından izole edilen mikrobakterilerin antibakteriyel etkileri ilk defa bu çalışmada rapor edilmiştir. Bu çalışmada sırasıyla Denizli ili Bozkurt ilçesinden ve Eskişehir'den alınan kümes toprakları ile İzmir'den alınan su örneğinden elde edilen *Myxococcus* sp MB23, MB33 ve S134 kodlu izolatlarının *S. aureus* (ATTC 25923) ve *B. cereus* (ATTC 6051) suşları için güçlü antibakteriyel aktivite göstermesi bakımından önemlidir. Elde edilen izolatların %50'sinin antibakteriyel özellikte olması, daha detaylı çalışılma ile ülkemizde toprak ve su kaynaklarının ticari öneme sahip mikrobakteriler için önemli bir potansiyeli olduğunu göstermektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0489-YL-17 proje numarası ile desteklenmiştir. Kullanılan bakteri suşları Prof. Dr. Seyhan Ulusoy (Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Isparta) tarafından sağlanmıştır.

## KAYNAKÇA

[1] Ngo, L.T., Okogun, J.I., Folk, W.R., (2013). 21<sup>st</sup> century natural product research and drug

- development and traditional medicines. *Natural Product Reports*, 304, 584-592.
- [2] Newman, D., J., Cragg, G., M., (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Product*, 23, 311-335.
- [3] Lewis K., (2013). Platforms for antibiotic discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 12, 371-387.
- [4] Pahalagedara, A.S.N.W., Flint, S., Palmer, J., Brightwell, G., Gupta, T.B. (2020). Antimicrobial production by strictly anaerobic *Clostridium* spp. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5), 105910.
- [5] Imoto, N., Amanuma, F., Maruyama, H., Watanabe, S., Hashiguchi, N. (2019). Maternal antimicrobial use at delivery affects gut microbiota of infants into the early weaning period. *European Journal of Pediatrics*, 178(11), 1619-1619.
- [6] Sun, Y., (2016). Biosynthetic analysis of marine myxobacterial secondary metabolites. Laboratory of Bioactive Natural Products Chemistry Department of Applied Molecular Biosciences Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Nagoya, Japan.
- [7] Phillips, K.E., Akbar, S., Stevens, D.C. (2022). Concepts and conjectures concerning predatory performance of myxobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 3883.
- [8] Zhao, Y., Wang, Y., Xia, C., Li, X., Ye, X., Fan, Q., Cui, Z. (2021). Whole-genome sequencing of *Coralloccoccus* sp. strain EGB reveals the genetic determinants linking taxonomy and predatory behavior. *Genes*, 12, 1421.
- [9] Yamamura, S., Amachi, S., (2014). Microbiology of inorganic arsenic: from metabolism to bioremediation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 118, 1-9.
- [10] Bader, C.D., Panter, F., Müller, R., (2021). In depth natural product discovery -Myxobacterial strains that provided multiple secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 39, 107480.
- [11] Buchanan, R.E., Gibbons, N.E., (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Washington. 404s.
- [12] Dworkin, M., (1993). Cell Surfaces and Appendages. Myxobacteria II. (Dworkin, M., Kaiser, D-eds) American Society for Microbiology, Washington. 63-84.
- [13] Holt, J. G., R. N. Krieg, H. S., Peter, J. T., Staley, T.S. Williams., (1994). Group 16 The Fruiting, Gliding Bacteria: The Myxobacteria. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ed. Williams and Wilkins Baltimore, Maryland USA 515-525.
- [14] Mulwa, L.S., Stadler, M. (2018). Antiviral compounds from myxobacteria. *Microorganisms*, 6 73.
- [15] Thiery, S., Kaimer, C. (2020). The predation strategy of *Myxococcus xanthus*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2.
- [16] Dawid, W., (2000). Biology and global distribution of mxobacteria in soils. *FEMS Microbiology Reviews*. 24, 403-427.
- [17] Schulz, E., Goes, A., Garcia, R., Panter, F., Koch, M., Müller, R., Fuhrmann, G. (2018). Biocompatible bacteria-derived vesicles show inherent antimicrobial activity. *Journal of Controlled Release*, 290, 46-55.
- [18] Sanford, R.A., Cole, J.R., Tiedje, J.M, (2002). Characterization and description of *Anaeromyxobacter dehalogenans* gen. nov., sp. nov., an aryl-halorespiring facultative anaerobic myxobacterium. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 893-900.
- [19] Reichenbach, H., (1993). Biology of the Myxobacteria: Ecology and Taxonomy. Myxobacteria II. (Dworkin, M., Kaiser, D-eds) American Society for Microbiology, Washington. 13-63.
- [20] Reichenbach, H., Höfle, G., (1989). The Gliding Bacteria: A Treasury of Secondary Metabolites. Bioactive Metabolites from Microorganisms. (M.E. Bushell, U. Grafe Elsevier-eds). Amsterdam. 27, 79-98.
- [21] Mohr, K. I. (2018). Diversity of myxobacteria—we only see the tip of the iceberg. *Microorganisms*, 6(3), 84.
- [22] Albataineh, H., Stevens, D.C. (2018). Marine myxobacteria: a few good halophiles. *Marine Drugs*, 16, 209.
- [23] Fudou, R., Jojima, Y., Iizuka, T., Yamanaka, S. (2002). *Haliangium ochraceum* gen. nov., sp. nov. and *Haliangium tepidum* sp. nov.: Novel moderately halophilic myxobacteria isolated from coastal saline environments. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 48, 109-116.
- [24] Iizuka, T., Jojima, Y., Fudou, R., Hiraishi, A., Ahn, J.W., Yamanaka, S., (2003). *Plesiocystis pacifica* gen. nov., sp. nov., a marine myxobacterium that contains dihydrogenated menaquinone, isolated from the Pacific coasts of Japan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 189-195.
- [25] Iizuka, T., Jojima, Y., Fudou, R., Tokura, M., Hiraishi, A., Yamanaka, S., (2003). *Enhygromyxa salina* gen. nov., sp. nov., a slightly halophilic myxobacterium isolated from the coastal areas of Japan. *Systematic and Applied Microbiology*, 26, 189-196.
- [26] Iizuka, T., Jojima, Y., Hayakawa, A., Fujii, T., Yamanaka, S., Fudou, R., (2013). *Pseudenhygromyxa salsuginis* gen. nov., sp. nov., a myxobacterium isolated from an estuarine marsh. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 1360-1369.
- [27] Menne, B. (1998). Carbonatolyse und Biokonservierung als Mechanismen der Verkarstung und SpeHiogenese. Beitr. z. *Hydrogeol.* 49, Graz.
- [28] Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., (1997). *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall International, Inc. New Jersey. 986s.
- [29] Bader, C.D., Panter, F., Müller, R. (2020). In depth natural product discovery-Myxobacterial strains that provided multiple secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 39, 107480.
- [30] Shrivastava, A. Sharma, R.K. (2021). Myxobacteria and their products: current trends and future perspectives in industrial applications. *Folia Microbiologica*, 66, 483-507.

- [31] Özçelik, S. (1998). Genel Mikrobiyoloji Uygulama Klavuzu. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Isparta.
- [32] Gonzalez, F., Fárez-Vidal, M. E., Arias, J. M., Montoya, E. (1994). Partial purification and biochemical properties of acid and alkaline phosphatases from *Myxococcus coralloides* D. *Journal of Applied Bacteriology*, 77(5), 567-573.
- [33] Aytar, M. Oryaşın, M., Başbülbül, G. Bozdoğan, B. (2019). Agar well difüzyon yönteminde standardizasyon çalışması. *Bartın University International Journal of Natural and Applied Sciences*, 2(2), 138-145.
- [34] Garica, R. Müller, R., 2014. The Family Polyangiaceae. The Pokaryotes. ed. Rosenberg, E. 4. Edition, pp. 247-279.
- [35] URL-5,2019. [https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/97%20hafa\\_Bakteriler\\_1.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/97%20hafa_Bakteriler_1.pdf), (Erişim Tarihi: 28.06.2019).
- [36] Kumar, S., Yadav, A.K., Chambel, P., Kaur, R. (2017). Molecular and functional characterization of myxobacteria isolated from soil in India. 3 *Biotechnology*, 7, 1-9.
- [37] Schaberle, T.F., Lohr, F., Schmitz, A., König, G.M., (2014). Antibiotics from myxobacteria. *Natural Product Reports*, 31, 953-997.
- [38] Gaspari, F., Paitan, Y., Mainini, M., Losi, D., (2005). Myxobacteria isolated in Israel as potential source of new anti-infectives. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 429-439.
- [39] Livingstone, P.G., Morphew, R.M., Whitworth, D.E., (2017). Myxobacteria are able to prey broadly upon clinically-relevant pathogens, exhibiting a prey range which cannot be explained by phylogeny. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1593.
-

## Nişasta Bazlı Köpük Tabakların Hidrofobik Malzemelerle Kaplanması

Yunus Emre Kısaç , Mustafa Kemal Uslu 

Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

Geliş Tarihi (Received): 20.06.2022, Kabul Tarihi (Accepted): 23.12.2022

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): mkuslu@akdeniz.edu.tr (M.K. Uslu)

☎ 0 242 310 2458 📠 0 242 310 6306

### Öz

Hafif ve ucuz olması nedeniyle geliştirilmiş polistiren (EPS) tabaklar gıdaların ambalajlanması ve servisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat çevre üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı dünyanın pek çok yerinde kullanımı yasaklanmaya veya kısıtlanmaya başlanmıştır. Son yıllarda biyobozunur köpük tabak üretimi üzerine pek çok çalışma yapılmaktadır. Nişasta bazlı köpük tabaklar biyobozunur olması ve yeterince mekanik dirence sahip olması açısından büyük umut vadetse de suya karşı yeterince direnç gösterememesi, ticari olarak kullanımının yaygınlaşmasındaki en önemli engeldir. Bu çalışmada buğday nişastası, buğday-patates nişastası karışımı gliksal ile çapraz bağlandıktan sonra nişastanın %7'si kadar buğday lifi eklenerek köpük tabaklar üretilmiştir. Köpük tabaklar polilaktik asit (PLA), polikaprolakton (PKL) ve polimetil metakrilat (PMMA) çözeltileri kullanılarak kaplanmıştır. Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri, kaplama malzemelerinin köpük tabakların yüzeyinde 30-40 µm kalınlığında bir katman oluşturduğunu ve tabak yüzeyini daha pürüzsüz bir hale getirdiğini göstermiştir. Buğday-patates nişastasından üretilen köpük tabakların ortalama yoğunluğu  $0.120 \pm 0.01$  g/cm<sup>3</sup> olup buğday nişastasından üretilen tabaklarınkinden ( $0.157 \pm 0.02$  g/cm<sup>3</sup>) daha düşük olduğu bulunmuştur. PKL ve PLA ile buğday nişastasından, PLA ve PMMA ile buğday-patates nişastasından üretilen tabakların kaplanması, tabakların yoğunluğunu değiştirmemiştir. PLA ve PMMA ile kaplanan köpük tabakların kontrole göre sırasıyla 12 ve 18 kat daha az su emdiği bulunmuştur. PMMA ile kaplanan, buğday-patates nişastasından üretilen tabakların 300 dakika sonra sadece %2.3 oranında su emmesi özellikle su içeriği yüksek gıdaların ambalajlanması için uygun olduğunu göstermiştir. Simüle toprak altında PKL ile kaplanan tabaklar 42. günde, PLA ile kaplananlar 84. günde parçalanarak toprağa karıştığı bulunmuştur. PMMA ile kaplan tabakların 84. günde başlangıçtaki tabak ağırlığının %12.2'sinin parçalanmadan kaldığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Köpük tabak, Nişasta, Polikaprolakton, Polilaktik Asit, Polimetil metakrilat

### Coating Starch-Based Foam Trays with Hydrophobic Materials

#### ABSTRACT

Expanded polystyrene (EPS) trays are widely used for food packaging and serving because they are light and inexpensive. However, their use has been banned or restricted in many parts of the world due to its negative effects on the environment. In recent years, many studies have been carried out on the production of biodegradable foam trays. Although starch-based foam trays are promising in terms of being biodegradable and having sufficient mechanical resistance, the most important obstacle in their commercial use is that they are not sufficiently resistant to water. In this study, foam trays were produced by adding wheat fiber at a ratio of 7% of starch after wheat starch or mixture of wheat-potato starch was cross-linked with glyoxal. Foam trays were coated by using solutions of polylactic acid (PLA), polycaprolactone (PKL), and polymethyl methacrylate (PMMA). Scanning electron microscope images showed that coating materials formed a 30-40 µm thick layer on the surface of foam trays and making the surface of trays smoother. The average density of foam trays produced from wheat potato starch was  $0.120 \pm 0.01$  g/cm<sup>3</sup>, which was lower than that of trays produced from wheat starch ( $0.157 \pm 0.02$  g/cm<sup>3</sup>). The coating of trays produced from wheat starch with PKL and PLA, and wheat-potato starch with PLA and PMMA did not change the density of trays. Foam trays coated with

PLA and PMMA absorbed 12 and 18 times less water than control trays, respectively. The trays made of wheat-potato starch coated with PMMA absorbed only 2.3% of water after 300 minutes, showing that they could be particularly suitable for packaging foods with a high water content. Trays coated with PCL under simulated soil were found to break down on the day 42, and those coated with PLA on the day 84. It was determined that 12.2% of the initial tray weight of trays coated with PMMA remained intact on the 84<sup>th</sup> day.

**Keywords:** Foam tray, Starch, Polycaprolactone, Polylactic Acid, Polymethyl methacrylate

## GİRİŞ

Son yıllarda, geliştirilmiş polistirenden üretilen tek kullanımlık köpük tabakların kullanımı sürekli artmaktadır. 2017 verilerine göre dünya genelinde çoğunluğu tabak şeklinde olmak üzere yıllık yaklaşık 8.5 milyon ton civarında geliştirilmiş polistiren bazlı ambalaj ürünleri üretilmektedir [1]. Polistirenin doğada parçalanması için yüzyıllar geçmesi gerekmekte ve tek kullanımlık bu köpük ürünlerin geri dönüşümü de pek mümkün olmamaktadır [2]. Ayrıca bu tabakların yoğunluğu çok düşük olduğu için çöp toplama merkezlerinden rüzgarla farklı yerlere taşınmakta ve özellikle akarsu ve denizlere ulaşması durumunda sucul canlıları tehdit etmektedir. Bu nedenle ABD’de kıyıya yakın 100’ün üzerinde şehirde, Fransa, İngiltere, Çin, Finlandiya, Norveç, İsveç, İzlanda, İrlanda, Lüksemburg, Yeni Zelanda ve Tunus gibi birçok ülkede de geliştirilmiş polistiren kullanımı kısıtlanmış veya yasaklanmıştır [3]. Bu ürünlerin sebep olduğu çevre kirliliği sorunu yenilenebilir kaynaklardan biyo-bozunur köpük ürünler üretilmesi konusunda yapılan çalışmalara öncülük etmektedir. Biyo-bozunur köpük ürün üretimi konusunda üzerinde en çok çalışılan hammaddelerden birisi nişastadır. Nişasta, yenilenebilir ve biyo-bozunur olmasının yanında ucuz ve doğada bol miktarda bulunan hammaddelerden biridir. Nişasta bazlı köpük tabaklar istenilen şekilde bir kalıp içerisinde pişirilerek üretilmektedir [4–6]. Kalıp içerisinde nişasta-su süspansiyonu pişerken buharlaşan su, köpüksü yapının oluşmasını, son ürünün yoğunluğunun ve termal iletkenliğinin azalmasını sağlamaktadır.

Mısır, buğday, patates ve manyok gibi farklı bitkilerden elde edilmiş nişastalardan, nişasta bazlı köpük ürünler üretilmiştir. Granül boyutları ve amiloz/amilopektin oranındaki farklılıklardan dolayı nişasta kaynağının, köpük yapı üzerinde önemli etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [7, 8]. Nişasta ve çeşitli doğal lifler uygun miktarlarda kullanılarak mekanik özellikleri önemli düzeyde iyileştirilmiş nişasta bazlı biyo-kompozit köpük ürünler elde edilebilmektedir. Nişasta ve doğal lifin (selüloz) kimyasal yapısının birbirlerine benzer olması iyi bir uyumluluk ve güçlü bir etkileşim göstererek biyo-kompozit üründe iyi bir stres aktarımı sağlamaktadır [9]. Doğal lifler, nişastadan daha yüksek kristallığe sahip olduğu ve daha az higroskopik olduğu için %5-15 arasında lif ilavesi biyo-kompozit köpük ürünlerin suda çözünürlüğünü ve su emme miktarını da azaltmaktadır [10, 11].

Nişastanın çapraz bağlanmasıyla şişme gücünün, çözünürlüğünün, su bağlama kapasitesinin ve hidrofilik özelliklerinin önemli düzeyde azalmasından dolayı çapraz bağlama, nişastanın suya karşı direncini artırmak için uygun bir yöntemdir. Glioksal ( $C_2H_2O_2$ ) ve

glutaralaldehit ( $C_5H_8O_2$ ) gibi dialdehitler nişastanın hidroksil gruplarıyla reaksiyona girerek nişastayı çapraz bağlayabilmektedir. Uslu ve Polat [6] tarafından yapılan bir çalışmada nişastanın glioksal ile çapraz bağlanması sonucunda nişastadan üretilen köpük ürünlerin su absorpsiyonunun ve yoğunluğunun belirgin şekilde azaldığı ve esnekliğin arttığı belirtilmiştir.

Polilaktik asit (PLA), termal ve mekanik özellikleri petrol bazlı polimerlerden olan polietilenterafitalat (PET) ve polistirene (PS) benzeyen [12], yüksek mekanik mukavemeti, mükemmel ısı şekillendirme kabiliyeti, biyo-bozunur olması nedeniyle biyo-bozunur ambalaj üretiminde en önemli hammaddelerden biridir. PLA bu özelliklerinden dolayı bazı çalışmalarda köpük tabakların fiziksel ve mekanik özelliklerini iyileştirmek için kaplama malzemesi olarak kullanılmıştır. Bergel ve ark. [13] patates nişastasından ürettikleri köpük tabakları %2, 4 ve 6 konsantrasyonlarındaki PLA çözeltileri ile kaplanmış ve kaplanmamış tabaklara göre PLA ile kaplanmış tabakların su emme miktarlarının önemli düzeyde azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca PLA çözeltilerinin konsantrasyonları arttıkça köpük tabakların su emme miktarının azaldığını bulmuşlardır. Mısır nişastasından hazırlanan filmler %6’lık PLA çözeltisi ile kaplandığında, filmlerin nem absorpsiyonunun %41 azaldığı ve gerilmeye mukavemetinin ise %47 artırdığı kayıt edilmiştir [14]. Pirinç kabuğu(%80) ve nişastadan üretilen (%20) kompozitlerin PLA ile kaplanması su absorpsiyon kapasitesini düşürdüğü ve örneğin hidrofobikliğini artırdığı bildirilmiştir [15].

Polikaprolakton (PKL), yüksek hidrofobik karaktere sahip, lineer ve alifatik bir polyester yapısında biyo-bozunur bir polimerdir. Petrol kaynaklı  $\epsilon$ -kaprolaktonun halka açılımı polimerizasyonu ile üretilmektedir. Preechawong ve ark. [16] tapyoka nişastası ile PKL’yi karıştırarak sıcak kalıpta hibrit köpükler üretmişlerdir. 25°C ve %42 bağıl nemde 7 gün boyunca su absorpsiyon testinden sonra PKL içermeyen köpük ürünlerin %127 oranında su emdiğini, süspansiyondaki nişastanın ağırlığının %30’u kadar PKL içeren köpük ürünlerin ise %77 oranında su emdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca PKL eklenmesinin köpük ürünün mekanik özellikleri üzerine de olumlu bir etki oluşturduğunu bulmuşlardır.

Polimetil metakrilat (PMMA), metil metakrilat monomerlerinden oluşan termoplastik, optik olarak saydam, darbelere karşı dayanıklı, ucuz ve kolay şekillendirilebilen bir polimerdir. PMMA toksik olmadığı için gıda ile temas eden yüzeylerde kullanılması FDA tarafından onaylanmıştır. Ayrıca biyomedikal alanında da PMMA’dan yararlanılmaktadır [17].

Farklı nişasta kaynakları kullanılarak, değişik kaynaklardan elde edilen lifler katılarak, balmumu, hidrojenize nebati yağ eklenerek, kaolin, montmorillonite, çinko oksit nanoparçacıkları [8], kalsiyum karbonat, yumurta kabuğu gibi dolgu maddeleri ilave edilerek [18] ve balmumu gibi hidrofobik maddelerle kaplanarak [19] nişasta bazlı köpük tabakların suya karşı direncini artırmak pek çok çalışmaya yapılmasına rağmen istenilen düzeyde başarı sağlanamamıştır. Bu çalışmada su içeriği yüksek gıdaların ambalajlanmasında kullanılabilir, suya karşı mukavemetli biyobozunur köpük tabakların üretilmesi hedeflenmiştir.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Köpük tabak üretiminde kullanılan buğday ve patates nişastası Cargill Tarım ve Gıda San. Tic. A.Ş. (İstanbul, Türkiye)'den, buğday lifi Smart Kimya Tic. ve Danışmanlık Ltd. Şti. (İzmir, Türkiye)'den, guar gam INCOM A.Ş. (Mersin, Türkiye)'den, nişastanın çapraz bağlanmasında kullanılan glioksal ve tabakların kaplanmasında kullanılan PKL Merck KGaA (Darmstadt, Almanya)'dan, PLA FKur Kunstsoff GmbH (Willich, Almanya)'den, PMMA LG Chem. (Seul, Güney Kore)'den, benzen ve kloroform Interlab Laboratuvar Ürünleri San. ve Tic. A.Ş. (İstanbul, Türkiye)'den temin edilmiştir.

### Nişastanın Glioksal ile Çapraz Bağlanması

Glioksal ile muamele için 2 litrelik bir şişe içerisine buğday (750 g) veya buğday (375 g)-patates (375 g) nişastası tartılmış ve üzerine 1390 mL saf su eklenerek %35'lik süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyona hacimsel olarak %1 oranında (21.4 mL) glioksal (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) mikropipetle eklenmiş ve reaksiyonun tamamlanması için manyetik karıştırıcı ile 24 saat karıştırılmıştır. Çapraz bağlama işleminden sonra süspansiyon +4°C'de 4 saat bekletilerek nişastanın çökmesi sağlanmıştır. Çöken nişastanın üzerinde kalan glioksal-su karışımı gaz yıkama şişesi kullanılarak çekilmiş ve nişasta üstüne tekrar su eklenerek karıştırılmıştır. Bu işlem 3 defa tekrarlanarak serbest glioksalın uzaklaşması sağlanmıştır. Son yıkama işleminden sonra %35'lik nişasta süspansiyonu elde edilecek şekilde çapraz bağlanmış nişastanın üzerine su eklenmiştir.

### Tabakların Üretimi

Tabak üretimi Polat ve ark. 2013'te [20] verilen yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. Bir behere 120 g %35'lik çapraz bağlanmış buğday veya buğday-patates nişastası süspansiyonu tartılıp üzerine nişastanın %7'si (2.94 g) kadar buğday lifi ve nişastanın çökmesini önlemek amacıyla %0.5'i (0.21 g) kadar guar gam eklenerek blender ile homojen hale gelene kadar karıştırılmıştır. Hazırlanan bu karışımlar, değişken kalıplı köpük tabak pişirme makinesinin dikdörtgen kalıbına (20x12x3.5cm) dökülerek pişirilmiştir. Buğday nişastasından üretilen köpük tabaklar (B) 210°C'de 450 saniye pişirilerek,

buğday-patates nişastasından üretilen tabaklar (P) 205°C'de 420 saniye pişirilerek üretilmiştir.

### Tabakların Kaplanması

PKL çözeltisi (%10'luk) 500 mL kloroform içerisinde 50 g PKL çözülerek, %10'luk PLA çözeltisi 1000 mL kloroform içerisinde 100 g PLA çözülerek, %25'lik PMMA çözeltisi 1000 mL benzen içerisinde 250 g PMMA çözülerek hazırlanmıştır.

Köpük tabaklar, hazırlanan çözeltilerle aspiratörlü kabin içerisinde fırça ile sürme yöntemiyle kaplanmıştır. Her bir kaplama malzemesinden tabaklar üzerine kuru bazda 2.25 g olacak şekilde uygulanmıştır.

### Taramalı Elektron Mikroskop Altında Görüntüleme

Örneklerden alınan 1 cm<sup>2</sup>'lik parçalar kesilip üzeri kaplama cihazında (Polaron SC7620, Quorem Technologies, Birleşik Krallık) 150 A° kalınlığında altın-paladyum alaşımı ile kaplanmıştır. Daha sonra taramalı elektron mikroskobu (Zeiss Leo 1430 SEM, Oberkochen, Almanya) yardımıyla tabak yüzey ve kesiti görüntülenmiştir. Kaplama kalınlıkları kesit görüntüleri, kaplanmış yüzeydeki gözenek sayısı ve çapı yüzey görüntüleri incelenerek bulunmuştur

### Yoğunluk

Köpük tabakların taban kısmından 100x25 mm boyutlarında dikdörtgen şeklinde parçalar kesilmiş ve parçaların kalınlıkları bir mikrometre ile ölçülerek hacimleri hesaplanmıştır. Kesilen parçaların ağırlıkları, hacmine bölünerek tabakların yoğunlukları tespit edilmiştir.

### Yüzde Su Emme Miktarı

Yüzde su emme miktarı değerini belirlemek için tabaklar tartıldıktan sonra 25°C'de 1000 mL saf su içerisine 1 dakika batırılmıştır. Daha sonra tabaklar sudan çıkarılmış ve üzerindeki fazla su kâğıt havlu yardımıyla alınmış, 9 dakika oda koşullarında bekletildikten sonra tekrar tartılmıştır. Son örnek ağırlıkları ile başlangıç örnek ağırlığı arasındaki fark tabak başlangıç ağırlığına bölünüp yüzle çarpılarak tabakların yüzde su emme miktarı değerleri hesaplanmıştır [6].

### Su Emme Hızı

Tabakların su emme hızını tayin etmek için tartılan tabak örnekleri üzerine hacminin %70'i kadar saf su konulmuştur. Tabakların suya karşı dirençlerine göre ölçüm periyotları ve sayıları belirlenmiştir. Ölçüm sırasında tabak içerisindeki su dökülmüş, fazla su kâğıt havlu yardımıyla uzaklaştırılmış ve tabakların ağırlıkları ölçülmüştür. Kontrol örneklerinde 5 dakika sonra 1 kez, PKL ile kaplı tabaklar 10 dakikalık periyotlarla 3 kez, PLA ile kaplı tabaklar 30 dakikalık periyotlarla 5 kez, PMMA ile kaplı tabaklar 1 saatlik periyotlarla 5 kez tartılmıştır. Son örnek ağırlıkları ile başlangıç örnek ağırlığı arasındaki fark tabak başlangıç ağırlığına bölünmüş ve bu değerlerin zamana karşı grafiği çizilmiştir [21].



## Simüle Toprak Altında İzleme

Tabakların simüle toprağa gömülerek izlenmesi Rosa ve ark. [22] göre yapılmıştır. Ağırlıkça %23 kum, %23 hayvan gübresi, %23 toprak ve %31 distile su içeren 300 g test düzenekleri hazırlanmıştır. Köpük tabaklardan kesilen örneklerin başlangıç ağırlıkları ölçülmüş ve simüle edilmiş topraklara gömülmüştür. Ağırlık ölçümleri parçalanma hızına göre günlük, haftalık ve aylık olarak yapılmıştır.

## İstatistiksel Analiz

Tabak üretimi ve kaplama uygulaması 2 tekerrürlü ve analizler 2 paralelli olarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar varyans analizi (ANOVA) ile incelenmiştir. Varyans analizi, "SAS for Windows V9" istatistik paketi kullanılarak yapılmıştır.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

### Taramalı Elektron Mikroskop Altında Görüntüleme

Hidrofobik malzemelerle kaplanmış olan çapraz bağlı buğday ve buğday-patates nişastaları karışımından üretilen köpük tabaklara ait SEM yüzey görüntüleri Şekil 1'de kesit görüntüleri ise Şekil 2'de verilmiştir. Yüzey SEM görüntülerinde buğday nişastasından üretilen köpük tabakların yüzeyinde, buğday-patates nişastasından üretilen tabaklara göre daha fazla çatlaklara ve gözeneklere sahip olduğu görülmektedir. Kaplama malzemeleri köpük tabakların yüzeylerini daha pürüzsüz bir hale getirmiştir. Kaplama malzemeleri üzerinde de 5 µm den daha küçük çapta çok sayıda gözenek olduğu görülmektedir. Ayrıca PKL ile kaplanan yüzeylerde çatlaklar ve 15-20 µm çaplarında yer yer deliklerin olduğu görülmektedir. PLC ile kaplamadaki kadar belirgin olmamak beraber PLA ile kaplanan tabakaların yüzeylerinde de çatlaklar olduğu görülmektedir.

Tabaklara ait kesit görüntülerine bakıldığında kaplama malzemelerinin 30-40 µm civarında tabakların üzerinde bir katman oluşturduğu görülmektedir.

### Yoğunluk

Yoğunluk ambalaj maliyetlerini doğrudan etkileyen önemli bir özelliktir. Günümüzde tek kullanımlık genleştirilmiş polistiren köpük (EPS) tabakların yaklaşık 0.06-0.08 g/cm<sup>3</sup> yoğunluğa sahip olması büyük bir maliyet avantajı sağlayarak kullanımın yaygınlaşmasına neden olmuştur. EPS tabaklara alternatif olarak üretilen biyo-bozunur tabakların yoğunluklarının kullanılan nişasta kaynağına, nişastanın çapraz bağlanıp bağlanmadığına ve katkı maddelerine bağlı olarak 0.10-0.48 g/cm<sup>3</sup> arasında değiştiği bildirilmiştir [5, 6, 16, 23]. Bu çalışmada buğday-patates nişastasından üretilen köpük tabakların ortalama yoğunluğu 0.120±0.01 g/cm<sup>3</sup> olup buğday nişastasından üretilenden tabaklarınkinden (0.157±0.02 g/cm<sup>3</sup>) daha düşük olduğu bulunmuştur. Bunun nedeni tabakların SEM kesit görüntülerinden de görüldüğü gibi buğday-patates nişastasından üretilen tabaklardaki

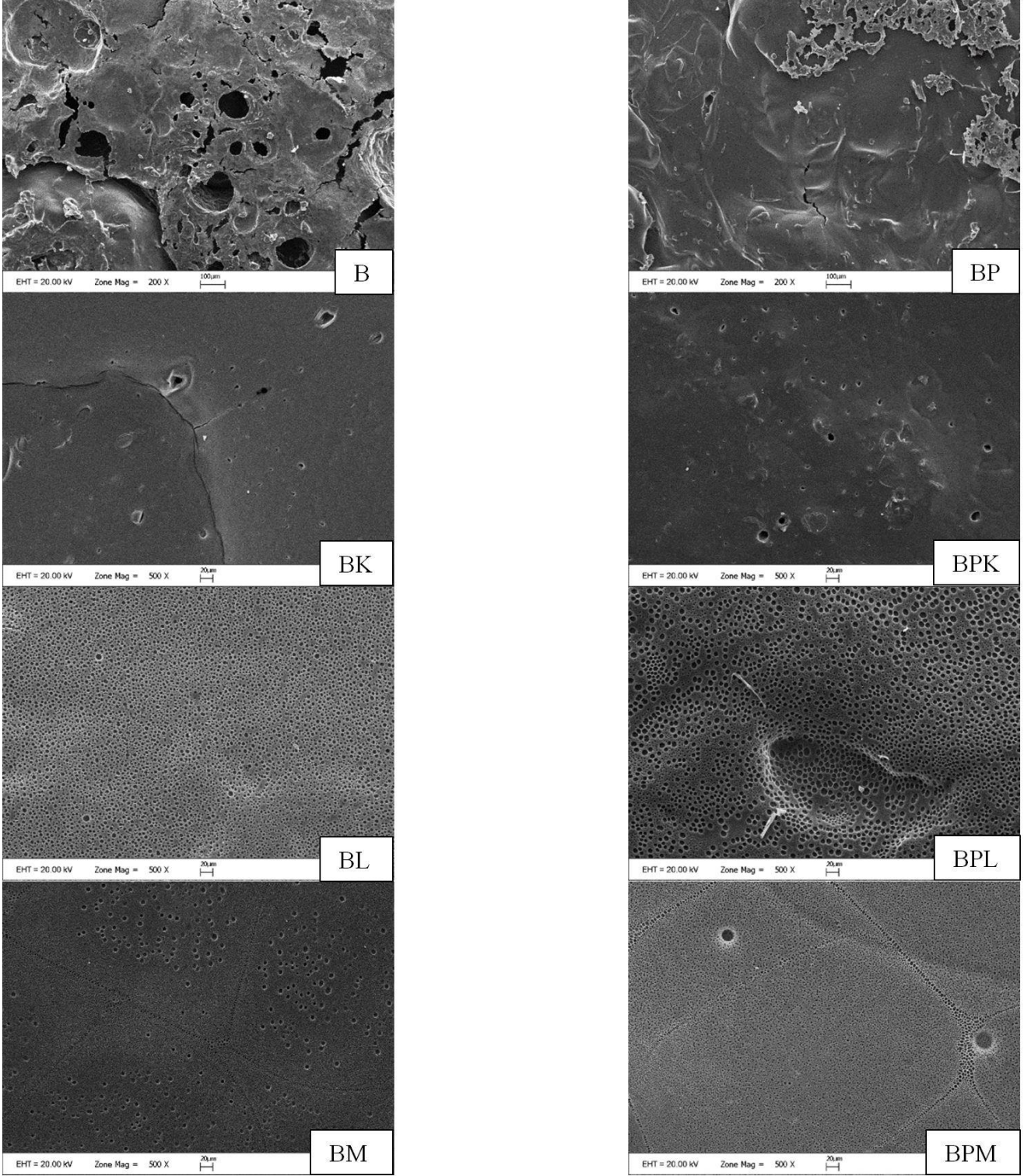
hücrelerin daha büyük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kaplama malzemelerinden PMMA, buğday nişastasından üretilen tabakların yoğunluğunu (0.184±0.01 g/cm<sup>3</sup>), PKL ise buğday-patates nişastasına tabağının yoğunluğunu (0.173±0.01 g/cm<sup>3</sup>) önemli düzeyde artırmıştır. Diğer aynı cins tabakların yoğunlukları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Kaplama malzemelerinin gözenekli yapısı ve tabakların yüzeyinde çok ince bir katman oluşturması nedeniyle tabakların yoğunluk değerlerinde artışa neden olmadığı düşünülmektedir.

### Su Emme Miktarı

Genel olarak buğday nişastasından üretilen tabakların buğday-patates nişastasından üretilen tabaklara göre daha fazla su emdiği, kaplama malzemelerinin ise tabakların yüzde su emme miktarını önemli düzeyde (p<0.01) azalttığı bulunmuştur. Kontrol tabaklarının %130-160 arasında su emdiği tespit edilirken özellikle PLA ve PMMA ile kaplanan köpük tabakların kontrole göre sırasıyla 12 ve 18 kat daha az su emdiği bulunmuştur. Bu çalışmada PLA ile kaplanan, buğday-patates nişastasından üretilen köpük tabaklar %10.3 su emerken PMMA ile kaplananların %7.5 yüzde su emdiği görülmüştür. Aygün ve ark. [8] tarafından yapılan çalışmada çapraz bağlı buğday-patates nişastasından üretilen köpük tabaklara, lif, ZnO nanoparçacıkları ve susuz hidrojene yağ eklendiğinde köpük tabakların yüzde su emme miktarının %5.9'a kadar azaldığı görülmüştür. Dolgu maddesi eklemek kaplama yapmaktan daha başarılı gibi görünse de bunun kaplanmış tabakların iç ve dış kısımlarının birleştiği kenarlarda kalan açık hücrelerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Dolgu maddeleri açık hücreleri de doldururken, bu hücrelerin PLA veya PMMA ile kaplanması mümkün olmamıştır. Kaplanmış tabaklar suya daldırıldığında tabakların su emmesi asıl olarak bu açık kalan kenar kısımlardan gerçekleşmiş, buna bağlı olarak da tabakların üzerindeki kaplama malzemesinin de zar şeklinde tabaklardan ayrıldığı gözlenmiştir. Tabak üretiminde kullanılan kalıpların kenar kısımlarında açık hücre kalmayacak şekilde tekrar dizayn edilmesi durumunda kaplamaların dolgu maddeleri ilavesinden daha başarılı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca dolgu maddesi ilavesinin tabakların yoğunluğunu önemli düzeyde artırdığı da kaydedilmiştir.

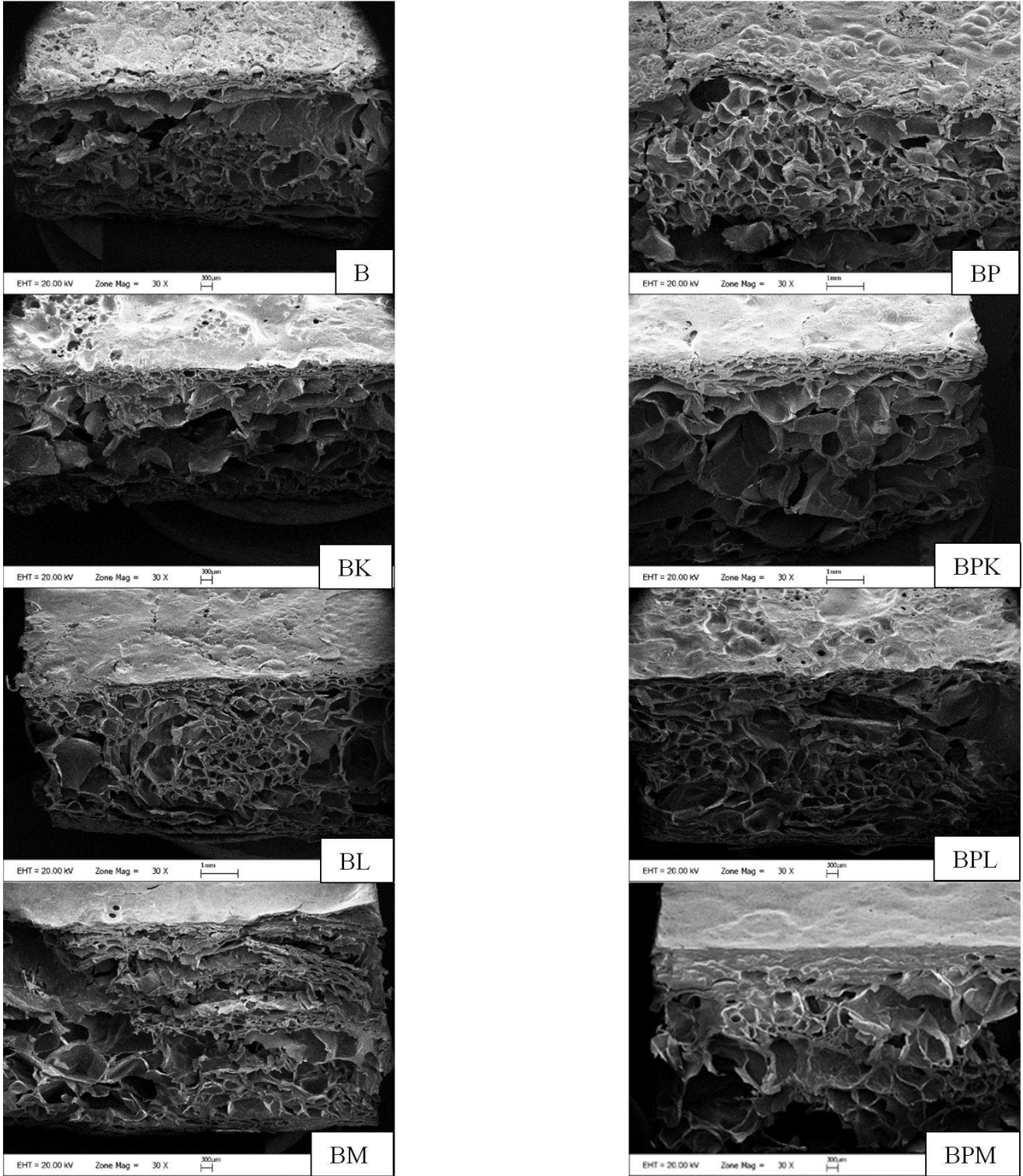
### Su Emme Hızı

Tabakların içine su konularak yapılan bu testte, buğday nişastasından üretilen tabaklar 5. dakikada %157, buğday-patates nişastasından üretilen örnekler ise %140 oranında su emdiği için su emme hızı takip edilememiştir. Polikaprolaktonla kaplamanın tabakların su emme hızını azaltmada çok başarılı olmadığı, PLA ile kaplamanın orta düzeyde, PMMA ile kaplamanın ise su emme hızını azaltmada çok başarılı olduğu bulunmuş ve tabakların su emme hızına bağlı olarak test süresi değişkenlik göstermiştir. SEM görüntülerinde PKL ve PLA kaplanan yüzeylerde görülen delik ve çatlakların tabakların su emme miktarı ve hızını artırdığı düşünülmektedir.



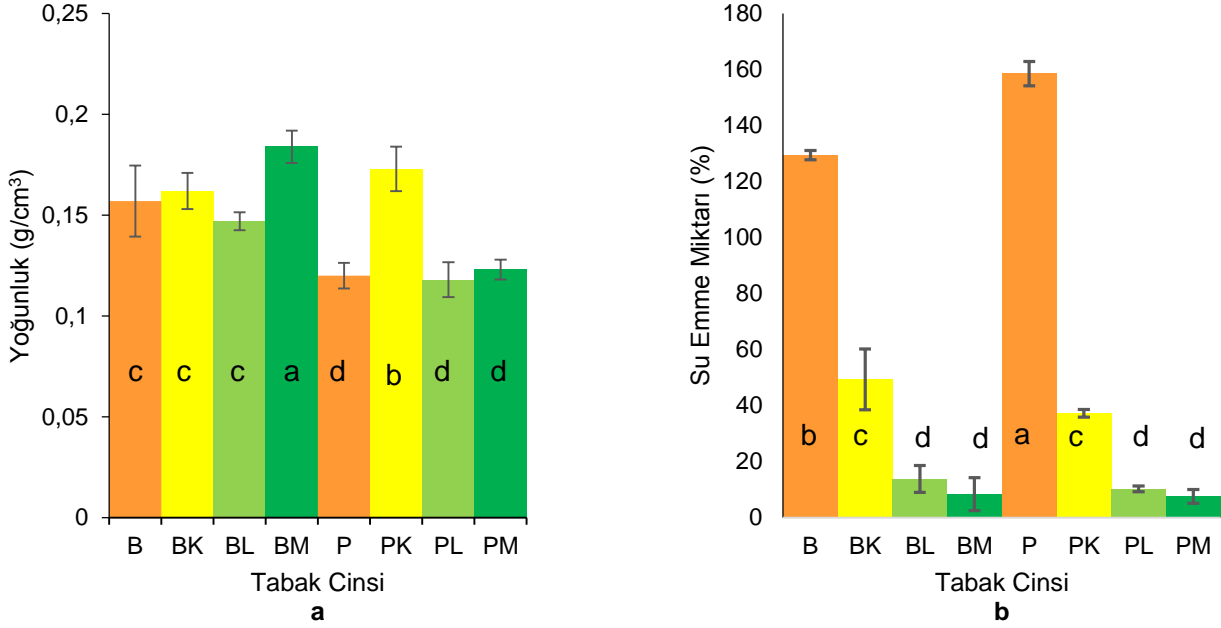
Şekil 1. Farklı malzemelerle kaplanan nişasta bazlı köpük tabakların yüzey SEM görüntüleri (B: Buğday nişastasından, P: Buğday-potates nişastasından üretilen tabakları, K: PKL ile L: PLA ile M: PMMA ile kaplanan tabakları göstermektedir.)

*Figure 1. Surface SEM images of starch-based foam trays coated with different materials (B: trays made from wheat starch, P: trays made from wheat-potato starch, K: trays coated with PKL, L: trays coated with PLA, M: trays coated with PMMA)*



Şekil 2. Farklı malzemelerle kaplanan nişasta bazlı köpük tabakların kesit SEM görüntüleri (B: Buğday nişastasından, P: Buğday-potates nişastasından üretilen tabakları, K: PKL ile L: PLA ile M: PMMA ile kaplanan tabakları göstermektedir.)

*Figure 2. Surface SEM images of starch-based foam trays coated with different materials (B: trays made from wheat starch, P: trays made from wheat-potato starch, K: trays coated with PKL, L: trays coated with PLA, M: trays coated with PMMA)*



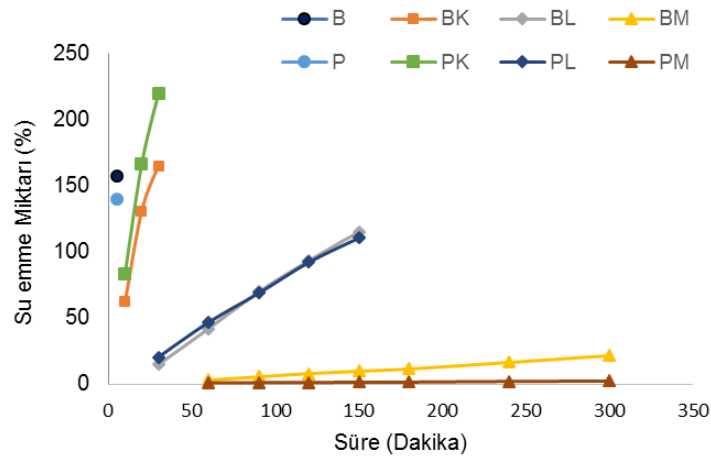
Şekil 3. Farklı malzemelerle kaplanan nişasta bazlı köpük tabakların a) yoğunluk değerleri ve b) yüzde su emme miktarları (Barlar standart sapmayı; farklı harfler ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi'ne göre ( $p < 0.05$ ) farklı olduğunu göstermektedir.)

Figure 3. Graphs represent a) density values and b) percent water absorption of starch-based foam trays coated with different materials [Bars indicate standard deviation, and different letters show that the averages differ according to the Duncan Multiple Comparison Test ( $p < 0.05$ )]

Bergel ve ark. [13] %6'lık PLA çözeltisi ile kaplanmış patates nişastasından üretilen köpük tabakların 40. dakikada ağırlıklarının %56'sı kadar su emdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada PLA ile kaplanan tabakların 60. dakikada yaklaşık %45, 150. dakikada %110 oranında su emdiği bulunmuştur. PLA'nın su emme hızını azaltmada daha başarılı olmasının %10'luk PLA çözeltisi kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Genleştirilmiş polistiren (EPS) tabaklar genelde et ve et ürünleri gibi yüksek su içeren ürünlerin ambalajlanmasında kullanılmaktadır. Suya karşı

yeterince dirençli olmayan nişasta bazlı köpük ürünler zaman içerisinde su emerek mekanik dirençlerini kaybettiği gibi mikrobiyel bozulmaya da açık hale gelmektedir. PMMA ile kaplanan, buğday-patates nişastasından üretilen tabakların 300 dakika sonra sadece %2.3 oranında su emmesi EPS tabakların yerine kullanılabilmesine imkan sağlamaktadır. PMMA biyobozunur bir malzeme olmaması bir dezavantajdır. Ancak PMMA kaplama malzemesi toplam tabak ağırlığının sadece %10'luk kısmını oluşturmaktadır. Bu nedenle tabakların %90 oranında biyobozunur olduğu söylenebilir.

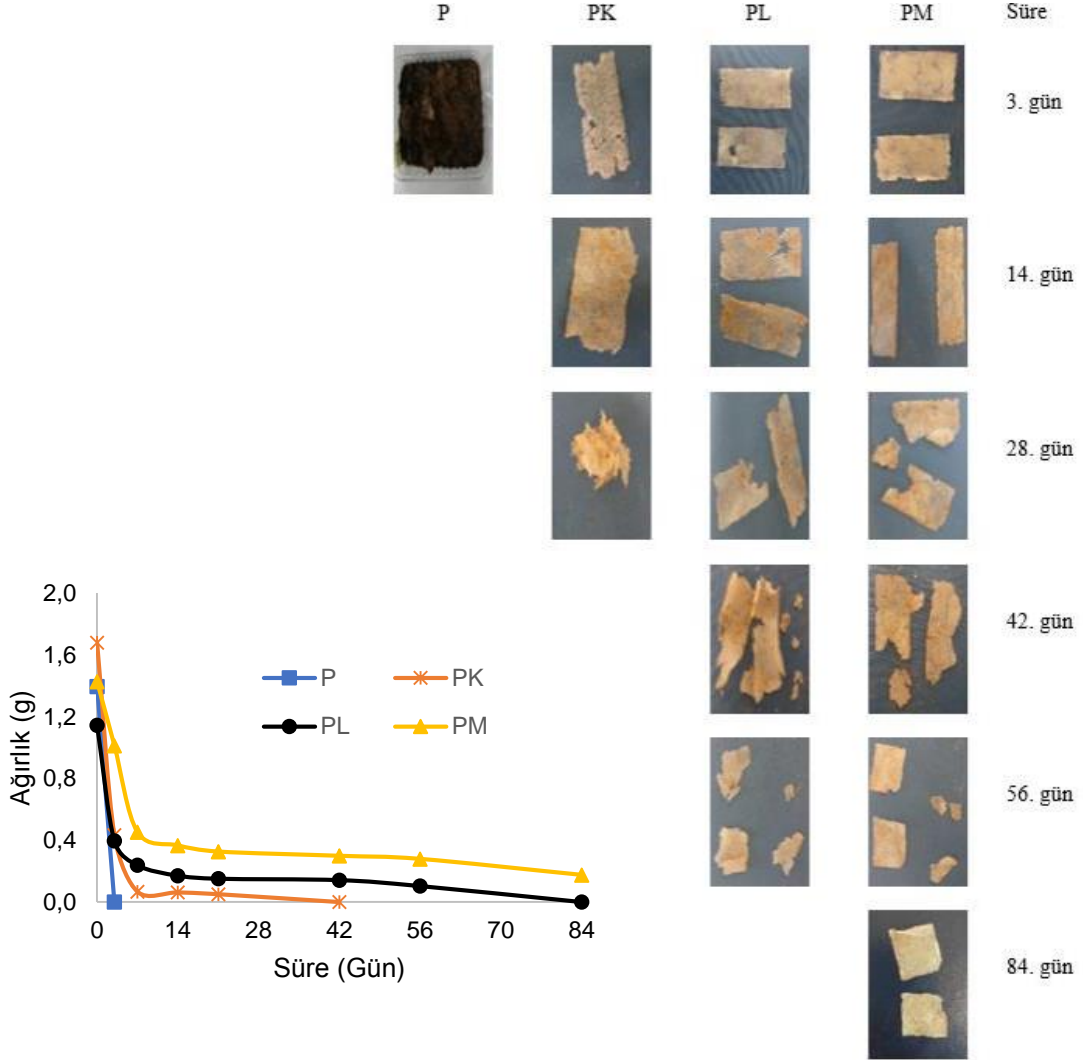


Şekil 4. Farklı malzemelerle kaplanan nişasta bazlı köpük tabakların su emme hızı grafikleri  
Figure 4. Water absorption rates of starch-based foam trays coated with different materials

### Simüle Toprak Altında İzleme

Buğday-patates nişastasından üretilen tabaklardan kesilen parçaların simüle toprak altında görsel değişimleri ve tabak ağırlıklarındaki değişimler Şekil 5'te verilmiştir. Kontrol tabağının 3. günde toprağa karıştığı, kaplanmış

olan tabakların orta kısımlarının da 3. günde toprağa karıştığı, kaplama malzemelerinin film şeklinde kaldığı gözlemlenmiştir. PKL kaplama malzemesinin 42. günde, PLA kaplama malzemesinin ise 84. günde toprağa karıştığı bulunmuştur. PMMA ile kaplanan tabakların 84. günde başlangıçtaki tabak ağırlığının %12.2'sinin parçalanmadan kaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 5. Simüle edilmiş topraklara gömülen buğday-patates nişastasından üretilen köpük tabakların görsel ve ağırlık değişimleri

*Figure 5. Visual and weight changes of foam trays produced from wheat-potato starch embedded in simulated soils.*

### SONUÇ

Buğday-patates nişastasından üretilen köpük tabakların buğday nişastasından üretilenlere göre yoğunluk ve su emme hızı açısından daha üstün bulunmuştur. Hem bu çalışma hem de literatürdeki başka çalışmalar PLA ve PKL gibi biyobozunur polimerlerle kaplamanın nişasta bazlı köpük tabakların suya karşı direncini yeterli düzeyde artırmadığını göstermiştir. PMMA hem gıda ile teması uygun olması hem de su emme hızını çok yeterince düşürmesi nedeniyle nişasta bazlı köpük ürünlerin kaplanması için uygun bir malzeme olduğu

bulunmuştur. Ayrıca 84. günde simüle toprak altında PMMA ile kaplı tabağın yalnız %12.2'sinin kalması tabağın büyük oranda biyo-bozunur olduğunu göstermiştir.





### TEŞEKKÜR

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından FYL-2019-4868 nolu proje ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Baker, I. (2018). Polystyrene. In *Fifty Materials That Make the World*, Edited by Ashby F. Cham: Springer International Publishing, 111-115.
- [2] Franz, R., Welle, F. (2003). Recycling packaging materials. In *Novel Food Packaging Techniques*, Edited by Ahvenainen R. Elsevier, 497-518.
- [3] Dauvergne, P. (2018). Why is the global governance of plastic failing the oceans? *Global Environmental Change*, 51, 22-31.
- [4] Shey, J., Imam, S.H., Glenn G.M., Orts W.J. (2006). Properties of baked starch foam with natural rubber latex. *Industrial Crops and Products*, 24(1), 34-40.
- [5] Salgado, P.R., Schmidt, V.C, Molina, O.S.E., Mauri, A.N., Laurindo, J.B. (2008). Biodegradable foams based on cassava starch, sunflower proteins and cellulose fibers obtained by a baking process. *Journal of Food Engineering*, 85(3), 435-443.
- [6] Uslu, M.K., Polat, S. (2012). Effects of glyoxal cross-linking on baked starch foam. *Carbohydrate Polymers*, 87(3), 1994-1999.
- [7] Willett, J.L., Shogren, R. L. (2002). Processing and properties of extruded starch/polymer foams. *Polymer*, 43(22), 5935-5947.
- [8] Aygün, A., Uslu, M.K., Polat, S. (2017). Effects of starch sources and supplementary materials on starch based foam trays. *Journal of Polymers and the Environment*, 25(4), 1163-1174.
- [9] Soykeabkaew, N., Supaphol, P., Rujiravanit, R. (2004). Preparation and characterization of jute-and flax-reinforced starch-based composite foams. *Carbohydrate Polymers*, 58(1), 53-63.
- [10] Kaisangsri, N., Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N. (2012). Biodegradable foam tray from cassava starch blended with natural fiber and chitosan. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 542-546.
- [11] Kaisangsri, N., Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N. (2014). Characterization of cassava starch based foam blended with plant proteins, kraft fiber, and palm oil. *Carbohydrate Polymers*, 110, 70-77.
- [12] Tawakkal, I.S.M.A., Cran, M.J., Miltz, J., Bigger S.W. (2014). A review of poly(lactic acid)-based materials for antimicrobial packaging. *Journal of Food Science*, 79, 8.
- [13] Bergel, B.F., Luz, L.M., Santana, R.M.C. (2018). Effect of poly(lactic acid) coating on mechanical and physical properties of thermoplastic starch foams from potato starch. *Progress in Organic Coatings*, 118, 91-96.
- [14] Chang, Q., Hao, Y., Cheng, L., Liu, Y., Qu A. (2020). Preparation and performance evaluation of biodegradable corn starch film using poly (lactic acid) as waterproof coating. *Surface Engineering*, 36(6), 665-670.
- [15] Spada, J.C., Seibert, S.F., Tessaro, I.C. (2021). Impact of PLA Poly(Lactic Acid) and PBAT Poly(butylene adipate-co-terephthalate) coating on the properties of composites with high content of rice husk. *Journal of Polymers and the Environment*, 29, 1324-1331.
- [16] Preechawong, D., Peesan, M., Supaphol, P., Rujiravanit, R. (2004). Characterization of starch/poly( $\epsilon$ -caprolactone) hybrid foams. *Polymer Testing*, 23(6), 651-657.
- [17] Ali, U., Karim, K.J.B.A., Buang, N.A. (2015). A review of the properties and applications of poly (methyl methacrylate) (PMMA), *Polymer Reviews*, 55(4), 678-705.
- [18] Ji, M, Li, F., Li, J., Li, J., Zhang, C., Sun, K., Guo, Z. (2021) Enhanced mechanical properties, water resistance, thermal stability, and biodegradation of the starch-sisal fibre composites with various fillers. *Materials & Design*, 198, 109373.
- [19] Chaireh, S., Ngasatool, P., Kaewtatip, K. (2020) Novel composite foam made from starch and water hyacinth with beeswax coating for food packaging applications, *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 1382-1391.
- [20] Polat, S., Uslu, M.K., Aygün, A., Certel, M. (2013). The effects of the addition of corn husk fibre, kaolin and beeswax on cross-linked corn starch foam. *Journal of Food Engineering*, 116(2), 267-276.
- [21] Shogren, R.L., Lawton, J.W., Tiefenbacher, K.F. (2002). Baked starch foams: Starch modifications and additives improve process parameters, structure and properties. *Industrial Crops and Products*, 16(1), 69-79.
- [22] Rosa, D.S., Bardi, M.A.G., Guedes, C.G.F., Angelis, A.D. (2009). Role of polyethylene-graft-glycidyl methacrylate compatibilizer on the biodegradation of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/cellulose acetate blends. *Polymer Advanced Technologies*, 20(12), 863-870.
- [23] Glenn, G., Orts, W., Nobes, G.A. (2001). Starch, fiber and CaCO<sub>3</sub> effects on the physical properties of foams made by a baking process. *Industrial Crops and Products*, 14(3), 201-212.

## Geleneksel Yöntem ile Üretilen Adıyaman Peynirinin Bazı Fizikokimyasal, Tekstürel ve Mikrobiyolojik Özellikleri

Özge Gökçe<sup>1</sup> , Damla Bayana<sup>2</sup> , Ahmet Küçükçetin<sup>3</sup> , Oğuz Gürsoy<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Burdur

<sup>2</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur

<sup>3</sup>Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

Geliş Tarihi (Received): 20.08.2022, Kabul Tarihi (Accepted): 23.11.2022

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [ozgegokce@mehmetakif.edu.tr](mailto:ozgegokce@mehmetakif.edu.tr) (Ö. Gökçe)

📞 0 248 213 3251 📠 0 248 213 3288

### ÖZ

Bu çalışmada, Adıyaman ilinde inek sütünden geleneksel yöntemle üretilen toplam 17 adet Adıyaman peynir örneği farklı üretici ve satış noktalarından temin edilerek bazı fizikokimyasal, tekstürel ve mikrobiyolojik özellikleri açısından incelenmiştir. Peynir örneklerinin kurumadde, pH, tuz, kurumaddede tuz, asitlik, yağ ve kurumaddede yağ içeriği değerlerinin sırasıyla %46.08-61.30, 5.02-6.36, %2.40-15.50, %4.52-25.29, %0.51-1.61, %12.14-22.21 ve %25.02-43.19 aralığında değiştiği belirlenmiştir. Örneklerin L\*, a\* ve b\* değerleri sırasıyla 85.93-92.86, 0.92-4.04 ve 4.52-32.89 aralığında değişkenlik göstermişken sertlik, yapışkanlık, elastikiyet, iç yapışkanlık, çiğnenebilirlik ve esneklik değerlerinin sırasıyla 464.35-5043.93 g, -21.49-(-0.09) g.s, 0.03-0.37, 0.05-0.08 ve 1.82-36.37, 0.03-0.06 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin fosfor içeriği 1863-2562, magnezyum içeriği 179-280, kalsiyum içeriği 4098-6034, sodyum içeriği 4502-24548, potasyum içeriği 525.8-1273, çinko içeriği 1.3-7.94 ve demir içeriği 1.06-32.34 mg/kg aralığında değişmiştir. Adıyaman peynirlerinin doymuş yağ asitleri (SFAs) 69.74-76.75 g/100 g, tekli doymamış yağ asitleri (MUFAs) 18.29-26.10 g/100 g, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFAs) 0.64-4.26 g/100 g ve KLA miktarları 0.735-10.318 mg/g yağ aralığında tespit edilmiştir. Peynir örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri, laktobasil, laktokok ve maya-küf sayıları (log kob/g) ise sırasıyla 7.30-9.38, 5.70-9.28, 7.08-9.38 ve 6.30-8.18 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, Adıyaman peynirlerinin fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve tekstürel özelliklerinin geniş bir aralıkta değişim gösterdiği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Adıyaman peyniri, Tekstür, Mikrobiyoloji, Yağ asitleri kompozisyonu

### Some Physicochemical, Textural and Microbiological Properties of Adıyaman Cheese Produced by Traditional Method

#### ABSTRACT

In the present study, 17 different traditional Adıyaman cow cheese samples were obtained from the local sale points in the province of Adıyaman (Turkey) for the determination of their physicochemical, textural, and microbiological properties. Dry matter, pH, salt, salt (in dry matter), acidity, fat, and fat (in dry matter) content values of cheese samples vary between 46.08-61.30%, 5.02-6.36, 2.40-15.50%, 4.52-25.29%, 0.51-1.61%, 12.14-22.21% and 25.02-43.19%, respectively. On the other hand, L\*, a\*, and b\* values varied between 85.93-92.86, 0.92-4.04, and 4.52-32.89, respectively. Hardness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, chewiness, and resilience values were between 464.35-5043.93 g, -21.49-(-0.09) g.s., 0.03-0.37, 0.05-0.08, 1.82-36.37, 0.03-0.06, respectively. Mineral contents of cheese samples were in the ranges of 1863-2562 mg/kg for phosphorus, 179-280 mg/kg for magnesium, 4098-6034 mg/kg for calcium, 4502-24548 mg/kg for sodium, 525.8-1273 mg/kg for potassium, 1.3-7.94 mg/kg for

zinc and 1.06 to 32.34 mg/kg for iron. Saturated (SFAs), monounsaturated (MUFAs) and polyunsaturated (PUFAs) fatty acids and CLA contents of Adıyaman cheeses were detected in the ranges of 69.74-76.75 g/100 g, 18.29-26.10 g/100 g, 0.64-4.26 g/100 g and 0.735-10.318 mg/g fat, respectively. Total aerobic mesophilic bacteria, lactobacilli, lactococci, and yeast-mold counts in cheese samples were determined in the ranges of 7.30-9.38, 5.70-9.28, 7.08-9.38 and 6.30-8.18 (log cfu/g), respectively. As a result of this study, it was found that the physicochemical, microbiological, and textural properties of traditional Adıyaman cheeses varied in a wide range.

**Keywords:** Adıyaman cheese, Texture, Microbiology, Fatty acid composition

## GİRİŞ

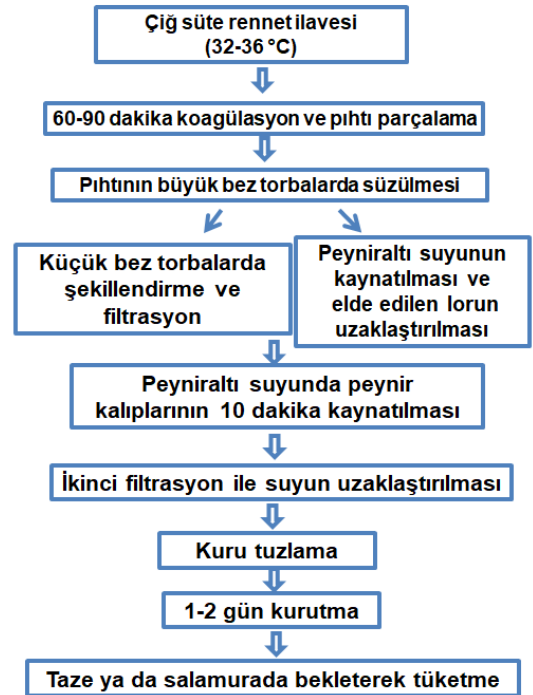
Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2021 yılı süt ve süt ürünleri üretimi verilerine göre ülkemizde yıl boyunca ticari süt işletmeleri tarafından toplanan 10051893 ton inek sütünün, 736095 tonu peynir üretiminde kullanılmıştır [1]. Yine TÜİK tarafından 2022 yılı eylül ayında ticari süt işletmeleri tarafından toplanan 750 461 ton inek sütünün 58693 tonunun peynir üretiminde kullanıldığı rapor edilmiştir [2]. Süt ürünleri arasında en zengin çeşide sahip ürün olan peynirin [3] dünyada toplam 2 bin ile 4 bin, Türkiye’de ise 193 çeşidinin bulunduğu belirtilmiştir [3, 4]. Türkiye, dünya peynir üretimi sıralamasında 4. sırada, peynir ihracatında ise 10. sırada bulunmaktadır [5].

Coğrafi konumuna bağlı olarak Anadolu binlerce yıldır önemli kültür yollarının (İpek Yolu, Baharat Yolu) kesiştiği, kadim uygarlıklara ev sahipliği yapan topraklara sahip olması nedeniyle geleneksel ürünlerin üretilmesinde ve çeşitliliğinin zenginliğinde önemli bir role sahiptir. 783 562 km<sup>2</sup>’lik yüz ölçümü ile geniş bir alana sahip olan ülkemizde, her bölgeye özgü ve farklı özellikte gıdalar üretilmektedir. Bu gıdalar arasında önemli bir yere sahip olan peynir, üretim tekniğine, kullanılan sütün niteliği ve türüne göre farklılık göstermektedir. Ülkemizde çok sayıda peynir çeşidi olmasına karşın bunların önemli kısmı yerel ya da bölgesel olarak üretilmekte ve tüketilmektedir. Geleneksel yöntem ile üretilen peynirler üretildiği bölgeye ekonomik ve istihdam bakımından katkılar sağlamaktadır. Ülkemizde üretilen birçok peynirin çeşitli özellikleri dikkate alınarak sınıflandırılması ve üretim teknolojilerinin geliştirilerek standardize edilmesi, son yıllarda tüketiciler arasında artan bir ilgiye sahip olan geleneksel ürün piyasasında pay sahibi olabilmesi için önem arz etmektedir [3].

Türk Patent ve Marka Kurumu tarafından coğrafi işaret “tüketiciler için ürünün kaynağını, karakteristik özelliklerini ve ürünün söz konusu karakteristik özellikleri ile coğrafi alan arasındaki bağlantıyı gösteren ve garanti eden kalite işareti” olarak tanımlanmaktadır. Coğrafi işaret tescili ile kalitesi, gelenekselliği, yöreden elde edilen hammaddesi ile yerel niteliklere bağlı olarak belli bir üne kavuşmuş ürünlerin korunması sağlanabilmektedir [6]. Coğrafi işaretler, menşe adı ya da mahreç işareti olarak tescil edilmektedir [7].

Ülkemizin Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde tüketilen geleneksel peynirler arasında önemli bir yere sahip olan Adıyaman peyniri (Adıyaman Sincik peyniri) daha çok evlerde üretilmekte olup bu peynir için standart bir üretim yöntemi mevcut değildir. Adıyaman peyniri

üretiminde çiğ inek sütü, koyun sütü, keçi sütü veya bu sütlerin farklı karışımları kullanılmakta, elde edilen pıhtı kamıştan yapılmış özel süzgeçler üzerinde baskıya alınmaktadır. Mikrobiyal güvenliği sağlamak amacıyla baskıya alınan peynirler loru uzaklaştırılan peyniraltı suyu veya su içerisinde kaynatılmakta, daha sonrasında taze ve/veya kuru tuzlama ve/veya salamura yöntemi ile olgunlaştırıldıktan sonra tüketilmektedir. Taze peynirler “Adıyaman peynir helvası” üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır [8, 9]. Ülkemizde üretilen yöresel peynirler üretildiği şehir veya bölge adıyla anılmaktadır [3]. Malatya Ticaret ve Sanayi Odası tarafından 06.07.2022 tarihinde Adıyaman Peyniri ile benzer üretim yöntemine sahip olan [3, 10] Malatya Peyniri için coğrafi işaret (No:1164-Mahreç İşareti) alınmıştır [11]. Bununla birlikte Adıyaman Belediyesi tarafından Adıyaman peyniri için coğrafi işaret alabilmek amacıyla başvuru yapılmıştır [12]. Adıyaman peyniri üretim akışı Şekil 1’de gösterilmiştir [9, 13].



Şekil 1. Adıyaman peyniri üretim basamakları ([9] ve [13]’ten modifiye edilmiştir)

Figure 1. Adıyaman cheese production steps (modified from [9] and [13])

Bu çalışmada; geleneksel Adıyaman peynirinin bazı fizikokimyasal, tekstürel ve mikrobiyolojik özelliklerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Adıyaman peynirine ait

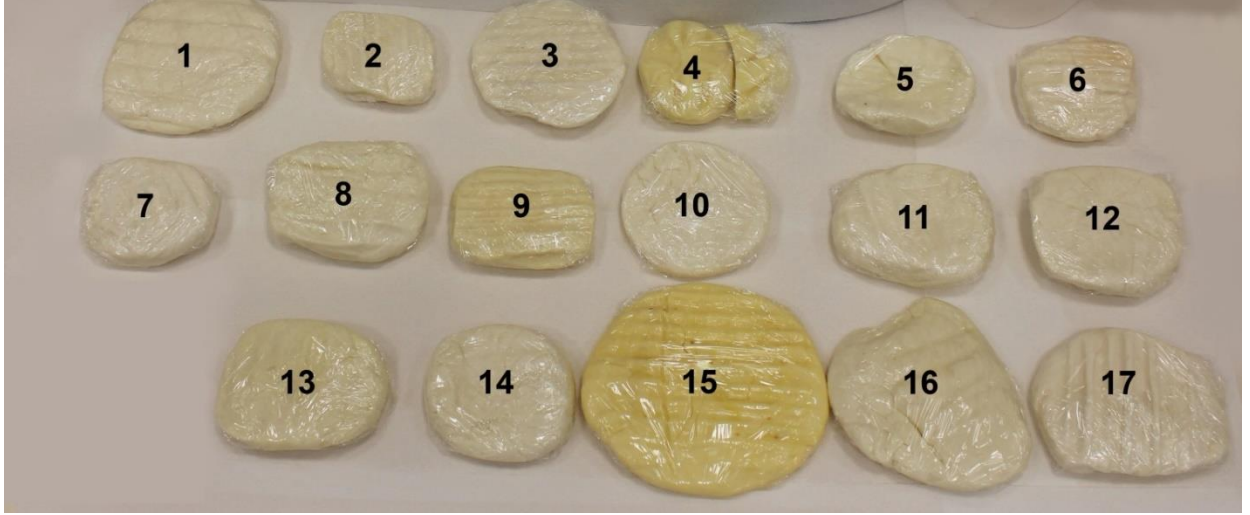


mineral madde ve yağ asitleri kompozisyonu, konjuge linoleik asit içeriği ile ilgili veriler bildiğimiz kadarı ile literatürde ilk kez bu çalışmada yer almaktadır.

## MATERYAL ve METOT

İnek sütünden üretilen 17 adet Adıyaman peyniri (Şekil 2) şehirdeki farklı üreticiler ve satış noktalarından temin

edilerek kuru buz ile sağlanan soğuk zincir koşullarında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezine getirilerek numaralandırılmış ve analizler gerçekleştirilmeye kadar geçen sürede  $+4\pm 1^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2. Adıyaman ilinde farklı üreticiler ve satış noktalarından temin edilen 17 adet peynir numunesi  
*Figure 2. Cheese samples (17) obtained from different producers and sale points in Adıyaman*

### Kurumadde Analizi

Peynir numunelerinin kurumadde miktarları halojen ısıtıcılı nem tayin cihazı (Ohaus MB45, Ohaus, Parsippany, NJ, ABD) kullanılarak tespit edilmiştir. Cihazın önerdiği çalışma koşullarında (kademeli olarak  $170^\circ\text{C}$ 'de 3 dakika,  $150^\circ\text{C}$ 'de 3 dakika,  $135^\circ\text{C}$ 'de 4 dakika) rendelenmiş peynirlerin %kurumadde miktarları belirlenmiştir.

### pH Tayini

Rendelenmiş peynir numuneleri, 50 mL'lik santrifüj tüplerine 10 g tartılıp üzerine 10 mL ultra saf su ilave edilip Ultra Turraks (IKA T18 basic, IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Almanya) (8000 devir/dakika, 15 saniye) kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojen karışımın pH'sı, pH metre (Mettler Toledo Seven Multi, Mettler Toledo, Greifensee, Zürih, İsviçre) ile ölçülmüştür [14].

### Asitlik Tayini

Rendelenmiş peynir numunesi, 250 mL'lik erlene yaklaşık 10 g tartılıp üzerine 10 mL ultra saf su ilave edilerek Ultra Turraks ile (8000 devir/dakika, 15 saniye) homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrası 20 mL ultra saf su ile homojenizerin probu temizlenerek karışıma eklenmiştir. Sonrasında üzerine 4 damla fenolftalein indikatör çözeltisi damlatılıp 0.1 N NaOH çözeltisi ile kaybolmayan açık pembe renk meydana gelinceye kadar titre edilmiştir. Titrasyon sonunda harcanan 0.1 N NaOH miktarına göre %asitlik değeri formül 1'e göre hesaplanmıştır [14].

$$\% \text{Asitlik değeri (Laktik asit olarak)} = \frac{V \cdot N \cdot 0.090 \cdot 100}{m} \quad (1)$$

V: Titrasyonda harcanan NaOH çözeltisi, mL  
N: NaOH çözeltisinin normalitesi  
m: Titrasyonda kullanılan deney numunesi miktarı, g  
0.090: Laktik asidin milieşdeğer gramı

### Tuz Tayini

Rendelenmiş peynir numunesi, 50 mL'lik santrifüj tüplerine yaklaşık 10 g tartılıp üzerine  $60^\circ\text{C}$ 'lik 20 mL ultra saf su ilave edilerek Ultra Turraks ile (8000 devir/dakika, 15 saniye) homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrası homojenizerin probu ultra saf su ile temizlenerek karışıma eklenmiştir. Karışım 100 mL'lik balon jöjeye aktarılıp ultra saf su ile tamamlanmış ve bir dakika çalkalanmıştır. 250 mL'lik erlene cam huni ve filtre kâğıdı yerleştirilmiş ve balon jöjedeki karışım erlene süzümüştür. Süzme işlemi sonrası 5 mL süzümüş örnek ve 5 mL ultra saf su 50 mL'lik erlene aktarılmıştır. Üzerine 4 damla  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  indikatör çözeltisi eklenerek 0.1 N  $\text{AgNO}_3$  ile kaybolmayan kırmızı-kahverengi renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Titrasyon sonunda harcanan 0.1 N  $\text{AgNO}_3$  miktarına göre %tuz değeri Denklem 2'ye göre hesaplanmıştır [14].

$$\% \text{Tuz değeri (g/100 mL örnek)} = \frac{V \cdot N \cdot 0.0585 \cdot 100}{m} \quad (2)$$

V: Titrasyonda harcanan  $\text{AgNO}_3$  çözeltisi, mL  
N:  $\text{AgNO}_3$  çözeltisinin normalitesi  
m: 5 mL'deki örnek miktarı, g  
0.0585: NaCl'nin miliekivalen ağırlığı

## Renk Analizi

Peynir numunelerinin Commission International de L'Eclairage (CIE) L\*, a\* ve b\* renk değerleri kolorimetre (Konica Minolta Chroma Meter CR-400, Konica Minolta Inc., Chiyoda, Tokyo, Japonya) ile peynir kalıplarının 3 ayrı noktasından ölçümler (her ölçüm 3 ışık atışı) alınarak ortalama L\* (aydınlık değeri, 0 siyah, 100 beyaz), a\* [(+) kırmızılık, (-) yeşillik] ve b\* [(+) sarılık, (-) mavilik) değerleri tespit edilmiştir. Renk analizleri D65 aydınlatıcı, 10° gözlemci açısı ve 8 mm çaplı diyafram kullanılarak gerçekleştirilmiştir [15].

## Yağ Ekstraksiyonu, Yağ Asitleri Kompozisyonu ve Konjuge Linoleik Asit (KLA) İçeriklerinin Belirlenmesi

Peynirlerden yağ ekstraksiyonu için, rendelenmiş yaklaşık 20 g peynir numunesi üzerine 60 mL kloroform:metanol (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) (2:1, v/v) karışımından ilave edilmiştir. Yağın çözüne geçebilmesi için örnekler 24 saat boyunca orbital karıştırıcıda (PSU-20i Multi-functional Orbital Shaker, Biosan, Riga, Letonya) karıştırılmıştır. Peynir parçacıklarının çözünen (kloroform-metanol) ayrılması için karışım kaba filtre kâğıdından geçirilmiş ve işlem tüm yağın çözüne geçmesini sağlamak amacıyla birkaç kez tekrarlanarak çözünen-yağ karışımı sabit tartıma getirilen evaporatör balonu içerisinde toplanmıştır. Balon içerisinde toplanan çözünen-yağ karışımından, çözünen yaklaşık 45°C'de rotary evaporatör (Hei-Vap Advantage HL/HB G3, Heidolph Instruments GmbH&Co., Schwabach, Bavyera, Almanya) yardımı ile vakum altında uzaklaştırılmıştır [16, 17]. Yağ içerisindeki kalıntı çözünen 40°C'lik etüvde tamamen uçurulduktan sonra, sabit tartıma getirilerek %yağ miktarı tespit edilmiştir. Ekstrakte edilen yağ, yağ asitleri kompozisyonu ve konjuge linoleik asit (KLA) analizlerinde kullanılmak üzere -18°C'de muhafaza edilmiştir. Peynirlerin yağ asitleri kompozisyonu ekstrakte edilen yağlarda kuadropol kütle spektrometresi (MS) dedektörü (Agilent 5975 C, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) ile uyumlu gaz kromatografisi (GC) cihazı (Agilent 7890A, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Yağ asitleri metil esterleri Yılmaz ve Seçilmiş [18]'in kullandıkları yöntemle göre hazırlanmıştır. 200 µL ekstrakte yağ 1 mL 1.5 M metanolik HCl ile karıştırılıp 80°C'de 2 saat bekletilmiştir. Yağ asitlerinin metil esterleri oda sıcaklığına soğuyan karışım üzerine 0.5 mL ultra saf su ilave edildikten sonra 1 mL heksan ile ekstrakte edilmiştir. GC-MS analizinde 70 eV iyonizasyon enerjisine sahip elektron iyonizasyon sistemi kullanılmıştır. Fragment iyonları 30-500 m/z kütle aralığında tarama modunda analiz edilmiştir. Analizde CP-WAX 52 CB kapiler kolon (fused silica, 50 m x 0.25 mm, 0.20 µm film kalınlığı; Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 1 µL'dir. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları 240°C'dir. Taşıyıcı gaz helyumun akış oranı 1 mL/dakika olarak ayarlanmıştır. Kolon fırın sıcaklığı 4 dakika için 60°C'ye, 60°C'den 175°C'ye 13°C/dakika sıcaklık artışı, 27 dakika 175°C'de bekleme, 175°C'den 215°C'ye 4°C/dakika sıcaklık artışı ve 5 dakika için 215°C'de

bekleme, 215°C'den 240°C'ye dakikada 4°C sıcaklık artışı ve 15 dakika süresince 240°C'de bekleme olacak şekilde ayarlanmıştır. Analizde 1/20 split oranı kullanılmıştır. Yağ asitleri, yağ asidi metil esterleri standart karışımı (Supelco® 37 Component FAME Mix, Katalog No: 47885 U, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) ve konjuge linoleik asit standardı (Sigma Chemical Company, P Kodu: 1002398739, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) kullanılarak tanımlanmıştır.

## Tekstür Profil Analizi (TPA)

Peynir numuneleri tekstür profil analizi (TPA) için her bir numuneden 2'şer adet (2x1x1 cm) ölçülerinde, yüzeylerinde pürüz olmayacak şekilde kesilerek hazırlanmıştır. TPA'nın koşulları, TA-XT2 (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, Birleşik Krallık) P/35 alüminyum silindirik probu (35 mm çap) kullanılarak, test hızı 2 mm/s, ön test hızı 1.0 mm/s ve son test hızı 5 mm/s, gerinim %20, tetikleme kuvveti 5 g ve bekleme süresi 5 s olacak şekilde ayarlanmıştır [13]. Numunelerin sertlik, yüzey yapışkanlık, elastikiyet, iç yapışkanlık, çignenebilirlik ve esneklik özellikleri belirlenmiştir.

## Mineral Madde Tayini

Rendelenmiş peynir numunelerinden yaklaşık 0.5 g alınarak teflon kaplarda tartılmış ve üzerine 6 mL HNO<sub>3</sub> (%65, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) ve 2 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (%30, Sigma Aldrich) ilave edilip mikrodalga yakma sisteminde (Milestone Start D, Milestone Srl, Sorisole, Bergamo, İtalya) iki aşamalı sıcaklık programı (ilk aşamada mikrodalga yakma sistemi 15 dakikada 110°C'ye çıkarılmış, ikinci aşamada 110°C'de 15 dakika bekletilmiştir) kullanılarak yakılmıştır [19]. Mikrodalga yakma sistemi soğuduktan sonra teflon kaplardaki berrak sıvı numuneler 50 mL'lik kapaklı santrifüj tüplerine aktarılmış ve son hacim 50 mL olacak şekilde ultra saf su ile seyreltilmiştir. Mineral madde analizleri (P, Mg, Ca, Na, K, Zn, Fe) İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES, Perkin Elmer Optima 8000, Perkin Elmer, Waltham, MA, ABD) ile yapılmıştır [20].

## Mikrobiyolojik Analizler

Peynir numunelerinin toplam aerobik mezofilik bakteriler (TAMB), laktobasil, laktokok ve maya-küf sayımları Karagözlü ve ark. [21]'nin belirledikleri yöntemle gerçekleştirilmiştir. Peynir numuneleri mikrobiyolojik analizler için biyogüvenlik kabininin (Sınıf 2, Bilser, Ankara, Türkiye) içinde açılarak, steril filtreli stomacher poşetinin içine 10 g tartılmış ve 90 mL tamponlanmış peptonlu su (Peptone water buffered; acc. to ISO 6579, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) ile seyreltilerek stomacherde (AES, Easymix, AES Chemunex, Combourg, Fransa) 3 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrası 7. dilüsyona kadar hazırlanan tüplerden steril petrilere 1'er mL aktarılmıştır. Daha sonra 45°C'lik su banyosunda bekletilen PCA'da (Plate Count Agar, Merck KGaA) toplam aerobik mezofilik bakterilerin, MRS Agar'da (Lactobacillus Agar acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE, Merck KGaA) laktobasillerin, M17 Agar'da (M17 Agar acc. to Terzaghi,

Merck KGaA) laktokokların ve PDA'da (Potato Dextrose Agar, Merck KGaA) maya-küflerin sayımlarını gerçekleştirmek amacı ile dökme plak yöntemiyle çalışılmıştır. Petrilere yaklaşık 15-16 mL ilgili besiyerinden dökülmüş ve 8 şeklinde dairesel hareketlerle besiyeri-dilüsyon karışımının homojen dağılımı sağlanmıştır. Besiyeri dökülen petrilere TAMB sayımı için PCA besiyerleri aerobik koşullarda 30°C'de 48 saat; laktobasil sayımı için MRS besiyerleri aerobik koşullarda 35°C'de 72 saat, laktokok sayımı için M17 besiyerleri aerobik koşullarda 37°C'de 48 saat ve maya-küf sayımı için PDA besiyerleri aerobik koşullarda 25°C'de 3-5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süreleri sonunda 30-300 arasında koloni oluşan petrilere sayım yapılmıştır.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

Adıyaman ilindeki farklı üreticilerden ve satış noktalarından temin edilen ve 1'den 17'ye kadar numaralandırılan Adıyaman peynirlerinin pH ve asitlik (%laktik asit) değerleri ile kurumadde, tuz, kurumaddede tuz, yağ ve kurumaddede yağ içerikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Bu çalışmada Adıyaman peynir örneklerine ait kurumadde değerlerinin %46.08-61.30 arasında değişkenlik gösterdiği ve 17 farklı örneğin ortalama kurumadde değerinin ise %52.29±3.79 olduğu belirlenmiştir. Yöresel Adıyaman peynirleri üzerine yapılan bir çalışmada 15 farklı peynir örneği için ortalama kurumadde değeri %52.65 olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada örneklerin kurumadde içerikleri ise %47.94-60.74 aralığında tespit edilmiştir [22]. Ceylan ve ark. [9] üretimlerini gerçekleştirdikleri Adıyaman peynirlerinin kurumadde değerlerinin %41.98-70.20 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Eren Karahan ve ark. [13], yılın 4 farklı ayında (nisan, mayıs, haziran, temmuz) temin ettikleri 60 adet taze Adıyaman peynirinin bazı özelliklerini belirledikleri çalışmalarında kurumadde içeriklerinin %43.31-70.66 arasında değiştiğini saptamışlardır. Bu çalışmada Adıyaman peynirlerinin ortalama kurumadde değerlerinin konu ile ilgili diğer çalışmalarla genel olarak uyumlu olduğu, bazı farklılıkların üretimde kullanılan sütlerin bileşimi ve üretim yönteminden kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.

Araştırmada Adıyaman peynirlerinin pH değerlerinin 5.02-6.36 arasında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca 17 farklı örneğin ortalama pH değeri ise 5.76±0.43 olarak belirlenmiştir. Yöresel Adıyaman peynirleri üzerine yapılan bir çalışmada 15 farklı peynir örneğinin ortalama pH değeri 5.13 olarak bulunmuş olup örneklerin pH değerlerinin 4.88-5.42 arasında değiştiği saptanmıştır [22]. Ceylan ve ark. [9] tarafından üretimleri gerçekleştirilen çalışmada Adıyaman peynirlerinin pH değerlerinin 5.62-7.07 arasında değiştiği, ortalama pH değerinin ise 6.57 olduğu belirlenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada Adıyaman peynirlerinin pH değerlerinin 5.07-7.10 arasında değiştiği tespit edilmiştir [13]. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar literatürdeki bazı çalışma sonuçları ile benzerlik, bazı çalışma sonuçları

ile farklılıklar göstermiştir. Bu farklılıkların da süt bileşimi ve üretim yöntemi kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada farklı örnekler için tespit edilen laktik asit cinsinden %asitlik değerleri %0.51-1.61 arasında değişkenlik göstermiş ve 17 farklı örneğin ortalama asitlik değeri ise %1.00±0.33 olarak belirlenmiştir. Yöresel Adıyaman peynirleri üzerine yapılan bir çalışmada 15 farklı peynir örneğinin laktik asit cinsinden %asitlik değerlerinin %0.12-1.70 arasında değiştiği ve ortalama %asitlik değerinin %0.49 olduğu saptanmıştır [22]. Eren Karahan ve ark. [13] tarafından yapılan bir çalışmada Adıyaman peynirlerinin %asitlik değerlerinin 0.05-0.69 arasında değiştiği belirtilmiştir. Gerçekleştirilen çalışmada elde edilen sonuçlar, [13]'de elde edilen sonuçlardan daha yüksek bulunmuştur. Asitlik değerleri açısından hem bu çalışmadaki peynir örnekleri arasındaki bazı farklılıkların hem de bu çalışmadaki sonuçlar ile diğer çalışmalara ait sonuçlar arasındaki bazı farklılıkların Adıyaman peynirlerinin üretimlerinde kullanılan sütlerin ve üretim yöntemlerinin farklılığından kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.

Adıyaman peynirlerinin tuz içerikleri yağ ve kuru bazda ayrı ayrı belirlenmiştir. Peynirlerin tuz içerikleri 2.40-15.50 arasında değişkenlik göstermiş olup ortalama tuz içeriği ise %8.31±3.58 olmuştur. Örneklerin tuz içerikleri kurumaddeye göre değerlendirildiğinde, %4.52-25.29 olarak tespit edilmiştir. Uludağ [22], yöresel Adıyaman peynirleri üzerine yaptığı çalışmada 15 farklı peynir örneğinin tuz içeriklerini %3.85-6.01 aralığında ve ortalama %4.51 olarak belirlemiştir. Eren Karahan ve ark. [13] Adıyaman peynirlerinin bazı özelliklerini değerlendirdikleri çalışmalarında; peynir örneklerinin tuz ve kurumaddede tuz değerlerinin sırasıyla %1.17-10.59 ve %2.20-19.87 arasında olduğunu, yaz ve bahar aylarındaki değişimin önemli olmadığını (p>0.05) bildirmişlerdir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği [23] Ek 4'de 13 ayrı peynir çeşidi için belirlenen kurumaddede tuz miktarları %3.0-7.5 aralığındadır. Adıyaman peynirlerinin kurumaddede tuz miktarları ile ilgili elde edilen sonuçların büyük bir çoğunluğu mevzuatta izin verilen değerlerin üzerindedir. Aynı tebliğin Ek 3'ünde peynirler kurumaddede yağ miktarlarına göre 4 sınıfa (tam yağlı, yarım yağlı, az yağlı, yağsız) ayrılmış ve yarım yağlı, az yağlı ve yağsız peynirlerde Ek 4'deki (peynirlerin nem ve kurumaddedeki tuz içerikleri) neme ilişkin yüzde değerlere 5 birim ilave yapılması gerektiği bildirilmiştir. Bu durum günlük beslenmede yüksek miktarda tuz kullanımına bağlı olarak ortaya çıkabilecek çeşitli sağlık sorunlarının önlenmesi açısından tüketim miktarlarının belirlenmesinde dikkate alınmaya değerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçların literatürdeki bazı çalışma sonuçları ile uyumlu olduğu belirlenmiş, ancak tüketici tercihleri, peynirlerin yapılış yöntemleri ve farklı oranlarda tuz uygulamalarına bağlı olarak Adıyaman peynirlerinin tuz içeriklerinin geniş bir aralıkta değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Numunelerde yağ içerikleri yağ ve kuru bazda ayrı ayrı tespit edilmiştir. Peynir örneklerinin yağ içerikleri %12.14-22.21 arasında değişkenlik göstermiş olup ortalama yağ içeriği ise %18.39±2.65 olmuştur. Adıyaman peynirlerinin yağ içerikleri kurumaddeye göre

değerlendirildiğinde %25.02-43.19 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'ne [23] göre tüm peynirlerin yarım yağlı peynir sınıfına ( $25 \leq$  kurumadede %yağ < 45) girdiği tespit edilmiştir. Uludağ [22]; yöresel Adıyaman peynirleri üzerine yaptığı bir çalışmada 15 farklı peynir örneğinin yağ içeriklerini %16.73-28.24 aralığında ve ortalama %22.71 olarak belirlemiştir. Ayrıca çalışmada örneklerin kurumadede bazında ölçümediği yağ içeriği ise %27.54-51.50 aralığında değişmekle birlikte ortalama %43.30 olarak saptanmıştır [22]. Eren Karahan ve ark. [13]'ün; Adıyaman peynirlerinin bazı özelliklerini

değerlendirdikleri çalışmalarında, yağ ve kurumadede yağ içerikleri sırasıyla %18.00-%37.30 ve %39.00-55.79 aralığında tespit edilmiştir. Köse ve ark. [24] 25 adet Malatya peyniri üzerinde yaptıkları bir çalışmada ortalama yağ içeriğini  $27.60 \pm 1.73$  olarak saptamışlardır. Peynire işlenecek sütlerin bileşimlerindeki farklılıklar, peynir kalitesini ve verimini doğrudan etkilediğinden standardizasyon işlemi önem taşımaktadır. Peynirlerin yağ değerlerinin geniş bir aralıkta değişim göstermesinin üretimlerde standardize olmayan çiğ sütlerin kullanılması olmasından kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir [25].

Tablo 1. Adıyaman peynirlerinin bazı fizikokimyasal özellikleri

*Table 1. Some physicochemical properties of Adıyaman cheeses*

Örnek Kodu	%Kurumadde	pH	%Asitlik	%Tuz	%Tuz (KM)	%Yağ	%Yağ (KM)
1	53.85±0.98	5.87±0.02	0.81±0.03	7.23±0.44	13.43±1.01	19.75±0.22	36.68±0.48
2	47.68±1.94	6.30±0.01	0.51±0.04	10.21±0.32	21.42±0.35	19.44±0.19	40.83±2.09
3	53.98±0.55	6.35±0.02	0.61±0.10	12.11±0.29	22.44±0.75	18.75±0.01	34.75±0.37
4	61.30±0.42	5.65±0.04	0.97±0.01	15.50±0.53	25.29±0.83	15.90±0.58	25.95±1.01
5	48.97±1.00	6.25±0.08	0.59±0.09	11.50±0.09	23.48±0.35	17.76±0.56	36.27±0.69
6	54.21±0.61	6.36±0.03	0.55±0.07	9.19±0.23	16.95±0.45	20.06±0.54	37.01±1.06
7	48.64±0.67	5.68±0.16	1.03±0.00	8.19±0.64	16.85±1.45	18.69±0.42	38.44±0.78
8	48.98±0.28	5.50±0.00	1.43±0.02	11.58±0.12	23.65±0.33	18.40±0.38	37.57±0.65
9	58.06±1.05	5.78±0.00	0.92±0.06	12.29±1.76	21.13±2.68	22.21±0.09	38.26±0.85
10	54.14±0.36	5.62±0.01	1.02±0.03	3.80±0.76	7.02±1.44	21.12±0.40	39.01±0.63
11	51.43±0.27	5.65±0.01	1.18±0.09	5.67±0.06	11.03±0.07	16.33±0.29	31.74±0.44
12	50.86±0.77	5.58±0.27	1.15±0.06	6.49±1.70	12.77±3.29	17.96±0.11	35.33±0.60
13	53.06±0.73	5.02±0.16	1.39±0.06	2.40±0.12	4.52±0.21	20.81±0.36	39.21±0.70
14	54.76±0.27	5.23±0.06	1.61±0.13	9.71±1.52	17.74±2.84	13.70±0.90	25.02±1.55
15	46.08±0.16	5.77±0.00	1.16±0.04	4.50±0.29	9.78±0.67	12.14±0.02	26.33±0.06
16	51.11±0.22	5.03±0.01	1.34±0.16	5.35±0.26	10.48±0.56	21.41±0.21	41.90±0.58
17	51.87±0.20	6.25±0.02	0.76±0.00	5.56±0.18	10.71±0.35	18.25±0.31	35.18±0.65
En düşük	46.08	5.02	0.51	2.40	4.52	12.14	25.02
En yüksek	61.30	6.36	1.61	15.50	25.29	22.21	41.90
Ortalama	52.29±3.79	5.76±0.43	1.00±0.33	8.31±3.58	15.81±6.37	18.39±2.65	35.26±5.07

Adıyaman peynirlerinin L\*, a\* ve b\* değerlerinin (Tablo 2) sırasıyla 85.93-92.86, 0.92-4.04 ve 4.52-32.89 arasında olacak şekilde geniş bir aralıkta değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca Şekil 2'de de 17'den 17'ye kadar numaralandırılan numunelerin renkleri belirgin bazı farklılıklara görülebilmektedir. Üretimlerinde kullanılan sütlerin elde edildiği ineklerin beslenme farklılıklarından kaynaklı olarak peynirlerin L\*, a\* ve b\* değerlerinde bazı farklılıklar olduğu düşünülmektedir. Kahyaoğlu ve ark. [26] farklı yağ oranlarında ve kaynama derecelerinde üretilen Gaziantep peynirlerinin L\* ve b\* değerlerinin sırasıyla 61.54-84.40 ile 6.54-16.54 arasında olduğunu belirlemişlerdir. Atasoy ve ark. [27] farklı kaynama sıcaklık ve sürelerine sahip Urfa peynirlerinin L\*, a\* ve b\* değerlerinin sırasıyla 80.32-86.09, -1.50-(-1.11) ve 12.35-16.23 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Erbay ve ark. [28] Hellim peynirinin L\*, a\* ve b\* değerlerinin sırasıyla 89.1-92.2, -0.2 ile -3.6 ve 15.3-20.9 arasında olduğunu saptamışlardır. Peynirlerin renk özelliği; üretimde kullanılan süte, yağ fazının kalite özelliklerine, peynir üretim tekniğine ve olgunlaşma sürecindeki biyokimyasal değişikliklere bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir [13]. Tablo 2.'de peynirlerin L\*, a\* ve b\* renk analiz sonuçları gösterilmiştir.

Sütte bulunan mineral maddelerin, sütün fiziksel ve kimyasal özellikleri, besin değeri ve işleme teknolojisi yönünden önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Kalsiyum,

fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum başta olmak üzere her bir element beslenme fizyolojisi açısından büyük öneme sahiptir. Sütteki mineral maddeler; süt proteinlerinin kimyasal yapısının stabilize edilmesinde, rennet enziminin kazein kompleksi üzerindeki etkisinin desteklenmesinde, sütün ısıtma işlemlere karşı direncinde ve bazı süt ürünlerinde aroma oluşumunda rol oynamaktadır. Sütün mineral madde içeriği hayvanın ırkı, türü, bireysel özelliği gibi genetik faktörler, laktasyon durumu, beslenme, mevsim değişiklikleri ve meme hastalıklarına bağlı olarak değişebilmektedir [29, 30]. Tablo 3'de Adıyaman peynirlerinin mineral madde miktarları gösterilmiştir.

Adıyaman peynirinin mineral madde içeriği ile ilgili veriler bildiğimiz kadarı ile literatürde ilk kez bu çalışmada yer almaktadır. Adıyaman peyniri ile benzer üretim prosedürüne sahip olan Malatya peyniri üzerine Köse ve ark. [24]'ün yaptıkları çalışmada mineral madde içerikleri sırasıyla Ca, 3237.89-7081.07 mg/kg; Mg, 548.44-806.09 mg/kg; K, 347.23-922.35 mg/kg; P, 82.24-233.65 mg/kg; Fe, 3.81-11.68 mg/kg ve Zn, 11.88-30.62 aralığında saptanmıştır. Bu araştırmada Köse ve ark. [24]'ün yaptıkları çalışmada bulunan değerler ile bazı benzerlikler olmakla birlikte bazı farklılıklar da olduğu tespit edilmiştir. Yaşar ve ark. [31] farklı tuzlama yöntemleri (kuru tuzlama ve salamura) ile ürettikleri, farklı depolama sıcaklıklarında (7 ve 20°C)

muhafaza ettikleri (120 gün) Malatya peynirleri üzerine yaptıkları çalışmalarında, tuzlama yönteminin, depolama sıcaklığı ve süresinin peynirlerin mineral madde içeriğini önemli düzeyde etkilediğini bildirmişlerdir. Adıyaman peynir örneklerinin mineral madde içerikleri arasındaki

farklılıkların üretimlerde kullanılan çiğ sütün mineral madde içeriklerinin, peynir üretimi sırasındaki baskı sürelerinin, peyniraltı suyu miktarı ve dolayısıyla kurumada içeriklerinin farklılığından kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.

Tablo 2. Adıyaman peynirlerinin bazı renk özellikleri

*Table 2. Some color characteristics of Adıyaman cheeses*

Örnek Kodu	L*	a*	b*
1	90.64±1.80	3.31±0.12	7.52±0.15
2	87.22±1.74	3.21±0.14	8.04±0.61
3	90.94±0.95	3.45±0.10	7.42±0.90
4	88.22±1.05	0.92±0.47	24.16±1.48
5	92.50±0.86	2.13±0.32	9.83±1.21
6	86.16±1.71	2.48±0.15	9.20±0.52
7	92.69±0.13	4.04±0.10	4.52±1.08
8	91.74±0.79	2.53±0.10	8.97±0.44
9	85.93±2.03	2.37±0.41	17.26±0.74
10	92.30±0.48	2.88±0.17	7.70±0.48
11	92.03±2.04	2.83±0.13	7.65±0.74
12	92.86±1.99	2.95±0.15	7.17±0.56
13	92.67±0.31	2.36±0.20	13.62±0.70
14	91.01±2.49	2.21±0.04	10.45±0.80
15	86.83±1.45	1.81±0.05	32.89±1.74
16	88.88±0.31	2.20±0.20	10.74±0.72
17	89.63±3.94	3.46±0.06	6.99±0.71
En düşük	85.93	0.92	4.52
En yüksek	92.86	4.04	32.89
Ortalama	90.13±2.79	2.66±0.74	11.42±7.11

Tablo 3. Adıyaman peynirlerinin mineral madde içerikleri (mg/kg)\*

*Table 3. Mineral content of Adıyaman cheeses (mg/kg)\**

Örnek Kodu	P (λ: 214.91)	Mg (λ: 279 nm)	Ca (λ: 315.8 nm)	Na (λ: 588.9)	K (λ: 766.4)	Zn (λ: 213.8)	Fe (λ: 259.9 nm)
1	2562.00	225.00	5280.00	8739.00	1132.00	7.76	28.41
2	2304.00	225.00	5593.00	10913.00	725.30	7.15	< LOD
3	2034.00	274.00	5014.00	15953.00	755.10	6.65	17.77
4	2531.00	200.00	5391.00	24548.00	712.30	5.81	6.69
5	2516.00	220.00	5684.00	16226.00	525.80	7.91	1.81
6	2392.00	222.00	6017.00	13670.00	787.60	1.30	< LOD
7	2095.00	254.00	4696.00	8582.00	669.50	5.05	12.52
8	1925.00	179.00	4098.00	10922.00	678.10	7.79	1.06
9	2152.00	184.00	4882.00	19135.00	648.10	5.76	8.34
10	2044.00	182.00	4794.00	7494.00	841.60	4.72	32.34
11	1995.00	221.00	5239.00	18685.00	1273.00	5.32	7.92
12	1863.00	210.00	4551.00	9297.00	719.80	4.49	< LOD
13	2240.00	224.00	5619.00	4502.00	737.80	3.78	7.33
14	2355.00	232.00	6034.00	14887.00	643.30	4.95	< LOD
15	2276.00	211.00	4680.00	11587.00	736.60	< LOD	1.24
16	1985.00	280.00	4336.00	6497.00	715.20	7.94	< LOD
17	1986.00	246.00	4958.00	16830.00	725.40	3.23	< LOD
En düşük	1863.00	179.00	4098.00	4502.00	525.80	1.30	1.06
En yüksek	2562.00	280.00	6034.00	24548.00	1273.00	7.94	32.34
Ortalama	2191.47±224.55	222.88±28.97	5109.76±564.52	12851.00±5289.26	766.26±179.16	5.60±2.29	11.40±10.11

\*: LOD: tespit limiti (limit of detection)

Konu ile ilgili literatür incelendiğinde, Adıyaman peynirlerinde yağ asitleri kompozisyonu ve KLA miktarlarının belirlendiği bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Hayvansal kaynaklı yağda tipik bir yağ asidi ve süt ürünlerinin yararlı bileşenlerinden biri olan KLA, süt yağının özel bir trans yağ asididir. Peynirdeki miktarı 0.1-2.5 g/kg arasında değişmektedir. KLA konjuge doymamış çift bağlar içeren linoleik asit (C<sub>18:2</sub>) izomerlerinin karışımından oluşmaktadır. Temel izomeri süt ürünlerindeki toplam KLA'nın %82'den fazlasını oluşturan *cis*-9, *trans*-11 oktadekadienoik asittir [32]. Peynirlerin KLA içeriğini etkileyen faktörler çiğ sütün özellikleri, işleme teknolojisi, olgunlaştırma süresi,

kullanılan rennet enziminin kaynağı, havayla temas, oksidatif reaksiyonlar, lipit dağılımındaki farklılıklar, mikrobiyal çeşitlilik ve hayvana ait özelliklerdir [16]. On yedi farklı Adıyaman peyniri üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada peynir örneklerinin doymuş yağ asitleri (SFAs) 69.74-76.75 g/100 g, tekli doymamış yağ asitleri (MUFAs) 18.29-26.10 g/100 g, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFAs) 0.64-4.26 g/100 g ve KLA miktarları 0.735-10.318 mg/g yağ aralığında tespit edilmiştir. Peynirlerin ortalama KLA miktarları 2.57 mg/g yağ olarak hesaplanmıştır. Peynir örneklerinin KLA içeriklerindeki farklılıkların, üretimde kullanılan çiğ sütün bileşim farklılığından, üretim yönteminin

değişkenlik göstermesinden kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir. Peynirlerin yağ asitleri kompozisyonlarının ve KLA içeriğinin çoğunlukla coğrafi köken, hayvanın beslenme türü, çiğ sütün yağ asitleri ve

KLA içeriği, kullanılan starter kültür ve üretim ile olgunlaşma koşullarına bağlı olduğu bildirilmektedir [33]. Adıyaman peynirlerin yağ asidi kompozisyonu Tablo 4'te, KLA miktarları ise Tablo 5'te sunulmuştur.

Tablo 4. Farklı Adıyaman peynir örneklerinin yağ asidi kompozisyonu (g/100 g)\*  
*Table 4. Fatty acid composition of different Adıyaman cheese samples (g/100 g)\**

Bileşen Adı	Peynir Örnekleri										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
C4:0	0.52	0.76	0.68	0.70	0.51	0.72	0.55	0.57	0.55	0.63	0.54
C6:0	0.92	0.90	0.96	0.88	1.03	0.89	0.98	0.68	0.85	1.00	0.87
C8:0	0.83	0.71	0.83	0.69	0.90	0.71	0.83	1.85	0.67	0.91	0.74
C9:0	0.02	0.02	0.03	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01
C10:0	2.47	1.84	2.28	1.68	2.37	1.78	2.07	2.66	1.74	2.50	1.95
C11:0	0.05	0.04	0.07	0.03	0.04	0.03	0.03	0.08	0.02	0.03	0.03
C12:0	3.80	2.63	3.31	2.59	3.28	2.60	2.93	1.99	2.40	3.43	2.78
C11:1 n-1	0.10	0.06	0.09	0.10	0.08	0.07	0.08	0.04	0.04	0.06	0.08
C14:0	14.26	10.79	13.11	12.47	13.71	11.73	11.98	13.25	12.53	13.81	12.54
C15:0	2.18	1.59	1.74	1.97	1.65	1.57	1.63	1.83	1.90	1.55	1.63
C16:0	35.16	35.05	36.70	36.51	38.93	34.67	31.96	38.10	39.04	34.13	39.76
C16:1 n-7	0.21	0.96	0.13	0.17	0.13	0.17	0.17	0.17	0.21	0.15	0.14
C17:0	0.77	0.92	0.62	0.81	0.63	0.60	0.64	0.67	0.83	0.70	0.92
C18:0	9.86	13.95	11.02	9.11	10.67	14.90	19.35	8.18	12.65	11.16	9.53
C18:1	20.59	23.97	22.95	24.92	21.00	23.29	19.71	24.23	21.14	21.05	19.46
C18:2 n-6	1.69	0.28	0.68	1.00	0.09	0.19	0.18	0.17	0.53	2.93	2.23
C19:0	0.12	0.15	0.13	0.23	0.13	0.16	0.15	0.18	0.19	0.08	0.07
C18:3 n-3	0.10	0.99	0.47	0.98	0.45	0.25	1.07	0.69	1.49	0.15	0.10
C18:3 n-6	0.29	0.26	0.25	0.91	0.23	1.45	0.28	0.23	0.32	0.88	0.64
C20:0	0.32	0.23	0.21	0.97	0.17	0.24	0.25	0.24	0.21	0.41	0.23
C20:1 n-9	0.06	0.91	0.06	0.91	0.14	0.11	0.17	0.09	0.07	0.16	0.10
C20:3 n-7,10,13	0.11	0.04	0.14	0.95	0.03	0.03	0.03	0.04	0.06	0.13	0.03
C21:0	0.06	0.90	0.03	0.96	0.20	0.21	0.23	0.17	0.15	0.04	0.18
C20:4n-6,9,12,15	0.24	0.19	0.20	0.07	0.06	0.06	0.29	0.10	0.50	0.17	0.10
C22:0	0.15	0.98	0.09	0.13	0.09	0.09	0.10	0.89	0.14	0.23	0.24
Diğerleri	5.12	0.88	3.22	0.25	3.46	3.46	4.32	2.89	1.76	3.69	5.10
SFAs	71.49	71.46	71.81	69.74	74.33	70.92	73.7	71.35	73.88	70.63	72.02
MUFAs	20.96	25.9	23.23	26.1	21.35	23.64	20.13	24.53	21.46	21.42	19.78
PUFAs	2.43	1.76	1.74	3.91	0.86	1.98	1.85	1.23	2.9	4.26	3.10

Bileşen Adı	Peynir Örnekleri									
	12	13	14	15	16	17	En Düşük	En Yüksek	Ortalama	
C4:0	0.94	0.41	0.52	0.45	0.42	0.58	0.41	0.94	0.59±0.14	
C6:0	0.82	0.81	0.94	0.74	0.93	1.00	0.68	1.03	0.89±0.09	
C8:0	2.03	0.66	0.87	0.58	1.17	0.89	0.58	2.03	0.93±0.40	
C9:0	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.03	0.01	0.03	0.02±0.01	
C10:0	1.21	1.67	2.59	1.57	4.11	2.48	1.21	4.11	2.17±0.65	
C11:0	0.01	0.02	0.04	0.02	0.03	0.07	0.01	0.08	0.04±0.02	
C12:0	2.66	2.29	3.54	2.35	2.49	3.55	1.99	3.80	2.86±0.53	
C11:1 n-1	0.07	0.06	0.08	0.03	0.05	0.08	0.03	0.10	0.07±0.02	
C14:0	11.92	12.45	14.68	13.66	10.74	12.98	10.74	14.68	12.74±1.11	
C15:0	1.52	2.02	1.75	1.23	1.40	1.73	1.23	2.18	1.70±0.23	
C16:0	36.49	39.23	34.28	43.92	34.03	39.71	31.96	43.92	36.92±2.96	
C16:1 n-7	0.13	0.17	0.13	0.31	0.19	0.06	0.06	0.96	0.21±0.20	
C17:0	0.56	0.76	0.69	0.78	0.72	0.59	0.56	0.92	0.72±0.11	
C18:0	11.74	12.46	15.11	10.56	14.59	11.80	8.18	19.35	12.16±2.76	
C18:1	24.17	20.64	17.97	19.37	23.31	18.53	17.97	24.92	21.55±2.18	
C18:2 n-6	0.25	0.93	0.15	0.12	1.11	0.15	0.09	2.93	0.75±0.83	
C19:0	0.07	0.46	0.13	0.11	0.62	0.61	0.07	0.62	0.21±0.18	
C18:3 n-3	0.22	0.70	0.36	0.21	0.78	0.41	0.10	1.49	0.55±0.40	
C18:3 n-6	0.24	0.24	0.29	0.20	0.98	0.22	0.20	1.45	0.47±0.37	
C20:0	0.05	0.20	0.20	0.10	0.61	0.19	0.05	0.97	0.28±0.22	
C20:1 n-9	0.03	0.08	0.11	0.17	0.04	0.12	0.03	0.91	0.20±0.27	
C20:3 n-7,10,13	0.19	0.04	0.04	0.03	0.08	0.03	0.03	0.95	0.12±0.22	
C21:0	0.09	0.16	0.18	0.28	0.12	0.17	0.03	0.96	0.24±0.27	
C20:4n-6,9,12,15	0.71	0.24	0.07	0.08	0.06	0.08	0.06	0.71	0.19±0.18	
C22:0	0.69	0.11	0.11	0.16	0.21	0.37	0.09	0.98	0.28±0.29	
Diğerleri	3.18	3.18	5.15	2.96	1.19	3.57	0.25	5.15	3.14±1.44	
SFAs	70.81	73.72	75.65	76.52	72.21	76.75	69.74	76.75	72.76±2.12	
MUFAs	24.40	20.95	18.29	19.88	23.59	18.79	18.29	26.10	22.02±2.39	
PUFAs	1.61	2.15	0.91	0.64	3.01	0.89	0.64	4.26	2.07±1.07	

\*: SFAs: Doymuş Yağ Asitleri, MUFAs: Tekli Doymamış Yağ Asitleri, PUFAs: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

Tablo 5. Adıyaman peynirlerinin konjuge linoleik asit içerikleri (mg/g yağ)

*Table 5. Conjugated linoleic acid content of Adıyaman cheeses (mg/g fat)*

Örnek Kodu	Konjuge Linoleik Asit
1	2.298
2	0.735
3	1.355
4	2.726
5	0.992
6	1.211
7	10.318
8	0.853
9	5.667
10	1.466
11	1.050
12	1.690
13	1.172
14	1.483
15	4.652
16	4.054
17	1.950
En düşük	0.735
En yüksek	10.318
Ortalama	2.57±2.45

Bu çalışmada Adıyaman peynirleri için gerçekleştirilen tekstür profil analizleri kapsamında örneklerin sertlik, yapışkanlık, elastikiyet, iç yapışkanlık, çignenebilirlik ve

esneklik parametreleri incelenmiştir. Bu parametrelere ait sonuçlar Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Adıyaman peynirlerinin tekstür profil analizi sonuçları

*Table 6. Texture profile analysis results of Adıyaman cheeses*

Örnek Kodu	Sertlik (g)	Yapışkanlık (g.s)	Elastikiyet	İç Yapışkanlık	Çignenebilirlik	Esneklik
1	1918.72±18.37	-13.24±10.16	0.04±0.01	0.06±0.01	4.49±1.82	0.04±0.00
2	1984.93±232.28	-2.23±1.39	0.20±0.16	0.06±0.00	25.20±22.06	0.04±0.00
3	2700.79±158.28	-2.35±0.63	0.06±0.00	0.09±0.00	12.74±0.70	0.05±0.00
4	5043.93±0.00	-0.09±0.00	0.05±0.00	0.08±0.00	18.71±0.00	0.06±0.00
5	2271.08±294.87	-5.58±1.16	0.04±0.00	0.06±0.00	5.51±0.18	0.03±0.00
6	3767.66±277.11	-21.49±17.38	0.04±0.00	0.07±0.00	11.43±0.20	0.04±0.00
7	378.91±119.92	-13.67±12.41	0.09±0.06	0.06±0.00	2.34±1.83	0.03±0.00
8	485.54±68.75	-2.68±1.58	0.17±0.13	0.06±0.01	4.24±3.25	0.03±0.00
9	3187.30±65.64	-9.28±0.46	0.04±0.00	0.06±0.00	7.50±0.18	0.03±0.00
10	1132.91±49.25	-21.29±11.47	0.03±0.00	0.05±0.00	1.82±0.22	0.03±0.00
11	3145.21±247.45	-6.98±2.43	0.04±0.00	0.06±0.00	6.65±0.20	0.03±0.00
12	1580.33±40.39	-15.70±14.47	0.25±0.21	0.07±0.00	26.05±21.67	0.04±0.00
13	1247.35±223.95	-2.58±1.89	0.37±0.02	0.08±0.00	36.37±7.06	0.04±0.00
14	4605.83±17.15	-3.46±2.71	0.04±0.01	0.06±0.01	12.48±2.89	0.04±0.00
15	1420.12±83.88	-21.25±16.18	0.04±0.00	0.07±0.00	3.46±0.20	0.04±0.00
16	464.35±54.60	-19.30±11.94	0.22±0.18	0.06±0.00	6.61±5.57	0.03±0.00
17	1718.74±333.94	-6.51±1.31	0.04±0.00	0.06±0.00	4.25±0.91	0.04±0.00
En düşük	464.35	-21.49	0.03	0.05	1.82	0.03
En yüksek	5043.93	-0.09	0.37	0.08	36.37	0.06
Ortalama	2179.63±1373.68	-9.86±10.46	0.10±0.12	0.06±0.01	11.17±11.69	0.04±0.01

Peynir örneklerinin sertlik değerleri 464.35-5043.93 g aralığında değişkenlik göstermiştir. Eren Karahan ve ark. [13] Adıyaman peynirleri üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada örneklerin sertlik değerlerinin 574.42-29457.80 g aralığında değiştiğini belirlemişlerdir [13]. Bu çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında, çalışmamızdaki Adıyaman peynirlerinin sertlik değerlerinin daha düşük olduğu görülmektedir. Köse ve ark. [24] 25 adet Malatya peyniri ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında sertlik değerlerinin 1347.82-29823.56 g olarak geniş bir

aralıkta değiştiğini bildirmişlerdir [24]. Peynirlerin sertlik değerinin yağ, nem ve mineral madde içeriği olmak üzere üç faktöre bağlı olduğu, yüksek su veya yağ içeriği nedeniyle, peynirlerden ayrılan protein moleküllerinin yumuşaklığı arttırdığı bildirilmektedir [34]. Bu çalışmada da kurumadde oranı yüksek olan peynir örneklerinin sertlik değerlerinin daha yüksek olduğu görülmüştür.

Adıyaman peynirlerinin yapışkanlık (g.s) değerleri -21.49 ile -0.09, elastikiyet değerleri 0.03 ile 0.37, iç yapışkanlık değerleri 0.05 ile 0.08, çiğnenebilirlik değerleri 1.82-36.37 ve esneklik değerleri 0.03 ile 0.06 arasında değişkenlik göstermiştir. Eren Karahan ve ark. [13] Adıyaman peynirlerinin yapışkanlık, elastikiyet, iç yapışkanlık, çiğnenebilirlik ve esneklik değerlerini sırasıyla; -72.40-0.02 g.s, 0.35-0.84, 0.76-0.93, 460.36 ve 35978.12 aralığında belirlemişlerdir. Adıyaman peyniri için standardize bir üretim yönteminin olmamasına bağlı olarak, tekstür profil analizini etkileyen faktörlerin (bileşim, yapısal özellikler, olgunlaşma

düzeyi) çeşitliliğinin söz konusu değerler arasındaki farklılığa sebep olabileceği düşünülmektedir.

Adıyaman peynirlerine ait minimum, maksimum ve ortalama TAMB, laktobasil, laktokok ve maya-küf sayıları Tablo 7’de gösterilmiştir. Örneklerin TAMB sayısı 7.30-9.38 log kob/g aralığında bulunmuş, ortalama TAMB sayısı ise 8.46±0.56 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada Adıyaman peynirlerinin TAMB sayısının 5.94-8.56 log kob/g arasında değiştiği, örneklerin ortalama TAMB sayısının ise 7.44 log kob/g olduğu belirtilmiştir [9].

Tablo 7. Adıyaman peynirlerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g)

*Table 7. Microbiological analysis results of Adıyaman cheeses (log cfu/g)*

Örnek Kodu	Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri	Laktobasil	Laktokok	Maya-Küf
1	8.30	8.08	8.23	7.70
2	7.65	7.28	7.53	7.20
3	8.34	5.78	7.80	7.83
4	8.11	7.48	8.11	7.43
5	8.15	5.70	7.45	7.85
6	7.30	6.65	7.08	6.93
7	8.68	8.41	8.72	7.78
8	8.86	8.58	8.78	7.95
9	8.74	6.30	8.78	6.30
10	8.93	8.08	8.94	7.74
11	8.08	7.60	8.23	7.34
12	8.48	8.41	8.48	7.83
13	9.38	9.28	9.38	8.18
14	9.26	8.88	9.38	7.91
15	8.80	6.30	8.74	8.08
16	8.86	8.72	9.18	8.00
17	7.92	5.85	7.32	7.68
En düşük	7.30	5.70	7.08	6.30
En yüksek	9.38	9.28	9.38	8.18
Ortalama	8.46±0.56	7.49±1.19	8.36±0.72	7.63±0.47

Adıyaman ilindeki farklı üretici ve satış noktalarından temin edilen 17 adet taze Adıyaman peynirlerinde laktobasil ve laktokok sayıları sırasıyla; 5.70-9.28 log kob/g ile 7.08-9.38 log kob/g aralığında değişkenlik göstermiştir. Adıyaman peynirlerinde ortalama laktobasil ve laktokok sayıları sırasıyla 7.49±1.19 ve 8.36±0.72 log kob/g olarak belirlenmiştir. Adıyaman peynirlerindeki maya-küf sayılarının ortalama 7.63±0.47 log kob/g olduğu ve 6.30-8.18 log kob/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Ceylan ve ark. [9] üretimlerini gerçekleştirdikleri Adıyaman peynirlerindeki maya-küf sayılarının 3.84-6.86 log kob/g arasında değiştiğini ve örneklerdeki ortalama maya-küf sayısının 5.23 log kob/g olduğunu tespit etmişlerdir. Özel koşullarda küf suşları ile üretilen ve/veya olgunlaştırılan peynirler hariç peynir kalitesinin maya-küf sayısı ile ters orantılı olduğu bilinmektedir [35]. Küflenme, peynirin görünüş ve kokusunda istenmeyen değişikliklere neden olmasının yanında mikotoksin oluşturarak sağlık sorunlarına da yol açabilmektedir [36]. Adıyaman peynirlerinde maya-küf sayılarının yüksek olmasının peynirlerin hijyenik koşullarda üretilmediğinin önemli bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. Çiğ süttten üretilen peynirlerde üretim alanı ve çiğ süt, peynirdeki starter olmayan laktik asit bakterilerinin temel kaynağıdır. Pastörize süttten üretilen bazı peynirlerde de bulunabilen starter olmayan laktik asit bakterilerinin kaynağı ise ısıtma işlemi yetersiz

uygulanması ya da ısıtma işlemi sonrası bulaşmadır. Çiğ süttten üretilen peynirlerin mikroflorası, pastörize süttten üretilenlere göre daha karmaşıktır [37]. Konu genel olarak değerlendirildiğinde, peynirlerle ait mikrobiyolojik analiz sonuçlarındaki değişkenliğin üretim koşulları, peynire işlenen çiğ sütlerin mikrobiyolojik kalitesi ve üretim sonrası muhafaza şartlarının farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

## SONUÇ

Geleneksel peynirlerin üretim yöntemlerinin belirlenmesi ve özelliklerinin incelenmesi, bu tür peynirleri büyük ölçekte üretebilmek ve geleneksel çeşitliliği koruyabilmek açısından önem taşımaktadır. Bu çalışmada Adıyaman ilindeki farklı üretici ve satış noktalarından temin edilen 17 adet Adıyaman peynirinin fizyokimyasal, mikrobiyolojik ve tekstürel özelliklerinin oldukça geniş bir aralıkta değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durumun hammadde özelliklerinin değişkenliğinden ve peynir üretiminde uygulanan farklı işlemlerden kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir. Ayrıca Adıyaman peynirlerinin maya-küf sayısının yüksek olması üretim koşullarının hijyenik şartlar açısından iyileştirilmesi gerekliliğini ortaya koymuştur. Günlük beslenmede fazla tuz tüketimine bağlı olarak yüksek tansiyon, çeşitli böbrek rahatsızlıkları ve sinir



dokularında fonksiyon bozuklukları gibi sağlık sorunları ile karşılaşabilmektedir. Peynirlerin tuz analiz sonuçları değerlendirildiğinde mevzuatta izin verilen kurumaddede tuz miktarlarından yüksek değerler tespit edilmiştir. Bu durumun olası sağlık sorunları meydana gelmemesi için günlük beslenmede tüketilecek peynir miktarları açısından dikkate alınmasında fayda olacaktır. Bununla birlikte bağışıklık sistemini güçlendirici özellikleri ve kanser ve diyabet önleyici etkileri gibi sağlığa faydalı birçok özelliği bildirilen konjuge linoleik asit içeriği açısından geleneksel Adıyaman peynirlerinin önemli bir kaynak olabileceği değerlendirilmiştir. Adıyaman peynirleri için coğrafi işaret tescili çalışmalarına hız kazandırılması ve bir standart dahilinde Adıyaman peyniri üretimlerinin gerçekleştirilmesi, bu peynirin üretim ve tüketim ağının zenginleşmesi bakımından önem arz etmektedir.

## TEŞEKKÜR

Adıyaman peynirlerini şehirdeki farklı üreticiler ve satış noktalarından temin ederek soğuk zincir koşullarında laboratuvarlarımıza ulaştırılmasını sağlayan Ezgi GÖKÇE ŞAHİNGÖZ ve Berkay ŞAHİNGÖZ ile analizlerin gerçekleştirilmesindeki yardımlarından dolayı Esin İNCÜCÜK'e teşekkür ederiz. Ayrıca analizlerin gerçekleştirilmesi sırasında alt yapı ve diğer imkânlarından yararlandığımız Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne teşekkür ederiz.



## KAYNAKLAR

- [1] Anonim (2022). Türkiye İstatistik Kurumu, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Sut-ve-Sut-Urunleri-Uretimi-Ocak-2022-45748>.
- [2] Anonim (2022). Türkiye İstatistik Kurumu, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Sut-ve-Sut-Urunleri-Uretimi-Eylul-2022-45757>.
- [3] Çakmakçı, S. (2011). Türkiye peynirleri. Peynir Biliminin Temelleri. Editörler: Hayaloğlu, A.A., Özer, B. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir, s585-615.
- [4] Anonim. (2019). Ulusal Süt Konseyi, 2018 Dünya ve Türkiye'de Süt Sektör İstatistikleri Özet Raporu, [https://ulusalsutkonseyi.org.tr/wp-content/uploads/Sut\\_Raporu\\_2018\\_Web\\_Kapakli.pdf](https://ulusalsutkonseyi.org.tr/wp-content/uploads/Sut_Raporu_2018_Web_Kapakli.pdf).
- [5] Anonim. (2022). Ulusal Süt Konseyi, 2021 Dünya ve Türkiye'de Süt Sektör İstatistikleri Özet Raporu <https://ulusalsutkonseyi.org.tr/wp-content/uploads/2021-Sut-Raporu.pdf>.
- [6] Anonim. (2022). Türk Patent ve Marka Kurumu, <https://ci.turkpatent.gov.tr/sayfa/co%C4%9Frafii%C5%9Faret-nedir>.
- [7] Anonim. (2017). 6769 Sınai Mülkiyet Kanunu (2017). Kabul Tarihi: 22.12.2016, Yayımlandığı resmi gazete: 10.1.2017, Sayı: 29944, 88 s.
- [8] Anonim. (2022). [https://tr.wikipedia.org/wiki/Ad%C4%B1yaman\\_Sin\\_cik\\_peyniri](https://tr.wikipedia.org/wiki/Ad%C4%B1yaman_Sin_cik_peyniri).
- [9] Ceylan, H.G., Demir, T., Kurt, Ş. (2019). Geleneksel olarak üretilen Adıyaman peynirinin bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Adyutayam*, 7(1), 1-13.

- [10] Yaşar, D., Köse, Ş. (2022). Geleneksel yöntemle üretilen Malatya peynirinin bazı kimyasal ve biyokimyasal özellikleri üzerine ambalaj çeşidi ve farklı depolama koşullarının etkisi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(4), 2237-2248.
- [11] Anonim. (2022) Mahreç işareti, No: 1164 Malatya peyniri, Tescil ettiren: Malatya Ticaret ve Sanayi Odası.
- [12] Anonim. (2022). Adıyaman Belediyesi, <https://ci.adiyaman.bel.tr/>.
- [13] Eren Karahan, L., Çelikel Güngör, A., Akın, M.S., Akın, M.B., Ceylan, H.G. (2022). Determination of quality properties of traditional Adıyaman cheese produced from sheep milk. *Adıyaman Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16, 117-128.
- [14] Anonim (1995). Türk Standartları Enstitüsü, Beyaz Peynir Standardı, TS 591, Ankara.
- [15] Gürsoy, O., Yılmaz, Y., Gökçe, Ö., Ertan, K. (2016). Effect of ultrasound power on physicochemical and rheological properties of yoghurt drink produced with thermosonicated milk. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(4), 235-241.
- [16] Aydoğan, M.B. (2022). Olgunlaştırılmış Kaşar Peynirlerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri, Yağ Asidi Kompozisyonu ve Konjuge Linoleik Asit İçeriği. Yüksek Lisans Tezi. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Burdur.
- [17] Castro-Gómez, M.P., Rodríguez-Alcalá, L.M., Calvo, M.V., Romero, J., Mendiola, J.A., Ibañez, E., Fontecha, J. (2014). Total milk fat extraction and quantification of polar and neutral lipids of cow, goat, and ewe milk by using a pressurized liquid system and chromatographic techniques. *Journal of Dairy Science*, 97, 6719-6728.
- [18] Yılmaz, M., Seçilmiş, H. (2006). Bazı serbest yağ asitlerinin metanolik HCL ortamında türevlendirilmesindeki koşulların incelenmesi. III. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Çanakkale.
- [19] Nobrega, J.A., Pirola, C., Fialho, L.L., Rota, G., de Campos Jordaoc, C.E.K.M.A., Pollo, F. (2012). Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become? *Talanta*, 98: 272-276.
- [20] Ögüt, S., Seçilmiş Canbay, H., Uludağ, H. (2016). Effect of environmental factors on heavy metal content of raw milk. *Akademik Gıda*, 14(2), 105-110.
- [21] Karagözlü, C., Kılıç, S., Akbulut, N. (2009). Some characteristics of Cimi Tulum cheese from producing goat milk. *Bulgarian Journal of Agriculture Science*, 15(4), 292-297.
- [22] Uludağ, G. (2015). Yöresel Adıyaman Peynirinin Kimi Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- [23] Anonim. (2015). Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği, Tebliğ No: 2015/6, Sayı: 29261, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Ankara.
- [24] Köse, Ş., Ceylan, M.M., Altun, İ., Erim Köse, Y. (2022) Determination of some basic properties of traditional malatya cheese. *Food Science and Technology*, 42, e03921.

- [25] Yıldırım, Z., Atamer, M., Yıldırım, M. (2011). Peynir kalite faktörleri. Peynir Biliminin Temelleri, Editörler: Hayaloğlu, A.A., Özer, B. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir, s417-459.
- [26] Kahyaoğlu, T., Kaya, S., Kaya, A. (2005). Effects of fat reduction and curd dipping temperature on viscoelasticity, texture and appearance of Gaziantep cheese. *Food Science and Technology International*, 11(3), 191-198.
- [27] Atasoy, A.F., Hayaloglu, A.A., Ceylan, H.G., Çiçek, M. (2021). Effects of scalding parameters and ripening on the chemical, textural and microstructural properties of Urfa cheese. *Journal of Agricultural Sciences*, 27(2), 155-163.
- [28] Erbay, Z., Koca, N., Üçüncü, M. (2010). Hellim peynirinin bileşimi ile renk ve dokusal özellikleri arasındaki ilişkiler. *Gıda*, 35(5), 347-353.
- [29] Üçüncü, M. (2005). Süt ve mamulleri teknolojisi, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, Bornovo, İzmir.
- [30] Metin, M. (2017). Süt teknolojisi, Ege Üniversitesi Rektörlüğü Basımevi Müdürlüğü, Bornovo, İzmir.
- [31] Yaşar, D., Erim Köse, Y., Köse, Ş. (2021) Kinetic modeling of macroelement concentration of Malatya cheese produced by traditional method, *Journal of Food Processing and Preservation*, 45, e16021.
- [32] Akalın, A.S. (2011). Peynirin Beslenme ve sağlık etkisi. Peynir Biliminin Temelleri, Editörler: Hayaloğlu, A.A., Özer, B. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir, s585-615.
- [33] Gürsoy, O., Seckin, A.K., Kinik, O., Karaman, A.D. (2012). The effect of using different probiotic cultures on conjugated linoleic acid (CLA) concentration and fatty acid composition of white pickle cheese. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(5), 610-615.
- [34] Hayaloğlu, A.A., Karatekin, B., Gürkan, H. (2014). Thermal stability of chymosin or microbial coagulant in the manufacture of Malatya, a Halloumi type cheese: Proteolysis, microstructure and functional properties. *International Dairy Journal*, 38(2), 136-144.
- [35] Öztürk, N., Şahin, İ. (2000). Salamura Beyaz peynirlerde bozulmaya neden olan mayaların tanılanması, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Tekirdağ, Türkiye.
- [36] Ünlütürk, A., Turantaş, F. (2015). Gıda Mikrobiyolojisi: Süt ve Süt Ürünlerinde Mikrobiyolojik Bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar ve Muhafaza Yöntemleri, 4. Baskı, Meta Basım, İzmir.
- [37] Gürsoy, O., Kesenkaş, H. (2011). Peynir mikrobiyolojisi (Bölüm 5). Peynir Biliminin Temelleri, Editörler: Hayaloğlu, A.A., Özer, B., Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir, s79-121.

## Atık Çay Ekstraktında Üretilen *Aspergillus niger* Misellerinden Elde Edilen Kitosanın Özellikleri

Rukiye Avcı , Arzu Çağrı Mehmetoğlu  ✉

Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Esentepe Kampüsü, Serdivan, Sakarya

Geliş Tarihi (Received): 09.12.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 02.10.2022

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [acagri@sakarya.edu.tr](mailto:acagri@sakarya.edu.tr) (A. Çağrı Mehmetoğlu)

☎ 0 264 295 5920 📠 0 264 295 5601

### ÖZ

Bu çalışmada, atık çay ekstraktından üretilen *Aspergillus niger*'den kimyasal yöntemlerle kitosan özütlenerek, bu kitosan örneklerinin belirli özellikleri araştırılmıştır. Kurutulmuş atık çaylardan %5, 10 ve 20 konsantrasyonlarda hazırlanan karışımlar sterilize edilip süzüldükten sonra *A. niger* aşılantısı ve 25°C'de 5 gün inkübe edilmiştir. Elde edilen biyokütleden kimyasal yöntem kullanılarak kitosan ekstrakte edilmiştir. Elde edilen kitosanın yapısal özellikleri FT-IR, FESEM ve NMR ile belirlenmiştir. Üretilen kitosanın antimikrobiyal özellikleri Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere, mayalara ve küflere karşı disk difüzyon testi kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar, %5, 10 ve 20 konsantrasyonlarda hazırlanan çay ekstraktlarında üretilen *A. niger* misellerinin kitosan ekstraksiyon veriminin sırasıyla %13.98, 15.71 ve 17.57 olduğunu göstermiştir. Elde edilen FT-IR, FESEM ve NMR spektrumlarının benzer çalışmalarda rapor edilen *A. niger*'den üretilen kitosan ve ticari kitosan ile uyumlu olduğu görülmüştür. Gram pozitif ve negatif bakterilere karşı %1 ve 2-4 kitosan solüsyonları sırasıyla 7 ile 8 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. *Saccharomyces cerevisiae* kitosana karşı en hassas kültür olarak belirlenmiştir. Ticari kitosan, fungal kitosana göre test edilen mikroorganizmalara karşı daha fazla antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Fungal kitosanın deasetilasyon derecesi %92 olarak bulunmuştur. Araştırmada elde edilen bulgulara göre, çevre açısından önem kazanan atık maddelerin değerlendirilmesi amacıyla atık çaylarda geliştirilen *A. niger* küfünden kitosan üretimi ilk defa gerçekleştirilmiş olup, çalışma bu konudaki araştırmalar için yol gösterici niteliktedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Aspergillus niger*, Kitosan, Atık çay

### Characteristics of Chitosan from *Aspergillus niger* Micelles Produced in Waste Tea Extract

#### ABSTRACT

This study investigated specific properties of chitosan extracted by chemical methods from the micelles of *Aspergillus niger* grown in tea waste extract. Mixtures prepared from dried tea wastes at 5, 10 and 20% concentrations were sterilized and filtered, then *A. niger* was inoculated and incubated at 25°C for 5 days. Chitosan was extracted from the biomass by using a chemical method. The results of FT-IR, FESEM, and NMR analyses were used to determine the structural properties of chitosan extracted. In addition, antimicrobial properties of chitosan against Gram positive and Gram negative bacteria, yeasts, and molds were determined by using the disk diffusion test. Results showed that chitosan extraction efficiencies were 13.98, 15.71 and 17.57% for *A. niger* micelles produced in tea extracts prepared at 5, 10 and 20% concentrations, respectively. It was observed that FT-IR and NMR spectra were compatible with both chitosan from *A. niger* reported by similar studies and commercial chitosan. It was observed that 1 and 2-4% chitosan solution formed inhibition zones of 7 and 8 mm in diameter against Gram positive and Gram negative bacteria, respectively. *Saccharomyces cerevisiae* was the most susceptible culture to chitosan. Commercial chitosan showed better antimicrobial activity against the tested microorganisms than fungal chitosan. The deacetylation degree of fungal chitosan was 92%. According to the results of this study, the production of chitosan from *A. niger* mold

grown in waste teas was carried out for the first time in order to evaluate the waste materials that have gained importance in terms of the environment, and this study could be used as a guide for future studies on this subject.

**Keywords:** *Aspergillus niger*, Chitosan, Tea waste

## GİRİŞ

Kitin, N-asetil-D-glukozamin birimlerine sahip bir yapı oluşturmaktadır. Sulu çözücülerde ve organik çözücülerde çözünmemesi nedeniyle endüstriyel kullanımı çok azdır. Selülozdan sonra doğada çok yaygın bulunan, yenilenebilir ve elde edilmesi kolay bir biyopolimerdir [1]. Bazı funguslarda, suda yaşayan kabuklu canlılarda, ve böceklerde bulunmaktadır. Kitinin en önemli türevlerinden biri olan kitosan molekül zincirindeki N-asetil-D-glukozamin birimlerinin, D-glukozamin birimlerine dönüştürülmesi yani deasetilasyon işlemiyle elde edilmektedir. Deasetilasyon derecesi en az %60 olan kitine, kitosan denmektedir ve kitosanı kitinden ayıran temel parametre, deasetilasyon derecesidir [2].

Kitosan doğadaki en önemli ve en fonksiyonel doğal polimerlerdendir. Kullanım alanının geniş olması ve türevlenebilir olması onu daha cezbedici bir hale getirmektedir. Kitosanın; doğal bir kaynak olması, biyolojik olarak parçalanabilmesi ve çevre kirliliğine sebep olmaması, bitkisel ve hayvansal dokular için uyumlu olması ve toksik bir etkisinin olmaması, biyolojik olarak fonksiyonel bir bileşik olması, molekül yapısının değiştirilebilir olması nedeniyle endüstriyel alanda oldukça yaygın bir şekilde kullanım alanına sahiptir [3-5]. Günümüzde ticari olarak kitosanın üretimi, genellikle kabuklu deniz hayvanlarının atıklarından ekstraksiyon işlemi ile elde edilmektedir. Fakat bu kitosan kaynağının elde edilmesinde kabukluların yapılarındaki proteinlerden kaynaklı alerji risklerinin olması, mevsimsel şartların sınırlandırılması gibi bazı dezavantajları vardır [6]. Bu gibi dezavantajların olmaması için, fermantasyon teknolojisiyle mikroorganizmaların büyük ölçekli çoğaltılmasıyla, hücre duvarında kitin ve kitosan bulunan fungal canlıların ek kaynak olarak kullanılması için çalışmalar uygulanmaya başlamıştır. Küfler, ilkel besleyici ortamlarda kolaylıkla üreyebilme ve çoğalma özellikleri sayesinde ucuz ve sınırsız bir kaynak olması, az miktarda mineral içermeleri sebebiyle, ekstraksiyon işleminde kabuklu canlılarda yapılan demineralizasyona gerek duyulmaması gibi olumlu yönleri sahiptir [7], [8]. Ayrıca kitosanın; fermantasyon şartlarında fizikokimyasal özellikleriyle (deasetilasyon, molekül ağırlığı, viskozite gibi) bazı değişikliklerin yapılmasıyla kontrol edilebilmektedir [6].

Yapılan çalışmalarda, *Aspergillus niger*'in kolay bulunabilir olması ve hücre duvarındaki kitosan miktarının (%11) fazla olması nedeni ile kitosan üretimi için en iyi küflerden birisi olduğu rapor edilmiştir [6, 9]. *A. niger* küfünün kitosan miktarının 107 mg/g (%11) gibi yüksek seviyelere çıkabildiği Pochanavich ve Suntornsuk [9] tarafından kanıtlanmıştır.

Kitosanın küf misellerinden üretiminin geleneksel yöntemlere göre verimi çok daha düşük olduğu için son yıllarda araştırmacılar verim artırıcı çalışmalar üzerine odaklanmıştır. Bu projede de atık çay otları küf üretiminde besiyeri olarak kullanılarak kitosan veriminin artırılması ve üretim maliyetinin düşürülmesi hedeflenmektedir. Bu kapsamda projemizin amacı atık çayda üretilen *Aspergillus niger*'den, kimyasal yöntemlerle kitosan üretmek ve üretilen kitosanın belirli özelliklerini belirlemektir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Atık Çay Ekstraktının Hazırlanması

Kitosan üretimi için kullanılan demlenmiş çaylar İstanbul'da bir kafeden temin edilmiştir. Alınan demlenmiş siyah çaylar (900 g, Ofçay, Rize, Türkiye) kısmi olarak süzülüş ve etüvde 180°C'de 4 saat kurutulduktan sonra gerektiğinde kullanılmak üzere -20°C'de depolanmıştır.

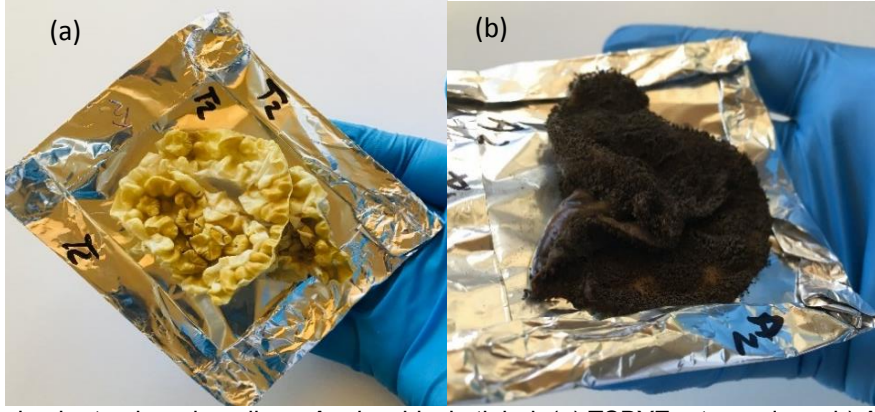
Kurutulan çaylar saf su ile içerisinde %5, 10 ve 20 (a/h) (g/mL) oranında karışım hazırlandıktan sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Daha sonra steril çaylar oda sıcaklığına soğutulduktan sonra Whatman No 1 filtre kağıdı kullanılarak steril şartlarda filtre edilmiştir. Süzülüş çay 4 paralelli olarak 150 mL'lik erlenlere 100 mL olacak şekilde bölünmüştür.

### Kullanılan Mikroorganizmalar

*Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *A. sydowii*, *A. wentii*, *A. japonicus*, *A. flavus*, *A. clavatus*, *Williopsis saturnus* spp. *saturnus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium* saf kültürleri Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Saf kültürler %15 gliserol içeren Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck, Almanya) içinde -80°C'de muhafaza edilmiştir.

### *Aspergillus niger* Küfünden Kitosan Ekstraksiyonu

*A. niger* TSB + %0.6 yeast extract (TSBYE) besiyerinde aktiveleştirildikten sonra 5 gün 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Geliştirilmiş olan *A. niger* kültüründen 100 µL 100 mL süzülen çaylara ve kontrol olarak kullanılan 100 mL TSBYE'ye inoküle edildikten sonra 25°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Kitin ve kitosan elde etmek için, *A. niger* biyokütleri besiyerinden No.1 Whatman filtre kağıdı kullanılarak filtre edilip daha sonra da saf su ile yıkanmıştır.

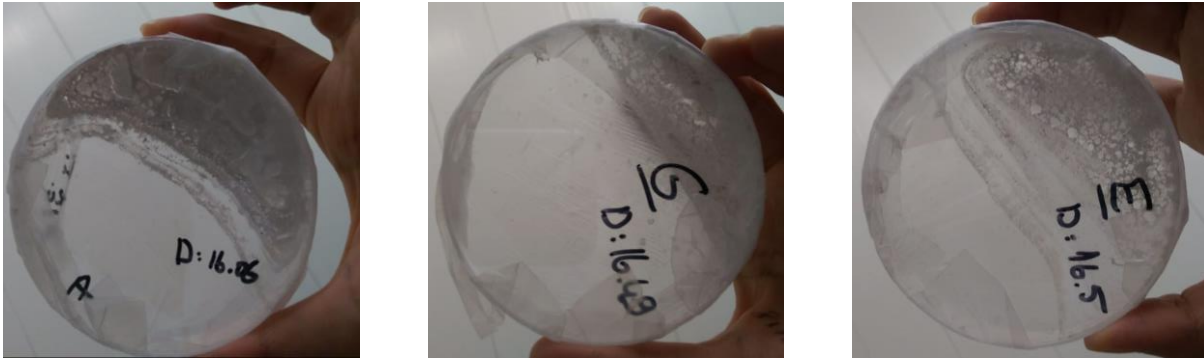


Şekil 1. Farklı besiyeri ortamlarında gelişen *A. niger* biyokütleleri: (a) TSBYE ortamında ve b) Atık çay ortamında gelişmiş

**Figure 1. *A. niger* biomass grown in different media: (a) TSBYE and b) Waste tea medium**

Kitosan ekstraksiyon için Pochanavanich ve Suntornsuk'un [9]'un kullandıkları metot referans alınmıştır. Bu metoda göre, *A. niger* biyokütlesi kuru ağırlığı belirlemek amacıyla etüvde 60°C'de bir gün boyunca kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan biyokütle (Şekil 1), santrifüj tüplerine tartılarak koyulmuş ve 1:30 mL oranında, 1 N NaOH çözeltisi üzerine eklenmiştir. Biyokütle homojenizatör (Braun MQ5220, Almanya) yardımı ile parçalandıktan sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. Örnekler santrifüj işlemine (9000 rpm, 15 dakika, 4°C'de) tabi tutulduktan sonra pellet kısmı saf su ile yıkanmıştır ve %2'lik asetik asit çözeltisi eklenerek pH'nın 7 olması sağlanmıştır. Örnekler santrifüj (9000 rpm, 15 dakika, 4°C'de) edildikten sonra pellete %2'lik

asetik asit 1:40 (hacmen) oranında ilave edildikten sonra çalkalamalı su banyosunda, ağzı kapalı olarak 95°C'de 8 saat ekstraksiyona bırakılmıştır. Soğuduktan sonra örnekler tekrar santrifüj işlemi (9000 rpm, 15 dakika, 4°C'de) uygulanmıştır. Santrifüjlendikten sonra, çözünmeyen kısım (kitin) ayrılıp süpernatant kısmının pH'sı 2 N NaOH çözeltisi kullanılarak 10'a ayarlanmıştır. Tekrar uygulanan santrifüj işlemi (9000 rpm, 15 dakika, 4°C'de) sonunda pellet kısmı 100 µL, %2'lik asetik asit ve distile su ile yıkanmıştır. Elde edilen karışıma steril petrielerde liyofilizasyon işlemi uygulanmış, 2 gün-42°C'de kurutulmuş ve son ağırlıkları belirlenmiştir. Elde edilen kitosan (Şekil 2) -20°C sıcaklıkta depolanmıştır.



Şekil 2. Liyofilizasyon ile elde edilen kitosanlar

**Figure 2. Chitosans obtained by lyophilization**

### Deasetilasyon Derecesinin Belirlenmesi

Kitosan deasetilasyonunun derecesi titrasyon işlemiyle belirlenmiştir [11]. Kitosan 20 cm<sup>-3</sup>, 0,01 M HCl asit ve 50 cm<sup>-3</sup> deiyonize suda çözündürüldükten sonra 30 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra kitosan çözeltisi 0,01 M NaOH ile titre edilmiştir. Renk dönüşümü olunca işlem durdurulmuştur. Asetil yüzdesi ve deasetilasyon

derecesi aşağıdaki Denklem (1) ve (2) kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Asetil} = V \times 0,04305 \div w \quad \text{Denklem (1)}$$

Burada V, NaOH 'in titrasyonda kullanılan hacmi (ml) ve w, numunenin ağırlığıdır (g). Asetilasyon derecesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Deasetilasyon Derecesi (\%)} = 100 - \% \text{ Asetil}$$

Denklem (2)

## Vizkozite

Ölçüm için, %1'lik oranında kitosan örneği elde etmek için *A. niger*'den elde edilen kitosan (ANK) veya kontrol için ticari kitosanın (TK) %2'lik asetik asit içerisinde karıştırılmıştır. Karşının vizkozitesi, vizkozimetre (Fungilab Ubbelohde Spin R-5, İspanya) kullanılarak ölçülmüştür [9].

## Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FT-IR) Ölçümü

FT-IR analizleri; Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü laboratuvarında bulunan FT-IR spektroskopisi (Shimadzu IR, Prestige 21, Japonya) kullanılmıştır. ANK veya TK için 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  bölgesi için spektrumlar elde edilmiştir.

## Alan Emülsiyon Taramalı Elektron Mikroskopu (FESEM) Ölçümü

ANK ve TK yapısının yüzey morfolojisi FESEM (Jeol JSM 6060 LV, Japonya), kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerden daha iyi görüntü alabilmek için çekimden önce altın kaplama cihazı ile örneklerin yüzeyi altınla kaplanmıştır. Örnekler 500x, 1000x, 5000x ve 10000x olmak üzere dört farklı büyütme oranlarında görüntü alınmıştır.

## NMR Analizi

Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü NMR araştırmaları laboratuvarında bulunan Varian Mercury 300 MHz H-NMR spektroskopisi kullanılarak yapılmıştır. Çözücü olarak 10 mg  $\text{D}_2\text{O}$  (deteriyum oksit) (Sigma Aldrich, ABD) ve  $\text{D}_6$  (DMSO) (Sigma Aldrich) kullanılmıştır.

## Disk Difüzyon Testi

Kitosanların antimikrobiyal özelliğini test etmek için difüzyon testi kullanılmıştır [10]. Bu testte kullanılacak kültürler; *P. expansum*, *A. sydowii*, *A. wentii*, *A. japonicus*, *A. flavus*, *A. clavatus*, *W. saturns* spp. *saturns*, *S. cerevisiae*, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* kültürleri 10 mL TSBYE'de mayalar ve küfler için 25°C 3 gün, bakteriler için ise 35°C'de 24 saat inkübasyona

birakılarak aktifleştirilmiştir. Kitosan solüsyonu (5 mg/mL) 1% (v/v) asetik asit solüsyonunda hazırlanmış ve 121°C'de 20 dakika sterilize edilmiştir. Sterilize edilmiş olan TSBYE her bir petride 20 mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Her bir petriye 200  $\mu\text{L}$  ayrı olarak mikroorganizmalar inoküle edilmiştir. Daha sonra mikroorganizma inoküle edilmiş petrilere yerleştirilen steril disklerle %1 asetik asit çözeltisi içerisinde farklı konsantrasyonlarda (%0, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8) hazırlanan 10  $\mu\text{L}$  ANK veya TK örnekleri emdirilmiştir. Negatif kontrol olarak %1 asetik asit kullanılmıştır. Bakteriler 35°C'de 24 saat, mayalar 30°C'de 36 saat ve küfler 25°C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda ise zon oluşma durumuna göre (+) ve (-) sonuçlar değerlendirilmiştir.

## İstatistiksel Analizler

İstatistik analizler için IBM SPSS 28.0 İstatistik programı kullanılmıştır. Duncan testi kullanılmış olup değerler arası fark, bağımsız değişkenler için  $p < 0,05$  anlamlılık düzeyinde 4 paralel örnek incelenmiştir.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

### *Aspergillus niger*'den Ekstrakte Edilen Kitosan Verimi

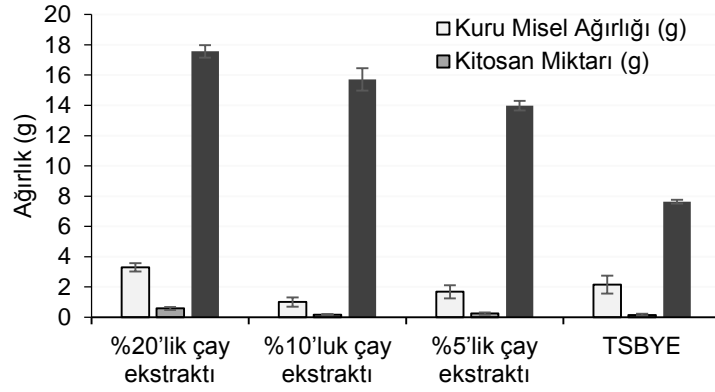
Yapılan çalışmadan alınan sonuçlarda, besiyeri amaçlı kullanılan çay ekstraktında ekstrakt oranı arttıkça küf misel gelişiminin de önemli derecede arttığı görülmüştür ( $p < 0.05$ ) (Tablo 1) (Şekil 3). Örneğin, %20 çay ekstraktı içeren besiyerinde gelişen *A. niger* küf kuru misel ağırlığı 3.30 g iken %5 ekstrakt içeren besiyerinde gelişen küfün 1.68 g kuru misel ağırlığı olduğu gözlenmiştir. Kuru küf misellerinden elde edilen kitosanın verimi ise besiyerindeki çay ekstrakt miktarı %5'ten %20'ye arttığında %13.98'den %17.57'ye çıktığı rapor edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Çay ekstraktının %5 ve %10 olduğu besiyerlerinden elde edilen küf misellerinden ekstrakte edilen kitosan verimi arasında önemli bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Çay ekstraktından elde edilen besiyerinde geliştirilen küflerin kitosan verimleri TSBYE besiyerinde gelişen *A. niger*'e göre de önemli ölçüde fazla bulunmuştur. Buna göre, bu çalışmada besiyerindeki çay ekstrakt miktarının %20 civarında kullanılmasının kitosan içeriği yüksek *A. niger* üretimini sağlayabileceği görülmüştür.

Tablo 1. Farklı konsantrasyonlardaki çay ekstraktında üretilen *A. niger*'in kuru misel ve kitosan miktarları

**Table 1. Amounts of dry micellar and chitosan produced by *A. niger* in tea extracts at different concentrations**

Besiyeri	Kuru Misel Ağırlığı (g)	Kitosan Miktarı (g)	Kitosan Verimi (%)
Çay ekstraktı, %20'lik*	3.30±0.28 <sup>a</sup>	0.58±0.09 <sup>a</sup>	17.57±0.41 <sup>b</sup>
Çay ekstraktı, %10'luk	1.00±0.30 <sup>c</sup>	0.16±0.04 <sup>c</sup>	15.71±0.74 <sup>a</sup>
Çay ekstraktı, %5'lik	1.68±0.43 <sup>b</sup>	0.24±0.08 <sup>b</sup>	13.98±0.31 <sup>a</sup>
TSBYE	2.16±0.59 <sup>b</sup>	0.15±0.08 <sup>c</sup>	7.63±0.13 <sup>c</sup>

\*Çay ekstraktı kurutulmuş atık çay otunun su içerisinde 121°C'de 15 dakika ısıtılması ve filtre kağıdından süzülmesi ile elde edilmiştir. <sup>a-b-c</sup>: Çizgiyle ayrılmış aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark, istatistiksel açıdan önemlidir ( $p < 0.05$ ).



Şekil 3. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış çay ekstraktında üretilen *A. niger*'in kuru misel ve kitosan miktarları  
 Figure 3. Amounts of dry mycelium and chitosan of *A. niger* produced in tea extract at different concentrations

Atık çayda; %20-30 polifenol, %4-5 kafein, %2-4 amino asit, %2-4 şeker, %2,5 organik asit, %4-8 yağ, %5 mineral, %0.8 pigment, %16 protein bulunduğu rapor edilmiştir[12]. Atık çayda bulunan besin içeriği, mikroorganizmaların gelişmesi için uygun bir ortam oluşturduğu görülmektedir [13]. *A. niger* de bu ortamda kolaylıkla gelişme imkanı bulmuş ve atık çay ortamı hücre duvarındaki kitosan miktarına da destekleyici etkide bulunmuştur.

Birçok çalışma besiyeri ortamındaki besin içeriklerinin küf misellerindeki kitosan miktarına etkisini incelemiştir [14, 15]. Kitosan veriminde bir artış ya biyokütle verimini artırarak ya da kitosanın hücre duvarı içeriğindeki artışıyla elde edilebilmektedir. Örneğin, kitosan nitrojen içeren bir biyopolimer olduğundan, fungus hücre duvarları için kitin/kitosan üretmek için besin olarak inorganik veya organik nitrojen kaynağına ihtiyaç duyduğu raporlanmıştır [14], Farklı olarak, besin ortamına manganez ve demir gibi minerallerin takviyesi küflerin hücre duvarlarındaki kitosan içerik artışından ziyade biyokütle üretimindeki artış yoluyla kitosan verimini artırdığı gözlenmiştir [16,17]. Benzer bir çalışmada, Rane ve Hoover [17], besiyerinin *Absidia coerulea*'dan kitosan üretimi üzerindeki etkisini incelemiş ve daha fazla miktarda glikoz ve protein ile takviye edilmiş besiyerinin, kitosan verimi üzerine olumlu etkisini göstermiştir. Çayda bulunan manganez, demir, azot, glikoz ve nitrojen kitosan verimine etkisi olan besinlerin çay ekstrakt miktarının artmasıyla paralel artışı küf biyokütlesi dolayısıyla kuru misel ağırlığı ve kitosan verimi artışına neden olduğu düşünülmektedir.

Benzer çalışmalarda da, birçok küfün kitosan verimleri gözlenmiştir [9, 18-20]. Örneğin, *A. niger* ve *Rhizopus oryzae*'nin sırasıyla 107 ve 138 mg/g kuru ağırlıkta kitosan üretimi ve %11 ve 14 kitosan verimi verdiği gösterilirken, *L. edodes*'in kitosan verimi %3.3, *Zygosaccharomyces rouxii*'nin kitosan verimi %3.6

olarak raporlanmıştır [9]. Bu çalışmada ise, üç ayrı konsantrasyona sahip besiyeri ortamlarından en yüksek kitosan içeriği %20'lik çay ekstraktında geliştirilen *A. niger* misellerinden elde edilen %17.57 kitosan ile diğer çalışmalarla kıyaslandığında daha fazla verim alındığı görülmektedir.

#### Kitosan Örneklerinin Deasetilasyon Derecesi

TK'nın deasetilasyon değeri %89 olarak ölçülürken ANK'nın deasetilasyon değeri ise %92 bulunmuştur. Deasetilasyon derecesi kitosanın fizikokimyasal özelliklerini etkileyen önemli bir parametredir. Yüksek derecede deasetilasyona sahip kitosan, yüksek pozitif yüklere sahiptir ve pıhtılaştırıcı veya şelatlayıcı ajan, berraklaştırıcı ajan veya antimikrobiyal ajan olarak gıda uygulamaları için daha uygundur [20]. Pochanavanich ve Suntornsuk'un [9] yaptıkları çalışmada ticari kitosanın deasetilasyon değeri %98 ve fungal kitosanın deasetilasyon değeri %90 olarak raporlanmıştır. Sonuçların birbirine yakın olduğu görülmektedir. Deasetilasyon derecesinin belirlenmesi için FTIR ve alkali metot gibi farklı analiz metotları kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan alkali metodu tirrasyon tekniği ile yapıldığı için hassasiyeti diğer metoda göre düşüktür. Deasetilasyon derecesinin diğer çalışmalarda raporlanan sonuçlara göre yüksek çıkmasının nedenlerinden birisinin bu olduğu düşünülmektedir.

#### Kitosan Örneklerinin Viskozitesi

ANK'nın viskozitesi 0.5-0.8 centipoises (cP) ve TK'nın viskozitesi 3.1-3.5 cP olarak bulunmuştur. Pochanavanich ve Suntornsuk [9] yaptığı çalışmada fungal kitosanın viskozitesi 3.1-6.2, centipoises (cP) olup, yengeç kitosanının viskozitesinden oldukça düşüktür (Tablo 2). Bu çalışmada ANK'nın ve TK'nın viskozitesi Pochanavanich ve Suntornsuk [9] tarafından bildirilenlerden düşük çıkmıştır.

Tablo 2. Kitosanların viskozite değerleri

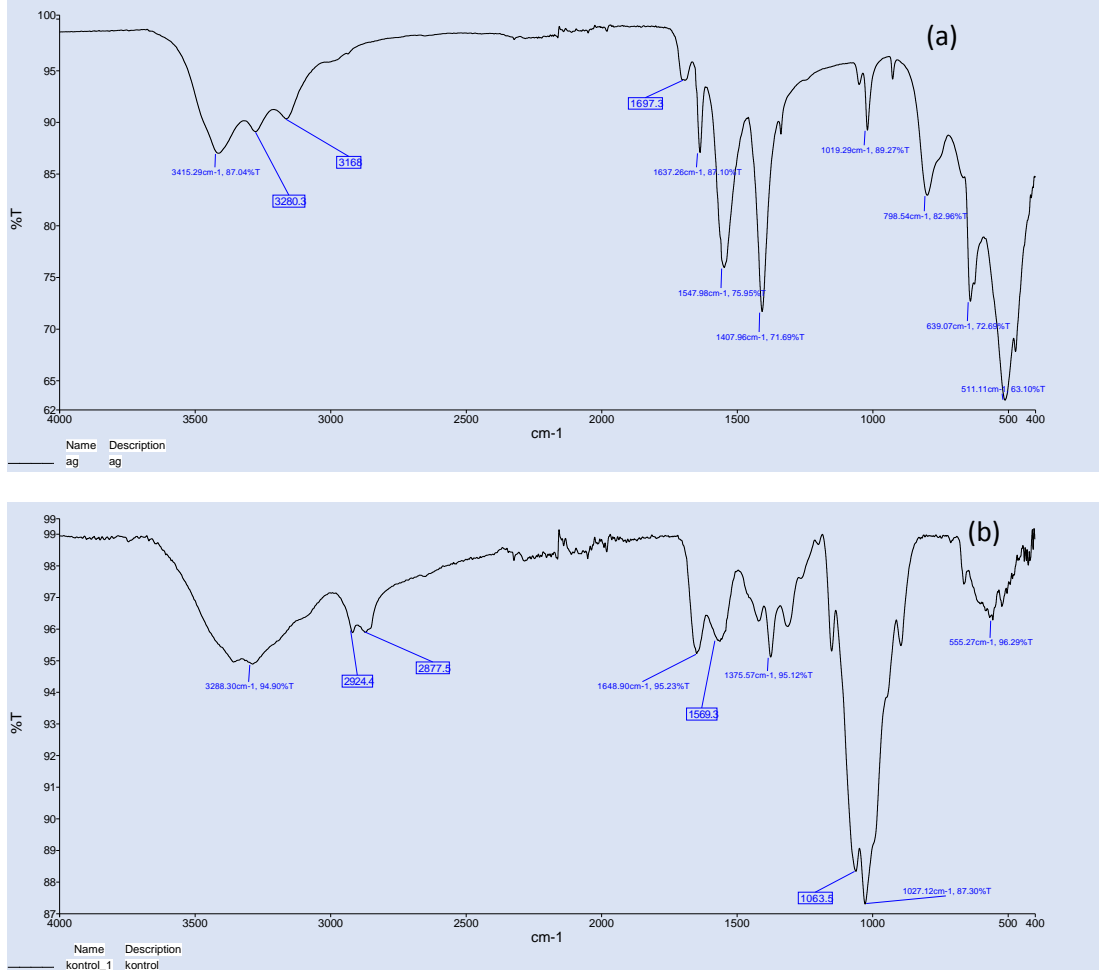
Table 2. Viscosity values of chitosans

Sıcaklık (°C)	TK (rpm)	Viskozite	ANK (rpm)	Viskozite (cP)
20°C	3.1	4	0.4	0.5
25°C	3.5	4.3	0.6	0.8

## Kitosan Örneklerinin Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi Ölçümü

Atık çayda üretilen *A. niger*'den ekstraksiyon yoluyla üretilen kitosandan ve TK'dan elde edilen FT-IR pikleri Şekil 4'te verilmiştir. Sırasıyla; ANK'nin 3415 cm<sup>-1</sup> bandı ve TK'da 3288 cm<sup>-1</sup> bandı, -NH<sub>2</sub> ve -OH grubunun gerilme titreşiminden kaynaklı olduğu söylenebilir [21],

[22]. ANK'nin 1637 cm<sup>-1</sup> bandı ve TK'nin 1648 cm<sup>-1</sup> bandı ise karbonil gerilme -NH amid bağlantı proteininden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca ANK 1637 cm<sup>-1</sup>, 1690 cm<sup>-1</sup> ve 1547 cm<sup>-1</sup>, 1542 cm<sup>-1</sup> bantlarının karbonil (C=O-NHR) ve amin (-NH<sub>2</sub>) grubunun ana karakteristik bantlarına ait olduğu düşünülmektedir [23, 24].



Şekil 4. Elde edilen ANK (a) ve TK'nin (b) FT-IR spektrumları ve tepe değerleri, (T:Transmittance)  
Figure 4. FT-IR spectra and peak values of (a) ANK and (b) TK (T: Transmittance)

ANK'nin 1407 cm<sup>-1</sup> bandı -NH ikincil aminleri, 1019 cm<sup>-1</sup> bandı C=O gerilme ve 1407 cm<sup>-1</sup>, 1338 cm<sup>-1</sup>'deki bantları kitosanın sakkarit yapısına atfedilmektedir [25]. Ticari kitosanın 1569 cm<sup>-1</sup> ve 1375 cm<sup>-1</sup> bantları yine ANK'dan elde edilen spektrumdaki bantları ile benzerdir. ANK'a ait spektrumun 798 cm<sup>-1</sup>'deki bandı -NH birincil ve ikincil aminleri, 1637 cm<sup>-1</sup>, 1547 cm<sup>-1</sup> ve 1407 cm<sup>-1</sup> bantları proteinin kitosana bağlandığını göstermektedir. Kitosanın spektrumu, amid (1697 cm<sup>-1</sup>) ve amino gruplarının karakteristik bantlarını göstermiştir [26]. Ancak, bu absorpsiyon bandının amino deformasyon modunun karakteristiği olduğu raporlanmaktadır [27]. TK'ya ait spektrumda bahsedilen birincil ve ikincil amin bantları görülmemiştir.

ANK'a ait spektrumda gözlemlenen 1407 cm<sup>-1</sup>'deki keskin pik CH<sub>3</sub> gruplarındaki simetrik eğilmeyi göstermektedir. Şekil 5 incelendiğinde ANK örneğinin 3415 cm<sup>-1</sup> bandı,

87.04 %T ve TK ile benzer şekilde 3288 cm<sup>-1</sup> bandı, 87.30 %T benzer iki pik görülmektedir. ANK'nin daha geniş bir pike dönüştüğü TK ile kıyaslandığında 3288,30 cm<sup>-1</sup> bandı, 94.90 %T olduğu, TK'nin spektrumunda ise daha az olduğu görülmektedir. Kitosana dönüşüm sonrasında, sekonder amid gruplarıyla ilişkili olan 3415-3280-3168-1697-1407 ve 1019 cm<sup>-1</sup> dalga sayılarındaki ve C-H bağlarıyla ilgili 1407 cm<sup>-1</sup>'de primer amidle ilişkili pik ortaya çıktığı düşünülmektedir [28].

Elde edilen TK'nin değerleri ANK ile kıyaslandığında; 3288 cm<sup>-1</sup>, 1648 cm<sup>-1</sup>, 1569 cm<sup>-1</sup>, 1027 cm<sup>-1</sup> ve 555 cm<sup>-1</sup> bantlarının uyumlu olduğu görülmektedir. TK spektrumunun 500 cm<sup>-1</sup> bölgesinde ANK'ye göre farklılık görülmüştür. Bunun sebebinin, TK'nin kabuklulardan ekstraksiyonu işleminden kalan kalıntı maddelerinden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Koçer [29]'in *A. niger*'den üretilen kitosanın FT-IR sonuçları ile

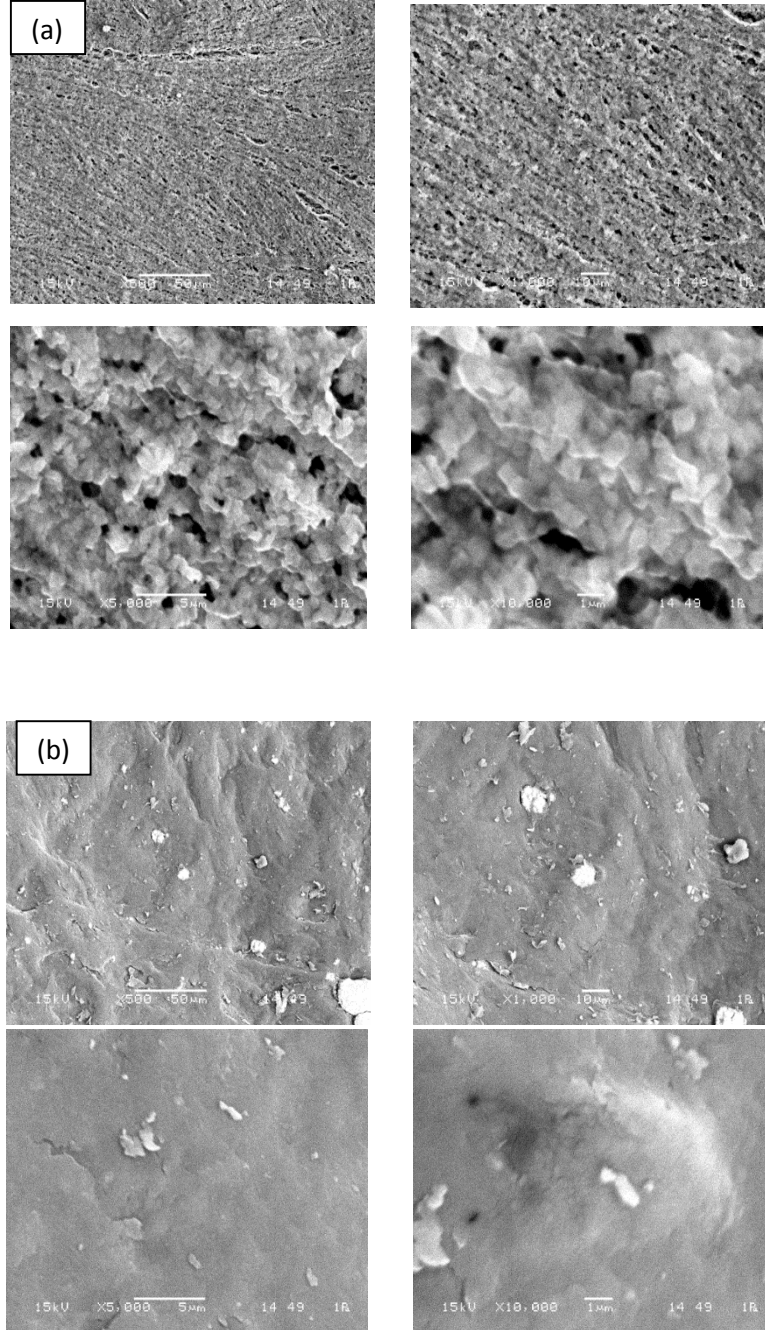


kıyaslandığında atık çayda geliştirdiğimiz ANK'nin FT-IR analizi ile uyumlu olduğu görülmüştür.

### Kitosan Örneklerinin Alan Emülsiyon Taramalı Elektron Mikroskobu (FESEM) Sonuçları

ANK'nin yüzey morfolojisi incelendiğinde hem porlu hem de nanofiber yapılarının olduğu gözlenmiştir (Şekil 5a). TK'nın yüzey morfolojisinin de yine zayıf ve çok net olarak görülemeyen fiberlerden oluştuğu ve mikro

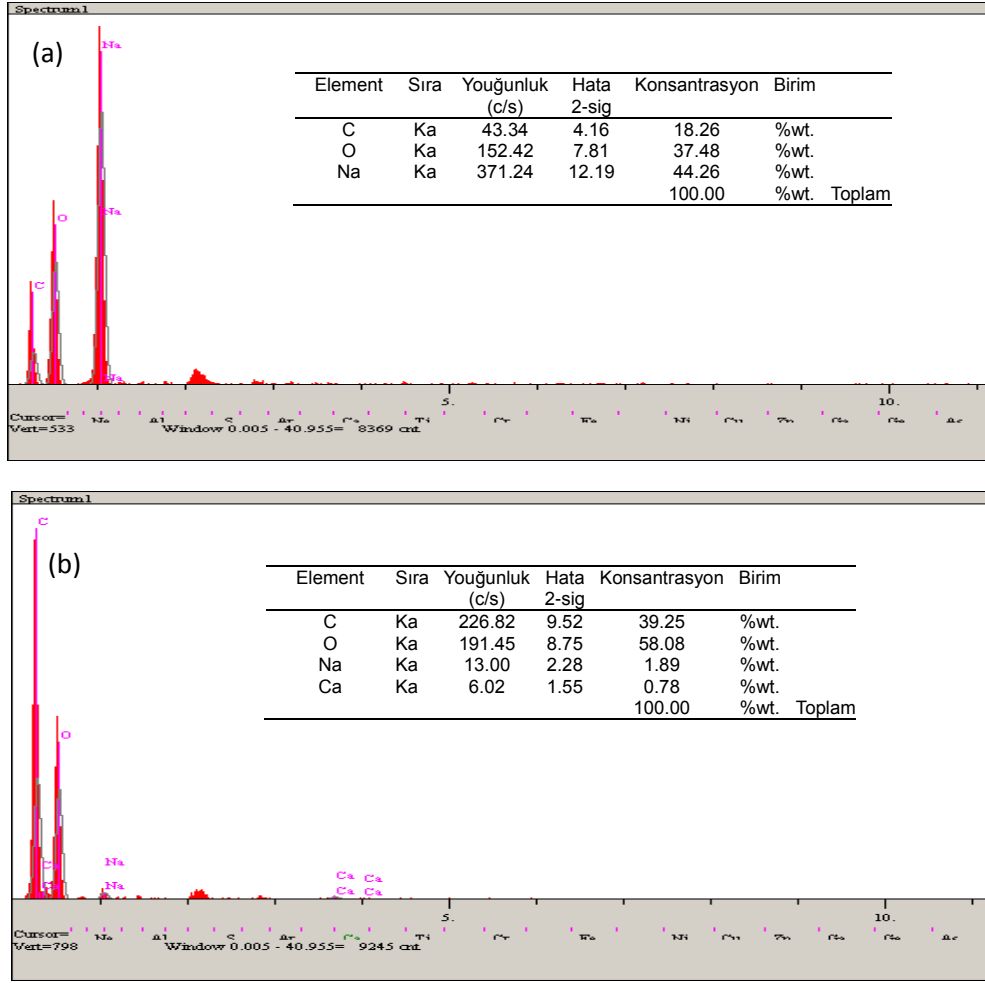
porların olduğu gözlenmiştir (Şekil 5b). Mevcut çalışmadakine benzer şekilde krill, Gammarus argaeus ve pembe karides gibi Crustacea grubuna ait canlılardan elde edilen kitin ve kitosan yapılarının yüzeyleri porlu ve fiber yapılardan oluştuğu diğer çalışmalarda da tespit edilmiştir [36-38]. Funguslardan elde edilen bazı kitin ve kitosanların ise porlu ya da fiber yapılarının bulunmadığı tespit edilirken [39], diğer bazı funguslardan elde edilen kitin ve kitosanın sadece fiber yapılardan oluştuğu raporlanmıştır [40-42].



Şekil 5. ANK (a) ve TK'nın (b) FESEM görüntüleri  
Figure 5. FESEM images of (a) ANK and (b) TK

ANK'nin mineral yapısını gösteren kompozisyon spektrumunda, TK'ya göre karbon konsantrasyonunun düşük olduğu dolayısıyla daha kısa zincire sahip olduğu

söylenbilir (Şekil 6). ANK'da sodyum miktarının TK'dan çok daha fazla olduğu, ANK'da ticari kitosandan farklı olarak kalsiyumun olmadığı görülmektedir.

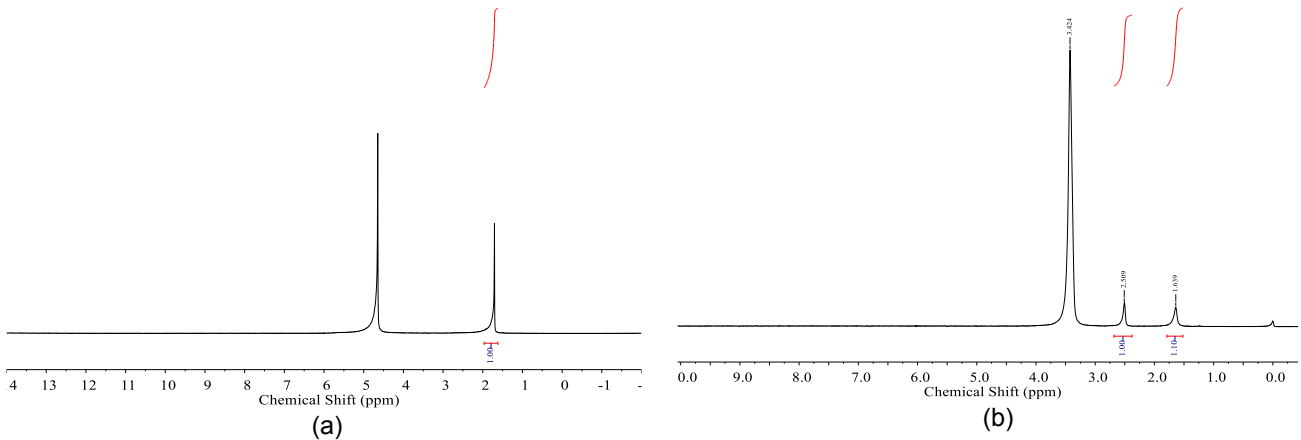


Şekil 6. ANK (a) ve TK'nın (b) mineral dağılım spektrumları  
 Figure 6. Mineral distribution spectra of (a) ANK and (b) TK

## NMR

ANK'ya ait NMR spektrumunda (Şekil 7a) D<sub>2</sub>O ile çözündürülmüş kitosan spektrumunda iki ürün elde edilmiştir. Elde edilen piklerde; 1.5-2 ppm arasında kitosan numunesi ve 4.5-5 ppm arasında D<sub>2</sub>O çözeltisi

görüntülenmiştir. ANK'nın D<sub>6</sub> (DMSO) ile çözündürülmüş kitosan spektrumunda ise dört pik elde edilmiştir (Şekil 7b). Bunlar; 0.1 ppm NMR'dan kaynaklı pik, 1.5-2 ppm arası kitosan numunesi, 2.5 ppm H<sub>2</sub>O, 3.5 ppm'de de D<sub>6</sub> (DMSO) görüntülenmiştir. Bu sonuç yapı ile uyumludur.



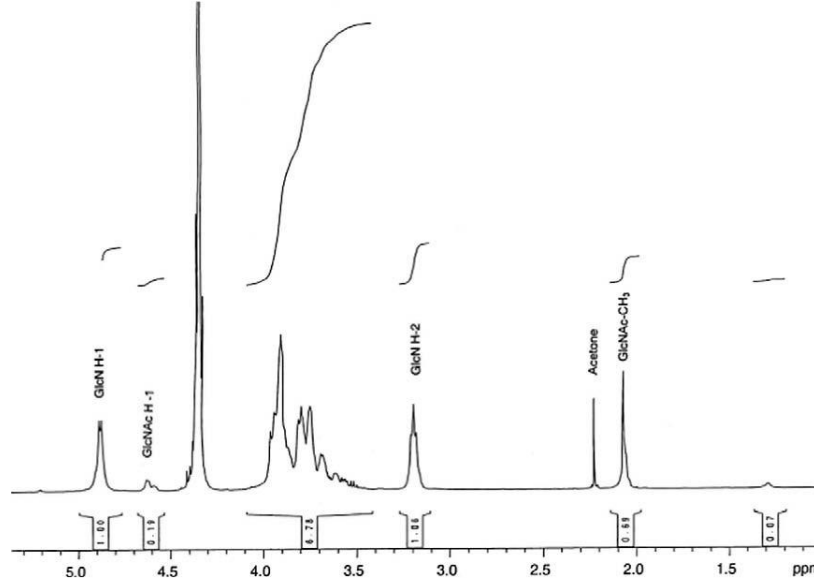
Şekil 7. ANK'nın D<sub>2</sub>O ile çözünmüş H-NMR spektrumu (a) D<sub>6</sub> ile çözünmüş spektrumu (b)  
 Figure 7. H-NMR spectrum of ANK dissolved in (a) D<sub>2</sub>O and (b) D<sub>6</sub>

Kitosanın tipik bir H NMR spektrumu Şekil 8'da gösterilmiştir. Bu spektrumda kitosanın pikleri 2-3-2.4

ppm olarak raporlanmıştır [43]. Polimerin her birim kalıntısında altı karbon ve yedi hidrojen atomu bulunur

ve bu atomlar C-H bağları üretir. Ek olarak, polimer kalıntısının her bir birimi, dört oksijen atomu ile bağlanmış ve O-H grupları oluşturan dört hidrojen atomuna sahiptir. Birim kalıntısındaki bu bağların her biri kendi karakteristik ortamına sahiptir ve dolayısıyla kendi kimyasal kaymasına sahiptir. Polimerin H-NMR spektrumu, birbirlerine olan bağlantıları nedeniyle hafifçe değiştirilmiş olan bireysel birim kalıntılarının spektrumlarının üst üste binmesidir. 2.0-2.1 ppm'deki tepe noktası, üç N-asetil glukozamin (GlcNAc) protonunu temsil eder ve 3.1-3.2 ppm'deki tepe,

glukozamin (GlcN) kalıntısının H-2 protonunu temsil eder. Molekülün spektrumunda, anomerik olmayan protonların sinyalleri kısmen örtüşür ve spektrumun ortasında geniş bir sinyal zarfı oluşturur. H NMR spektrumunun çeşitli bantları arasında 2.0-2.1 ppm metil protonları en yüksek çözünürlüğe sahiptir. Sonraki protonların sinyalleri, 4.05 ppm'de çözücünün ( $D_2O/CD_3COOD$ ) HOD sinyalleriyle örtüşür. Çözücülerin kalıntı protonları için kimyasal kaymaların  $D_2O$  ( $d = 4.7$  ppm) olduğu çalışmalarca bildirilmiştir [44].



Şekil 8. 65°C'de  $D_2O$  içinde kitosanın H-NMR spektrumu (600 MHz). Referans olarak aseton kullanılmıştır (2.2 ppm) [45]

Figure 8. H-NMR spectrum of chitosan in  $D_2O$  at 65°C (600 MHz). Acetone was used as a reference (2.2 ppm) [45]

NMR spektrumlarında kitosanın moleküler ağırlık dağılımı ve ortalama moleküler ağırlığın yanı sıra içsel viskozite de önemli bir rol oynamaktadır. Kitosan çözeltisi agregat içermemelidir, bu nedenle kitosan için çözücü dikkatli seçilmelidir [46]. Yapılan çalışmalar ile kıyaslandığında elde ettiğimiz sonuç değerlere yakın bulunmuştur. Kitosanın pikinin biraz düşük olmasının nedeninin elde edilen kitosanın viskozitesinin düşük olmasına bağlanabilir.

### Kitosanların Antimikrobiyal Özellikleri

ANK test edilen mikroorganizmaların üremelerine karşı oluşturduğu inhibisyon zonu 8 ile 11 mm arasında ölçülmüştür (Tablo 3). ANK'nin minimum inhibisyon konsantrasyonu *S. cerevisiae*'ye karşı %0.25 olarak gözlemlenirken, *S. Enteriditis*, *S. Typhimurium* ve *A. syndowii*'ye karşı %4 olarak rapor edilmiştir. TK'da ise minimum inhibisyon konsantrasyonu *S. aureus*'a karşı %0.125'de gözlemlenirken, en düşük antimikrobiyal etki ise %2 konsantrasyonla *P. expansum*'a karşı görülmüştür (Tablo 4). Bu çalışmada üretilen ANK %1 konsantrasyonlarda *L. monocytogenes* ve *S. aureus*, %2 konsantrasyonlarda *E. coli* ve %1 konsantrasyonlarda da *S. Typhimurium* ve *S. Enteriditis*'e karşı inhibisyon zonu oluşturmuştur (Şekil 9). Genel olarak bu çalışmada, TK, ANK'ye göre daha düşük

konsantrasyonlarda test edilen mikroorganizmalara karşı inhibisyon zonu gözlenmiştir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda kitosanın bakteriler üzerindeki inhibitör etkisinin daha çok bakteriyostatik olduğu görülmüştür. Kitosanın antifungal aktivite gösterdiği mayalardan bazıları *C. albicans*, *C. lambica*, *S. cerevisiae*'dir [32], Yaptığımız çalışmamızda da fungal kitosanın en fazla antimikrobiyal etki gösterdiği mikroorganizma *S. cerevisiae*'dir.

Khalaf [30] yaptığı benzer bir çalışmada *R. oryzae* tarafından üretilen kitosanın, yengeç kabuklarından elde edilen kitosan ile karşılaştırıldığında, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella spp.* ve *E. coli* gibi çeşitli patojenik bakteri suşlarına karşı daha yüksek antibakteriyel aktivite sergilediği bulunmuştur. *A. niger* misellerinden ticari kitosana kıyasla *E. coli* ve *Salmonella spp.*'ye daha az antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Yine benzer bir çalışmada, No ve ark., [31] farklı viskoziteye sahip kitosan çözeltilerinin *L. monocytogenes*, *V. parahaemolyticus* ve *S. aureus*'un gelişimi önemli oranda engellediğini, *E. coli*'nin gelişiminde ise 4-5 log'luk bir azalış sağladığını raporlamışlardır [32]. Bu çalışmada da benzer olarak kitosan *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Tablo 3. ANK'nın farklı mikroorganizmaların üremelerine karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapı (mm)  
 Table 3. Inhibition zone diameter for ANK against the growth of different microorganisms (mm)

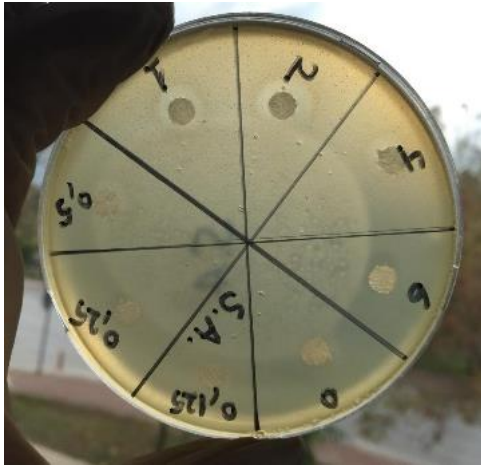
Mikroorganizmalar	Konsantrasyon (%)							
	0	0.125	0.25	0.5	1	2	4	6
<i>Aspergillus japonicus</i>	-	-	-	+	+	+	+	++
<i>A. flavus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>A. clavatus</i>	-	-	-	+	+	+	++	++
<i>A. syndowii</i>	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>A. wentii</i>	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Penicillium expansum</i>	-	-	-	-	+	+	+	++
<i>Williopsis saturnus spp. saturnus</i>	-	-	-	+	+	+	++	++
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	+	+	+	++	++	+++
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-	+	+	++	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	++
<i>Escherichia coli O157:H7</i>	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Salmonella Enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>S. Typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-	+	+

Inhibisyon zon çapları: 7-8 mm (+) 9-10 mm (++) 11-12 mm (+++), Zone yok (-)

Tablo 4. TK'nın farklı mikroorganizmaların büyümelerine karşı oluşturdukları inhibisyon zonları (mm)  
 Table 4. Inhibition zones for TK against the growth of different microorganisms (mm)

Mikroorganizma	Konsantrasyon (%)							
	0	0.125	0.25	0.5	1	2	4	6
<i>A. japonicus</i>	-	-	+	+	+	++	++	+++
<i>A. flavus</i>	-	-	-	+	+	+	++	+++
<i>A. clavatus</i>	-	-	+	+	+	++	++	+++
<i>A. syndowii</i>	-	-	-	-	+	+	++	++
<i>A. wentii</i>	-	-	-	+	+	++	++	+++
<i>P. expansum</i>	-	-	-	-	-	+	+	++
<i>W. saturnus</i>	-	-	-	-	+	+	++	++
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	+	+	++	++	+++	+++
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	+	+	+	++	++
<i>S. aureus</i>	-	+	+	+	++	++	++	+++
<i>E. coli O157:H7</i>	-	-	-	-	+	+	++	++
<i>S. Enteritidis</i>	-	-	-	-	+	+	++	++
<i>S. Typhimurium</i>	-	-	-	-	+	+	++	++

Inhibisyon zon çapları: 7-8 mm (+) 9-10 mm (++) 11-12 mm (+++), Zone yok (-)



Şekil 9. *S. aureus*'un disk difüzyon petrisinin görüntüsü  
 Figure 9. Image of disk diffusion petri dish of *S. aureus*

## SONUÇ

Besiyeri amaçlı kullanılan %20'lik çay ekstraktında üretilen *A. niger* misellerinden %17.57 gibi yüksek verimle kitosan üretimi gerçekleştirilmiştir. Kitosan verimi çay ekstrakt miktarının %5'den %20'ye artmasıyla paralel artış göstermiştir. Elde edilen kitosan miktarı

literatürde yer alan çalışmalarda *A. niger* fungusundan elde edilen değerlerin üzerinde olduğu görülmektedir [8]. Elde edilen ANK FT-IR spektrumları birbirleri ve TK ile uyumlu olmakla birlikte, TK'da 3100 cm<sup>-1</sup>'de kaybolan absorbans bandının, bu çalışmada üretilen ABK spektrumlarında görülmesi açısından farklılık göstermektedir. Ancak ANK'nın diğer benzer çalışmalarda FT-IR spektrumları ile uyumlu olduğu görülmüştür [29]. ANK, TK'ya göre test edilen mikroorganizma türlerine karşı daha düşük antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu aktivite, artan kitosan konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artarak birlikte artış oranı bakteriyel, maya ve küf türüne göre farklılık göstermektedir. ANK en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *S. cerevisiae*'ye karşı, en düşük antimikrobiyal aktiviteyi ise *A. syndowii*'ye karşı göstermiştir. *A. niger* küfünün hücre duvarından elde edilen kitosanın deasetilasyon derecesi %92 olarak bulunurken, ticari kitosanın deasetilasyon derecesi ise %89 olarak bulunmuştur. Literatürle kıyaslandığında bu değerlerin yüksek olduğu görülmüştür. Daha önce yapılan birçok çalışmada yüksek deasetilasyon derecesi sahip olan kitosanların düşük olanlara nazaran daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir [47]. Fungal kitosanın viskozitesi literatürde verilen değerlere göre düşük çıkmıştır. Viskozite, kitosan molekül ağırlığının

belirlenmesinde ve dolayısıyla endüstriyel uygulamalarının belirlenmesinde önemli bir parametredir. Daha yüksek molekül ağırlık içeren kitosan, genellikle endüstriyel uygulamalar için arzu edilmeyen yüksek viskoziteli çözümler sunar. Bu bakımdan daha düşük viskoziteli kitosanlar tercih edilir. Kitosanın çözelti viskozitesi, moleküler boyutuna, katyonik karakterine ve konsantrasyonunun yanı sıra çözücünün pH ve iyonik gücüne de bağlıdır [46]. Atık maddeler kullanılarak yüksek miktarlarda üretilen kütten elde edilen kitosan biyopolimeri, çevre ve canlıya karşı toksik olmayan özelliğinin olması, biyolojik olarak bozunabilir olması, yüksek biyo-uyumluluğu, bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri bakımından diğer polimerlere kıyasla daha avantajlı olmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı farklı disiplinlerde geniş kullanım alanlarına sahip olabilecektir. *A. niger*'in dünya genelinde yaygın olarak bulunması, kolay kültüre edilebilir olması nedeniyle iyi bir alternatif kitosan kaynağı olarak değerlendirilmesi önerilmektedir. İlave olarak bu çalışma, Türkiye'de çok fazla tüketilen çay atığına da değerlendirilebilecek bir alan kazandırmış olup bu konudaki araştırmalar için yol gösterici olacaktır.

#### KAYNAKLAR

- [1] Bartnicki-Garcia, S. (1968). Cell wall chemistry morphogenesis and taxonomy of fungi. *Annual Review of Microbiology*, 22, 87-108.
- [2] Aiba, S. (1992). Studies on chitosan: 4. Lysozymic hydrolysis of partially n-acetylated chitosans. *International Journal of Biological Macromolecules*, 14, 225-228.
- [3] Tokatlı, K., Demirdöven, A. (2015). Kitosan ve kitosan bazlı yenilebilir film uygulamaları. *Akademik Gıda*, 13, 348-353.
- [4] Dutta, P.K., Dutta, J., Tripathi, V. (2004). Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 63, 20-31.
- [5] Aranaz, I., Mengibar, M., Harris, R., Panos, I., Miralles, B., Acosta, N., Galed, G., Heras, A. (2009). Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology*, 3, 203-230.
- [6] Nwe, N., Stevens, W. (2002). Production of fungal chitosan by solid substrate fermentation followed by enzymatic extraction. *Biotechnology Letters*, 24, 131-134.
- [7] Teng, W.L., Khor, E., Tan, T.K., Lim, L.Y., Tan, S.C. (2001). Concurrent production of chitin from shrimp shells and fungi. *Carbohydrate Research*, 332, 305-316.
- [8] Wu, T., Zivanovic, S., Draughon, F.A., Conway, W.S., Sams, C.E. (2005). Physicochemical properties and bioactivity of fungal chitin and chitosan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 3888-3894.
- [9] Pochanavanich, P., Suntornsuk, W. (2002). Fungal chitosan production and its characterization, Department of Microbiology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, Thailand, 35, 17-21.
- [10] Kaya, M., Cakmak, Y. S., Baran, T., Asan-Ozusaglam, M., Mentés, A., Tozak, K.O. (2014). New chitin, chitosan, and o-carboxymethyl chitosan sources from resting eggs of *Daphnia longispina* (Crustacea); with physicochemical characterization, and antimicrobial and antioxidant activities. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 19, 58-69.
- [11] Donald, H.D., Hayes, E.R. (1988). Determination of degree of acetylation of chitin and chitosan. *Methods in Enzymology*, 161, 442-446.
- [12] Menon, K.K.G., Mulky, M.J., Sharma, V.S. (1993). The tea industry in India: how to redesign a native tea culture, processing and marketing, Oxford and IBH, New Delhi, pp. 3-10.
- [13] Selvakumar, P., Ashakumary, L., Pandey, A. (1998). Biosynthesis of glucoamylase from *Apergillus Niger* by solid-state fermentation using tea waste as the basis of a solid substrate. *Bioresource Technology*, 65, 83-85.
- [14] Moore-Landecker, E. (1996). Fundamentals of the fungi. 4th ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 251-278.
- [15] Nwe, N., Chandkrachang, S., Stevens, W.F., Maw, T., Tan, T.K., Khor, E., Wong, S.M., (2002a). Production of fungal chitosan by solid state and submerged fermentation. *Carbohydrate Polymers*, 49, 235-237.
- [16] Jaworska, M.M., Konieczna, E. (2001). The influence of supplemental components in nutrient medium on chitosan formation by the fungus *Absidia orchidis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56, 220-224.
- [17] Rane, KD, Hoover, DG. (1993). An evaluation of alkali and acid treatments for chitosan extraction from fungi. *Process Biochemistry*, 28, 115-118.
- [18] Shimahara, K., Takiguchi, Y., Kobayashi, T., Uda, K., Sannan, T. (1989). Screening of Mucoraceae strains suitable for chitosan production. In Chitin and Chitosan ed. Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. and Sanford, P. pp. 171-178. London: Elsevier Applied Science.
- [19] Crestini, C., Kovac, B., Giovannozzi-Sermanni, G. (1996). Production and isolation of chitosan by submerged and solid-state fermentation from *Lentinus edodes*. *Biotechnology Bioengineering*, 50, 207-210.
- [20] Hang, Y.D. (1990). Chitosan production from *Rhizopus oryzae* mycelia. *Biotechnology Letters*, 12, 911-912.
- [21] Xu, Y., Du, Y. (2003). Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 250, 215-226.
- [22] Wang, X., Du, Y., Liu, H. (2004). Preparation, characterization and antibacterial activity of chitosan-Zn complex. *Carbohydrate Polymers*, 56, 21-26.
- [23] Arof, A.K., Osman, Z. (2003). FTIR studies of chitosan acetate based polymer electrolytes. *Electrochimica Acta*, 48, 993-999.
- [24] Salokhe, V.M., Rakshit, S.K., Pranoto, Y. (2005.) Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nişin. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 38, 859-865.

- [25] Mincheva, R., Manolova, N., Sabov, R., Kjurkchiev, G., Rashkov, L. (2004). Hydrogels from chitosan crosslinked with poly(ethyleneglycol) diacid as bone regeneration materials. *e-Polymers* 058, 1-11.
- [26] Han, J., Zhou, Z., Yin, R., Yang, D., Nie, J. (2010). Alginate-chitosan/hydroxyapatite polyelectrolyte complex porous scaffolds: preparation and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46, 199-205.
- [27] Brugnerotto, J., Goycoolea, F.M., Arguelles-Monal, W., Desbrieres, J., Rinaudo, M. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*, 42, 3569-3580.
- [28] Velde, V., Kiekens, K.P. (2004). Structure analysis and degree of substitution of chitin, chitosan and dibutylchitin by FT-IR spectroscopy and solid state <sup>13</sup>C NMR. *Carbohydrate Polymers*, 58, 409-416.
- [29] Koçer, İ., (2015). Farklı Yöntemlerle Kitosan Eldesi ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- [30] Goy, R.C., De Britto, D., Assis, O.B.G. (2009). A Review of the antimicrobial activity of chitosan, polímeros. *Ciência e Tecnologia*, 19, 241-247.
- [31] Kong, M., Chen, X.G., Xing, K., Park, H.J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 51-63.
- [32] Guo, Z., Xing, R., Liu, S., Zhong, Z., Ji, X., Wanga, L., Li, P. (2007). Antifungal properties of Schiff bases of chitosan, n-substituted chitosan and quaternized chitosan. *Carbohydrate Research*, 342, 1329-1332.
- [33] Guo, Z., Xing, R., Liu, S., Zhong, Z., Ji, X., Wang, L., Li, P. (2008). The influence of molecular weight of quaternized chitosan on antifungal activity. *Carbohydrate Polymers*, 71, 694-697.
- [34] Khalaf, S.A. (2004). Production and characterization of fungal chitosan under solid-state fermentation conditions. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6, 1033-1036.
- [35] No, H.K., Lee, S.H., Park, N.Y., Meyers, S.P. (2003). Comparison of physicochemical, binding, and antibacterial properties of chitosans prepared without and with deproteinization process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7659-7663.
- [36] Kucukgulmez, A., Celik, M., Yanar, Y., Sen, D., Polat H., Kadak, A.E. (2011). Physicochemical characterization of chitosan extracted from *Metapenaeus stebbingi* shells. *Food Chemistry*, 126, 1144-1148.
- [37] Kaya, M., Tozak, K.Ö., Baran, T., Sezen, G., Sargin, I. (2013). Natural porous and nano fiber chitin structure from *Gammarus argaeus* (*Gammaridae crustacea*). *Excli Journal*, 12, 503-510.
- [38] Wang, Y., Chang, Y., Yu, L., Zhang, C., Xu, X., Xue, Y., Li, Z., Xue, C. (2013). Crystalline structure and thermal property characterization of chitin from Antarctic krill (*Euphausia superba*). *Carbohydrate Polymers*, 92, 90-97.
- [39] Yen, M.T., Mau, J.L. (2007). Physico-chemical characterization of fungal chitosan from Shiitake stipes. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 472-479.
- [40] Cahn, H.Y., Chen, M.H., Yuan, G.F. (2001). Fungal chitosan. *Fungal Science*, 16(1-2), 39-52.
- [41] Yen, M.T., Mau, J.L. (2004). Physicochemical properties of chitin from shiitake stipes and crab shells. *Annual Tainan Woman's Coll. Arts Technol.* 23, 229-240.
- [42] Ifuku, S., Nomura, R., Morimoto, M., Saimoto, H. (2011). Preparation of chitin nanofibers from mushrooms. *Materials*, 4, 1417-1425.
- [43] Czechowska-Biskup, C., Jarosińska, D., Rokita, B., Ulański, P., Rosiak, J.M. (2012). Determination of Degree of Deacetylation of Chitosan-Comparison of Methods. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, 17, 5-20.
- [44] Kasaai, M.R. (2009). Determination of the degree of N-acetylation for chitin and chitosan by various NMR spectroscopy techniques: A review. *Carbohydrate Polymers*, 79, 801-810.
- [45] Yang, B.Y., Montgomery, R. (2000). Degree of acetylation of heteropolysaccharides. *Carbohydrate Research*, 323, 156-162.
- [46] Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31, 603-632.
- [47] Park, P.J., Je, J.Y., Byun, H.G., Moon, S.H., Kim, S.K. (2004). Antimicrobial activity of heterochitosans and their oligosaccharides with different molecular weights. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14, 317-323.

## Toprak Kökenli *Miksobakteri* İzolatlarından Alfa-Amilaz Enzimi Üretimi ve Saflaştırılması

Melike Baran Ekinci<sup>1</sup>  ✉, Aynur Gül Karahan Çakmakçı<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur

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

Geliş Tarihi (Received): 20.10.2022, Kabul Tarihi (Accepted): 22.12.2022

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [melikebaran@mehmetakif.edu.tr](mailto:melikebaran@mehmetakif.edu.tr) (M. Baran Ekinci)

☎ 0 248 213 2706 📠 0 248 213 2704

### ÖZ

Bu çalışmada farklı il (Antalya, Konya, Isparta) ve ilçelerden (Kulu, Şarkikaraağaç, Atabey) toplanan farklı habitatlara ait 28 toprak örneğinden 19 miksobakteri suşu izole edilmiştir. İzole edilen 19 miksobakteri arasında *Myxococcus* sp KK2'nin en yüksek  $\alpha$ -amilaz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Protein çöktürülmesi ile ilk uygulamada %40, 65 ve 80 amonyum sülfat konsantrasyonları, ikinci uygulamada ise %20, 40 ve 65 konsantrasyonları kullanılarak enzim saflığı artırılmıştır. Diyaliz ve jel filtrasyon yöntemleri kullanılarak ilk uygulamada elde edilen enzimin aktivitesi 883.27 U'ya ulaşırken enzim saflığı 28.35 kat artmıştır. İkinci uygulama ile ise enzim aktivitesi 1754.99 U olarak saptanmış ve enzim saflığı 810.24 kat artmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Miksobakteriler, *Myxococcus*, Enzim saflaştırma

### Alpha-Amylase Production and Purification from Myxobacteria Isolates of Soil Origin

#### ABSTRACT

In this study, 19 myxobacteria strains were isolated from 28 soil samples in the different habitats. They were collected from different provinces (Antalya, Konya and Isparta) and their districts (Kulu, Şarkikaraağaç and Atabey). Among the 19 myxobacteria isolated, *Myxococcus* sp KK2 was determined to have the highest  $\alpha$ -amylase activity. With protein precipitation, enzyme purity was increased by using 40, 65 and 80% ammonium sulfate concentrations in the first application, then 20, 40 and 65% concentrations in the second application. By using dialysis and gel filtration methods, the activity of the enzyme obtained in the first application reached 883.27 U while enzyme purity increased 28.35 times, and enzyme activity was 1754.99 U after the second application while enzyme purity increased 810.24 times.

**Keywords:** Myxobacteria, *Myxococcus*, Enzyme purification

### GİRİŞ

Nişasta dünyada doğal olarak bulunan en yaygın polisakkarit olup mısır, patates, pirinç veya buğdaydan izole edilebilmektedir [1]. Nişasta; biyo-etanol dönüşümü [2], ispirto üretimi [3], tekstil, yapı ve kağıt ürünlerinin dayanıklılığını artırma gibi pek çok ticari alanda kullanılmaktadır [4]. Nişastanın veya nişastadan elde edilen son ürünün istenilen özellikleri kazanabilmesi için

nişastanın parçalanması gerekmektedir. Bu amaçla  $\alpha$ -amilaz (EC 3.2.1.1), glukoamilaz (EC 3.2.1.3) ve gliko-nasetiltransferaz (EC 2.4.1.19) en çok kullanılan enzimlerdir [4]. Alfa-amilaz, nişasta ve diğer polisakkaritlerin iç kısımlarındaki  $\alpha$ -1,4 glikosidik bağlarını parçaladığı için bunlara endoamilaz da denir [4]. Alfa-amilaz enzimi gıda endüstrisinde; glukoz ve fruktoz şurubu üretimi [1, 5], fırıncılık ürünleri [6], meyve suyu üretimi ve çeşitli modifikasyon ürünleri gibi pek çok gıda

prosesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [7]. Alfa-amilazlar ayrıca deterjan üretiminde [8], gıda atıklarının biyo-degradasyonunda [9] ve eczacılık alanında [10] kullanılmasının yanı sıra, tıp ve gıda sektörü gibi birçok alanda sorun teşkil eden biyofilm yapısının önlenmesinde de anti-biyofilm ajanı olarak dikkat çekmektedir [11,12].

Alfa-amilazlar bitkiler ve hayvanlar tarafından da sentezlenmesine rağmen [13] yüksek gelişim ve proliferasyon yeteneği göz önüne alındığında endüstriyel  $\alpha$ -amilaz üretimi için en iyi kaynak mikroorganizmalardır [4]. Mikroorganizmalar içerisinde; *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *A. candidus* gibi bazı funguslar ile *Pseudomonas*, *Saccharophila*, bazı *Clostridium* ve *Bacillus* cinslerine ait türler ve bunların alt türleri gelmektedir. Fungal  $\alpha$ -amilazlar, sıcaklığa bakteriyel  $\alpha$ -amilazlara göre daha çok duyarlı olduğundan üzerinde çalışılan asıl enzim kaynağını daha çok bakteriyel  $\alpha$ -amilazlar oluşturmaktadır [14].

Mikrobakteriler Gram negatif, kayarak hareket eden [15-18], kurumaya dirençli meyvemsi yapı oluşturan çubuk şekilli bakterilerdir [18, 19]. Tüm mikrobakteriler zorunlu aeorptur [20, 21]. Mikrobakteriler, doğada çeşitli toprak katmanı, kompost, çürümüş ağaç ve otçul hayvanların dışkısında bulunmaktadır. Birçoğu geliştikleri ortamlarda renkli pigmentler meydana getirir. Bazı türleri ise selulozun yanı sıra, agar ve kitin gibi kompleks substratları da parçalama yeteneğindedir. Çoğunlukla pH 5-8 arasındaki topraklarda bulunurlar. Kum ve taşlı yüzeylerde de gelişebilirler [16, 17]. Prokaryotlar arasında eşsiz olarak kabul edilen mikrobakteriler, bakterilerin çok ilginç bir grubu olup hayat döngüleri [15, 17, 22] ve ürettikleri ikincil metabolitleri [23] bir hayli dikkat çekmektedir. Mikrobakterilerin iyi birer enzim üreticisi olduğu bilinmesine rağmen  $\alpha$ -amilaz üretimleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bazı mikrobakteri cinsleri ve *Cystobacter fuscus*, *Stigmatella aurantiaca* türlerinin amilaz ürettiği ile ilgili kaynaklar mevcuttur [24]. Ancak bu konudaki ilk kapsamlı çalışma [25,26] tarafından yapılmış olup *Myxococcus coralloides* D nin  $\alpha$ -amilaz enzimi üretimini ve üretilen enzimin özelliklerini incelemişlerdir. Fan ve ark. [35] ise *Archangium* sp. strain AC19'den amilaz üretimden sorumlu geni *E. coli*' ye aktararak elde edilen genetik modifiye enzim ile yeni malto-oligosakkarit üretimi üzerinde çalışmışlardır. Nişasta parçalayıcı bir mikrobakteri suşu olan *Sandaracinus amyolyticus* DSM 53556'nın ise tüm genomu araştırılmıştır [27].

Bu çalışmada Türkiye'deki habitatlardaki varlığı hakkında çok az literatür bilgisi bulunan mikrobakterilerin ülkemizdeki bazı habitatlardaki mevcut durumu araştırılmıştır. Ayrıca izole edilen 19 adet mikrobakteri arasında en yüksek enzim aktivitesine sahip olan izolat olarak belirlenen *Myxococcus* sp KK2'den elde edilen  $\alpha$ -amilaz enziminin çeşitli basamaklarda saflaştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Bu çalışmada kullanılan mikrobakteriler Antalya, Konya ve Isparta illeri ile Kulu, Şarkikaraağaç ve Atabey ilçelerinden alınan 28 adet toprak örneği materyal olarak kullanılmıştır. Topraklar, yerleşim yerlerinin yanı sıra ormanlık alanlar, çiftlikler ve kümesler gibi özellikle kompost, çürümüş ağaç ve otçul hayvanların (tavşan, tavuk, inek vb.) dışkısının bol olduğu yerlerden rastgele seçilmiştir.

### İzolasyon ve Tanımlama

İzolasyon yapmak amacıyla Casitone-Mg<sup>++</sup> agar, *E. coli* agar, Dunk Pellet agar, Su agar, Modifiye Dunk Pellet agar (MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0.25 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.125 g; Agar, 7.5 g; Sığır gübresi, 5.0 g; Damıtık su, 500 mL) ve Nutrient agar besiyerleri kullanılmıştır [16].

Tanının gerçekleştirilmesi amacıyla seçilen izolatların koloni morfolojisi incelenmiş, Gram reaksiyonu, mikroskopta görünümü, çeşitli antibiyotiklere duyarlılık durumları, bakteriyolitik veya selülitik olma özellikleri, jelatini ve kazitonu hidrolize etme yetenekleri ve Kongo red ile boyanma özellikleri belirlenmiştir [16].

### İzolatların Üretimi

İzolatların geliştirilmesi için modifiye CT sıvı besiyeri (Trypticase pepton [BBL], 5 g; çözünebilir nişasta, 10 g; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1 g; potasyum-fosfat tampon çözeltisi, 1 L ,[0.01 mmol/L pH 6.5]); [25] ve Sarıkaya'nın modifiye besiyeri (pepton, 5 g; çözünebilir nişasta, 10 g;MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1 g; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 4 g, sodyum sitrat, 3 g; damıtık su, 1 L , pH 7) [14] kullanılmıştır. Sıvı besiyerine aşılardan örneklerin inkübe edilmesi amacıyla Gallenkamp (10x40.xx2.C) marka çalkalamalı inkübatör kullanılmıştır. Bakteriler 200 rpm/dakika hızla çalkalanarak 28°C'de 24-36 saat inkübe edilmiştir [26].

### Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

Protein tayininde Lowry yöntemi kullanılmıştır [28]. Bu amaçla saf kültürler 28°C'de 24-36 saat inkübe edilerek iki kez aktifleştirildikten sonra 3 mL örnek alınıp, 15 dakika süre ile 0-4°C'de santrifüj (Braun-Biotech) edilmiştir (5000 rpm). Bu işlemle bakteri hücreleri ile enzim içeren kısım birbirinden ayrılmıştır. Enzim aktivitesi tayininde, substrat olarak %1'lik nişasta çözeltisi kullanılmıştır.

Örnek tüpüne 0.5 mL bakteri süpernatantı, kontrol tüpüne ise 0.5 mL enzim üretim besiyeri süpernatantı ilave edilmiştir. Tüpler 25°C'lik su banyosunda 3-4 dakika inkübe edilerek reaksiyon sıcaklığına ulaşması sağlanmıştır. Daha sonra örnek içeren tüpe 25°C'deki nişasta çözeltisinden 0.5 mL ilave edilerek, her iki tüp 3 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda her iki tüpe de 1'er mL 3.5-Dinitro salisilik asit çözeltisi eklenmiş ve 5 dakika kaynatılarak enzimatik reaksiyon durdurulmuştur. Üzerlerine 10 mL saf su



eklenen örneklerin 540 nm de absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Shimadzu UV 1601, Tokyo, Japonya).

Bir birim alfa-amilaz aktivitesi (IU) 25°C'de ve pH 7'de 1 mL enzim çözeltisinin 3 dakika içerisinde %1'lik nişasta çözeltisindeki 1 mg nişastayı hidrolize ederek 1 µmol maltoz açığa çıkmasını gerçekleştiren enzim miktarı olarak tanımlanmıştır [28].

### Enzim Saflaştırılması ve Karakterize Edilmesi

Enzim saflaştırma ve izolasyonu için en yüksek α-amilaz aktivitesine sahip olan izolat seçilerek kullanılmıştır. Saflaştırma amacıyla kullanılacak olan enzim çözeltisinin hazırlanması amacıyla izolat 36 saat süre ile geliştirildikten sonra 0-4°C'de 17000 rpm'de santrifüj edilerek ayrılmıştır. Saf enzim çözeltisinin elde edilmesinde üç tekrar yapılmıştır. Enzim çözeltisi önce amonyum sülfatla çöktülerek diyaliz edilmiştir ve en sonunda kolondan geçirilerek saflaştırılmıştır.

Enzim çözeltisi üzerine ilk uygulamada %20, 40, 65 ve 80 doyumluk derişimlerinde, ikinci uygulamada ise %20, 40, 65 doyumluk derişimlerinde amonyum sülfat ilave edilmiştir. Amonyum sülfat toz haline getirilmiş ve 0-4°C'de yavaş yavaş ilave edilerek manyetik karıştırıcı ile çözünmesi sağlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan karışımlar +4°C'de bir gece bekletilmiş ve daha sonra karışımların pH'sı 2 N NaOH ile 7.0'ye ayarlanmıştır. Daha sonra soğutmalı santrifüjde (Sigma) 0-1°C'de 21000 rpm'de 45 dakika santrifüj edilmiştir [26]. Süpernatant ayrılmış ve pelet 50 mL saf su ile süspanse hale getirilmiştir. Bütün çalışmalar çift paralel olarak yapılmıştır. Elde edilen süpernatant ve pelet kısımlarında protein ve enzim aktivite tayinleri yapılmıştır.

Amonyum sülfat çöktürmesi ile elde edilen pelet saf su ile çözündürüldükten sonra 12000 Da ve üstündeki molekül ağırlığındaki maddeleri tutan selüloz diyaliz tüpüne aktarılmıştır. Diyaliz işlemi ile, çözeltiden (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'ın giderilip giderilmediği doyum baryum klorür (BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O) çözeltisi ile test edilmiştir [14]. Elde edilen diyalizatta protein ve enzim aktivite tayinleri yapılmıştır.

Saflaştırma aşamasında 40 cm uzunluğunda, 2.5 cm çapında Sephacryl S-200 kolon kullanılarak kolon kromatografi yönteminden faydalanılmıştır. Kromatografik sabit faz için ise Sephadex A-25 (Sigma) kolon dolgu maddesi kullanılmıştır [26]. Jel filtrasyon işleminde hareketli faz olarak MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O içeren 0.01 M tris-HCl tamponu (pH 8.0) kullanılmıştır. 1 mL diyalizat örneği kolon yüzeyine homojen şekilde uygulanmıştır. Kolondan çıkan örnekler 3'er mL'lik fraksiyonlar halinde toplanmıştır. Toplanan tüm örneklerin protein ve enzim aktivite tayinleri yapılmıştır. En yüksek aktivitenin saptandığı tüp +4°C'de saklanmıştır.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

Tüm miksobakteri izolatlarının α-amilaz aktiviteleri belirlenmiştir. Sakkarolitik aktivitenin belirlenmesi için glukoz veya maltoz cinsinden indirgen şekerlerin tayini kullanılmaktadır [14]. İki farklı besiyerinde geliştirilen 19 izolat içinde *Myxococcus sp* KK2 izolatının en yüksek α-amilaz aktivitesine (3.82 U.mg<sup>-1</sup>) sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 1). Bu nedenle enzim saflaştırma çalışmalarında *Myxococcus sp* KK2 kullanılmıştır.

Tablo 1. Miksobakteri izolatlarının iki farklı besiyerinde α-amilaz üretiminin karşılaştırılması  
*Table 1. Comparison of α-amylase production of myxobacteria isolates on two different media*

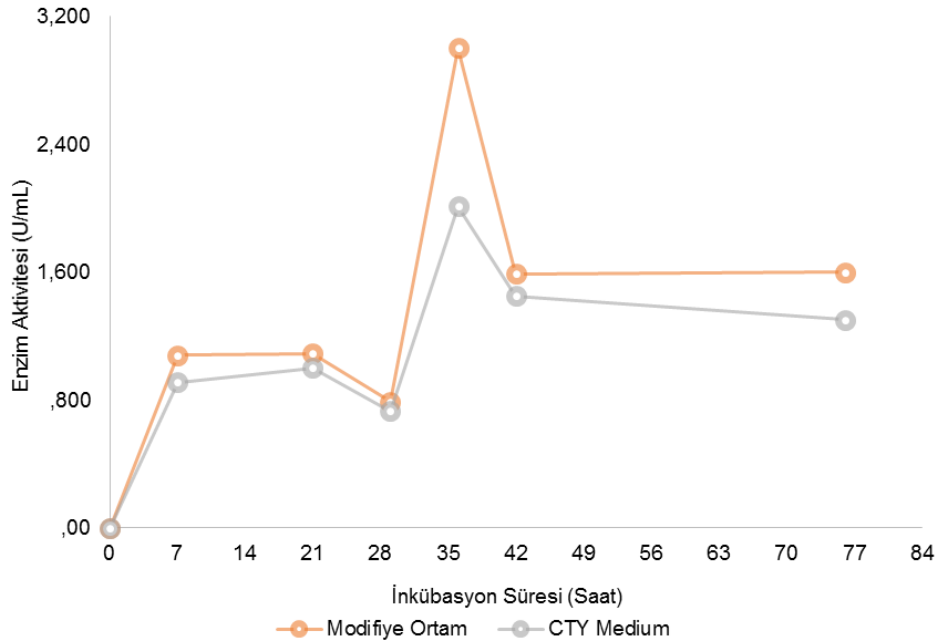
Isolate	Modifiye CT Sıvı Besiyeri (U.mg <sup>-1</sup> )	Sarıkaya'nın [14] Modifiye Besiyeri (U.mg <sup>-1</sup> )
Ş1	1.55	2.65
Ş2	1.94	2.68
MED1	1.56	2.65
MED2	1.74	2.68
MED3	1.54	2.63
MED4	1.72	2.69
MED5	1.83	1.91
ANT1	1.78	2.39
ANT2	1.82	3.33
UNI1	2.98	3.62
UNI2	1.77	2.49
UNI3	1.79	2.37
KK1	1.81	3.13
KK2	1.34	3.82
KK3	1.34	2.83
KK4	2.02	2.29
KK5	1.56	2.23
KK6	2.01	2.19
KK7	0.12	0.18

Enzim aktivitesinin en yüksek olduğu besiyerini belirlemek amacıyla modifiye CT sıvı besiyeri ve Sarıkaya'nın [14] önerdiği ortamlar kıyaslanmıştır.

*Myxococcus sp* KK2'nin her 2 besiyerinde 76 saatlik süre sonunda enzim aktiviteleri 7, 21, 29, 36, 42 ve 76. saatlerde sakkarolitik yöntem ile belirlenmiştir (Şekil 1).

Her iki besiyerinde 29 saate kadar yapılan inkübasyon sonuçları ile 42 ve 76. saatlerde yapılan inkübasyon sonuçları arasında enzim aktivitesi açısından her iki besiyerinde farklılık yoktur. Ancak 36. saat sonunda Sarıkaya'nın [14] önerdiği modifiye besiyerinde enzim

aktivitesinin modifiye CTY besiyerinden 2.85 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Enzim aktivitesinde belirlenen bu fazlalık nedeniyle enzim üretim ortamı olarak Sarıkaya'nın [14] modifiye besiyeri kullanılmıştır.



Şekil 1. İki farklı besiyeri ortamında *Myxococcus* sp. KK2'nin  $\alpha$ -amilaz üretiminin karşılaştırılması  
Figure 1. Comparison of  $\alpha$ -amylase production of *Myxococcus* sp. KK2 in two different media

*Myxococcus coralloides* D'nin  $\alpha$ -amilaz aktivitesini belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada da karbon kaynağı olarak nişasta kullanılmıştır ve benzer şekilde 34 saat inkübasyon sonunda en yüksek amilaz aktivitesine ulaşılmıştır. Ancak enzim aktivite tayininde yararlanılan yöntemler arasındaki farklılıklar diğer sonuçlar üzerinde kıyaslama yapmayı güçleştirmektedir [25]. Farklı çalışmalarda ise maksimum enzim aktivitesinin belirlendiği inkübasyon periyotları da farklılık göstermektedir. Farklı *Bacillus* türleri maksimum enzim aktivitesine 40-72 saatte ulaşmaktadır [14]. Siklo dekstrin üretimi için yapılan bir çalışmada kullanılan  $\alpha$ -amilaz 24 saatlik inkübasyonda maksimum üretim gerçekleştirirken [29], *Gibberella fujikuroi* ile yapılan bir çalışmada ise 120 saatlik inkübasyon periyodundan sonra maksimum enzim üretimini gerçekleştirmiştir [30].

Elde edilen bilgiler ışığında  $\alpha$ -amilazın saflaştırılması amacıyla *Myxococcus* sp. KK2, Sarıkaya'nın [14] modifiye sıvı besiyerinde 28°C'de 200 rpm hızla çalkalanarak 36 saatte üretilmiştir.

*Myxococcus* sp. KK2'nin ürettiği  $\alpha$ -amilazın saflaştırılması amacıyla, amonyum sülfat çöktürmesi, diyaliz ve Sephadex A-25 jel filtrasyonu işlemleri uygulanmıştır. *Myxococcus* sp. KK2 farklı zamanlarda 2 kez değişik miktarlarda üretilmiştir. Bakteri besiyerinden santrifüjlenerek ayrılmıştır. Süpernatant ilk uygulamada %40, 65 ve 80, ikinci uygulamada ise %20, 40, 65 ve 80 amonyum sülfat doygunluklarına getirilerek amonyum sülfat ile bağlanan enzim santrifüjle çöktürülmüştür.

Her iki uygulama sonucunda da en yüksek aktivitenin %65 amonyum sülfat ile yapılan çöktürme sonucunda sağlandığı saptanmıştır. Enzim çözeltisinden amonyum sülfatı uzaklaştırmak amacıyla diyaliz işlemi yapılmıştır. Diyaliz işleminden sonra enzim çözeltisinin protein içeriği ve enzim aktivitesi tayin edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre ilk uygulamada toplam aktivite iki kattan fazla artarken spesifik aktivite 31.55 U.mg<sup>-1</sup>'den 26.58 U.mg<sup>-1</sup>'ye azalmıştır. İkinci uygulamada ise hem toplam aktivite hem de spesifik aktivitede de bir miktar artış belirlenmiştir.

Diyaliz işlemi sonucunda elde edilen diyalizat, daha sonra jel filtrasyonu Sephadex A-25 kolonuna uygulanarak enzimin daha fazla saflaştırılmasına çalışılmıştır. Kolon çıktıları toplanarak her bir tüpteki protein miktarları, toplam ve spesifik enzim aktiviteleri saptanmıştır.

İlk uygulamada Sephadex A-25 filtrasyonu sonunda tüm fraksiyonlarda yapılan protein ve enzim aktivite tayinlerine göre enzimin kolondan çıkışı 4. fraksiyonda olmuştur. Saflaştırmanın çeşitli basamaklarında spesifik aktivite ve saflık gittikçe artmıştır. Amonyum sülfat çöktürmesinden sonra enzim, ilk denemede 5.45 kez saflaştırılabildiği halde, diyaliz işlemi sonucunda bu oran 0.85'e düşmüştür. Protein miktarındaki artışın aktivite düşüşünde önemli etkisi bulunmaktadır. Jel filtrasyon işlemi ile toplam aktivite başlangıca göre çok az bir artış gösterdiği halde, enzim proteininin oldukça saf elde edilmesi nedeniyle spesifik aktivite artış göstermiştir. Bu

denemede enzim başlangıca göre 28.35 kat saflaştırılmıştır.

İkinci uygulamada ise enzim saflaştırılma katsayısı 810.24 gibi oldukça yüksek bir değere ulaşmıştır. Ancak bu uygulamada da diyaliz işlemiyle toplam aktivite çok az artarken spesifik aktivite ilk denemenin aksine bir miktar artış göstermiştir. Jel filtrasyonu ile enzim proteini oldukça iyi saflaştırılmış, toplam protein 0.05 µg, spesifik aktivite ise 1754.99 U.mg<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Başlangıçta 0.193 U.mg<sup>-1</sup> olan toplam aktivite de 0.281 U.mg<sup>-1</sup>'e ulaşmıştır. Bu fraksiyonda spesifik enzim aktivitesinin 18. fraksiyondan daha düşük çıkmıştır ve bu durum protein miktarının yüksek olmasından kaynaklanmaktadır.

Mikrobakterilerin α-amilaz üretimine yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. *Myxococcus coralloides* D'nin ürettiği α-amilazın özellikleri ve önemini incelediği çalışmada; enzim saflaştırılmasında amonyum sülfat çöktürmesi ve jel filtrasyonu yöntemlerinden yararlanılmıştır. Maksimum enzim aktivitesine %65 amonyum sülfat çöktürmesi ile ulaşılmıştır. Amonyum sülfat çöktürmesinden sonra Sephacyrl S-200 ve DEAE-Sephadex A-25 jel filtrasyonu uygulanmıştır. Uygulanan bu 3 basamaklı işlem sonucunda enzim 262.6 kat saflaştırılarak aktivite 15.3 U.mg<sup>-1</sup>'den 4016.7 U.mg<sup>-1</sup>'e yükselmiştir [26]. Çeşitli çalışmalarda uygulanan farklı saflaştırma yöntemleri enzim saflığı üzerinde etkili olmaktadır. Ultrafiltrasyon ve jel filtrasyon uygulamalarını içeren işlemleri ile enzim saflığı daha fazla artırılabilir. Diğer bir çalışmada *B. subtilis* α-amilaz enzimini saflaştırmak için öncelikle %80 amonyum sülfat kullanmış, bunu takiben Sephade G-150 uygulaması yaparak başlangıca göre 53 kez saflık elde etmiştir [31]. *Bacillus amyloliquefaciens* ile yapılan bir sıcaklık uygulama, iyon değişim ve jel filtrasyon kromatografisi uygulanarak saflık %62 oranında artırılmıştır [32]. Yoshigi vd. ise *Bacillus cereus* NY-14'ten ekstraselüler α-amilaz elde etmiştir. Bu enzim amonyum sülfat çöktürmesi ve Sephade G-100 jel filtrasyonu ile başlangıca göre 1101 kez saflaştırılmıştır [33].

Amilazlar endüstriyel enzimlerin toplan pazar payının %30'unu oluşturmaktadır ve mevcut amilazlar endüstriyel ihtiyaçların hepsine karşılık verememektedir [46]. O yüzden özellikle farklı endüstriyel alanlar için bakterilerden yeni amilaz üretici suşların eldesi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir [50].

## SONUÇ

Bu çalışmada kullanılan 19 adet mikrobakteri arasından en yüksek enzim aktivitesine sahip suşun *Myxococcus* sp. KK2'den elde edilen α-amilaz enzimi olduğu saptanmıştır. Saflaştırma amacı ile iki uygulama yapılmıştır. İlk uygulamada enzim saflığı başlangıca göre 28.35 kat artarak 883.27 7 U.mg<sup>-1</sup>'e ulaşırken ve ikinci uygulamada ise 810.24 kat artarak 1754.997 U.mg<sup>-1</sup>'e ulaşmıştır.

Ülkemizde mikrobakteriler ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmakla beraber, yapılan kaynak araştırmasına göre mikrobakterilerin α-amilaz üretimleri ile ilgili çalışma

mevcut değildir. Bu çalışmada elde edilen veriler ışığında mikrobakterilerin endüstriyel enzim üretimi için önemli bir potansiyel kaynak olduğu görülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Prof. Dr. Aynur Gül Karahan yürütücülüğünde Süleyman Demirel Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nce 209'nolu "Mikrobakterilerden α-Amilaz Enziminin Ayırımı ve Saflaştırılması" isimli proje ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Msarah, J.M., Ibrahim, I., Hamid, A.A., Aqma, S. (2020). Optimisation and production of alpha amylase from thermophilic *Bacillus* spp. and its application in food waste biodegradation. *Heliyon*, 6(6), e04183.
- [2] Chohan, N.A., Aruwajoye, G.S., Sewsynker-Suka, Y., Gueguim-Kana, E.B. (2020). Valorisation of potato peel wastes for bioethanol production using simultaneous saccharification and fermentation: Process optimization and kinetic assessment. *Renewable Energy*, 146, 1031-1040.
- [3] Gavahian, M., Chu, R., Ratchaneesiripap, P. (2021). An ultrasound-assisted extraction system to accelerate production of Mhiskey, a rice spirit-based product, inside oak barrel: Total phenolics, color, and energy consumption. *Journal of Food Process Engineering*, 45(6), e13861.
- [4] Xia, W., Zhang, K., Su, L., Wu, J. (2021). Microbial starch debranching enzymes: Developments and applications. *Biotechnology Advances*, 50, 107786.
- [5] Maniglia, C.B., Castanha, N., Le-Bail, P., Augusto, P.E.D. (2021). Starch modification through environmentally friendly alternatives: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(15), 2482-2505.
- [6] Alexa, E., Negrea, M., Cocan, I. (2021). Natural improvers for bakery technology. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 27(4), 392-498.
- [7] Singh, P., Kumar, S. (2019). Microbial Enzyme in Food Biotechnology. *Enzymes in Food Biotechnology: Production, Applications, and Future Prospects*, Chapter 2, Academic Press, United Kingdom.
- [8] Chapman, J., Ismail, A.E., Dinu, C.Z. (2018). Industrial applications of enzymes: recent advances, techniques, and outlooks. *Catalysts*, 8(6), 238.
- [9] Awasti, K.M., Wong, J.W.C., Kumar, S., Awasti, S.K., Wang, K., Wang, M., Ren, X., Zhao, J., Chen, H., Zhang, Z. (2018). Biodegradation of food waste using microbial cultures producing thermostable α-amylase and cellulase under different pH and temperature. *Bioresource Technology (Part B)*, 248, 160-17.
- [10] Paul, J.S., Gupta, N., Beliya, E., Tiwari, S., Jadhav, S.K. (2021). Aspects and recent trends in microbial

- $\alpha$ -amylase: a review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193, 2649-2698.
- [11] Lahiri, D., Moupriya, N., Sarkar., T., Dutta, B., Ray, R.R. (2021). Antibiofilm activity of  $\alpha$ -amylase from *Bacillus subtilis* and prediction of the optimized conditions for biofilm removal by Response Surface Methodology (RSM) and Artificial Neural Network (ANN). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, (193), 1853-1872.
- [12] Vaikundamoorthy, R., Rajendran, R., Selvaraju, Moorthy, K., Perumal, S. (2018). Development of thermostable amylase enzyme from *Bacillus cereus* for potential antibiofilm activity. *Bioorganic Chemistry*, 77, 494-506.
- [13] Taylor, A.J., Leach, R.M. (1995). Enzymes in the food industry. Enzymes in the Food processing (Tucker, G.A., Woods, L.F.J.,-eds). 26-41. Chapman and Hall, Glasgow.
- [14] Sarıkaya, E. (1995).  $\alpha$ -Amilaz Üreten Bazı *Bacillus* Suşlarının Gelişme Parametreleri, Enzim Özellik ve Üretim Koşullarının Optimizasyonu. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara.
- [15] Bader, C.D., Panter, F., Müller, R. (2021). In depth natural product discovery -Myxobacterial strains that provided multiple secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 39, 107480.
- [16] Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Washington, USA.
- [17] Dworkin, M., (1993). Cell Surfaces and Appendages. *Myxobacteria II*. (Dworkin, M., Kaiser, D.,-eds) 63-84. American Society for Microbiology, Washington, USA.
- [18] Holt, J.G., Krieg, R.N. Peter, H.S., Staley, J. T., Williams, T.S. (1994). Group 16 The Fruiting, Gliding Bacteria: The Myxobacteria. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ed. Williams and Wilkins Baltimore, Maryland USA 515-525.
- [19] Dawid, W. (2000). Biology and global distribution of myxobacteria in soils. *FEMS Microbiology Reviews*, 24, 403-427.
- [20] Reichenbach, H. (1993). Biology of the Myxobacteria: Ecology and Taxonomy. *Myxobacteria II*. (Dworkin, M., Kaiser, D., eds) 13-63. American Society for Microbiology, Washington, USA.
- [21] Reichenbach, H., Höfle, G. (1989). The Gliding Bacteria: A Treasury of Secondary Metabolites. *Bioactive Metabolites from Microorganisms*. (M.E. Bushell, U. Grafe Elsevier-eds). Amsterdam, 79-98.
- [22] Madigan, MT., Martinko, J. M., Parker, J. (1997). *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall International Inc., New Jersey, USA.
- [23] Shrivastava, A. Sharma, R. K. (2021). Myxobacteria and their products: current trends and future perspectives in industrial applications. *Folia Microbiologica*, 66, 483-507.
- [24] Far, B.E., Ahmadi, Y., Khosroushahi, A.Y., Dilmaghani, A. (2020). Microbial alpha-amylase production: progress, challenges and perspectives. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 10(3), 350-358.
- [25] Farez-Vidal, M.E., Fernandez-Vivas, A., Arias, J.M., (1992). Production of  $\alpha$ -amylase by *Myxococcus coralloides* D. *Journal of Applied Bacteriology*, 73, 148-156.
- [26] Farez-Vidal, M.E., Fernandez-Vivas A., Arias, J.M. (1995). Properties and significance of an  $\alpha$ -amylase produced by *Myxococcus coralloides* D. *Journal of Applied Bacteriology*, 78, 14-19.
- [27] Gerhardt, P. (1981). *Manual of Methods for General Bacteriology*. American Society of Microbiology, Washington, USA.
- [28] Sharma, G., Khatri, I., Subramanian, S. (2016). Complete genome of the starch-degrading myxobacteria *Sandaracinus amylolyticus* DSM 53668. *Genome Biology and Evolution*, 8(8), 2520-2529.
- [29] Hamilton, L.M., Kelly, C.T., Fogarty, W.M. (1999). Cyclodextrins and their interaction with amylolytic enzymes. *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 561-567.
- [30] Mulimani, V.H., Patil, G.N., Ramalingam (2000.)  $\alpha$ -Amylase production by solid state fermentation: a new practical approach to biotechnology courses. *Biochemical Education*, 28, 161-163.
- [31] Takasaki, Y. (1985). An amylase producing maltotriose from *Bacillus subtilis*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 49(4), 1091-1097.
- [32] Kochhar, S., Dua, R.D. (1990). Alpha-amylase from *Bacillus amyloliquefaciens*. *Biotechnology Letters*, 12(5), 393-396.
- [33] Yoshigi, N., Chikano, T., Kamimura, M. (1985). Purification and properties of an amylase from *Bacillus cereus* NY-14. *Agricultural and Biological Chemistry*, 49(12), 3369-3376.
- [34] Jin, F., Li, Y., Zhong, C., Yu, H. (2001). Thermostable  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ - galactosidase production from the thermophilic and aerobic *Bacillus* sp. strain. *Process Biochemistry*, 36, 559-564.
- [35] Wang, S. Jeyaseelan, J., Liu, Y. Qin, W. (2016). Characterization and optimization of amylase production in WangLB, a high amylase-producing strain of *Bacillus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 180,136–151.

## Siyah Sarımsak (*Allium sativum*) Üretimi: Üretim Sırasında Gerçekleşen Fiziksel ve Kimyasal Değişimler

Nursen Erol<sup>1</sup>  , Seda Ersus<sup>2</sup> <sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 35100 Bornova, İzmir<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100 Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 09.04.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 07.11.2022

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): fdenursen@gmail.com (N. Erol)

☎ 0 232 388 2395 📠 0 232 311 4831

### ÖZ

Siyah sarımsak 45-90°C sıcaklık, %50-90 bağıl nemdeki kontrollü ortamlarda beyaz sarımsağın siyah renk alana kadar bekletilmesi ile üretilir. Üretim sırasında, Maillard ve enzimatik reaksiyonların gerçekleşmesiyle sarımsağın özellikle renk, pH değeri, kuru madde, indirgen şeker içeriği gibi fizikokimyasal özelliklerinde ve besin değeri önemli değişimler oluşmaktadır. Antioksidan aktivitesinin beyaz sarımsağa kıyasla artması bu ürünü sağlık açısından daha tercih edilir kılmaktadır. Siyah sarımsak üretilmesi için gerekli sürenin 30-90 gün olması yüksek oranda enerji ve zaman kaybına neden olmaktadır. Bu derleme kapsamında, siyah sarımsak üretimi sırasında gerçekleşen fizikokimyasal değişimler, üretim teknolojisi ve üretim verimliliğini artırmak için kullanılan uygulamalar üzerine yapılmış bilimsel araştırmalar özetlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Siyah sarımsak, Siyah sarımsak üretimi, Maillard reaksiyonu

### Black Garlic (*Allium sativum*) Production: Physical and Chemical Changes During Production

#### ABSTRACT

Black garlic is obtained by keeping white garlic under controlled environment at 45-90°C temperature and 50-90% relative humidity until black color is obtained. During production, significant changes occur in physicochemical properties such as color, pH value, dry matter, reducing sugar content and nutritional value due to Maillard and enzymatic reactions. An increase in its antioxidant activity in comparison to white garlic makes it more preferable for health. Time required for producing black garlic, which is between 30 and 90 days, causes high energy consumption and time loss. In this review, scientific studies on physicochemical changes, production technology and applications used to increase production efficiency during black garlic production are summarized.

**Keywords:** Black garlic, Black garlic production, Maillard reaction

### GİRİŞ

Sarımsak (*Allium sativum* L.), içeriğindeki allisin, alliin ve ajoen sülfür bileşenlerinden ötürü antimikrobiyel, antifungal, anti-inflamatuar vb özelliklere sahip sağlık üzerine birçok faydaları olan bir bitkidir. Sarımsak bu özelliklerinden dolayı bazı hastalıklara karşı tedavi edici olarak kullanılmaktadır [1, 2]. Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre 2019 yılında 46454 ton taze, 132617 ton

kuru sarımsak üretimi gerçekleştirilmiştir [3]. Türk yemek kültüründe önemli bir yeri olan sarımsağın alliin ve allisin içeriğinden kaynaklı yoğun kokusu ve tadından dolayı kullanımı kısıtlanabilmektedir. Bu sorunu çözmek ve sarımsağın faydalarından mahrum kalmamak için alkoloit, flavonoit, fenolik bileşikler gibi biyoaktif bileşenler bakımından daha zengin, yoğun kötü kokuya sahip olmayan siyah sarımsak üretilmektedir. Siyah sarımsak beyaz sarımsağın 45-90°C sıcaklığa, %50-90

bağlı neme sahip kontrollü ortamda başka bir işlem uygulanmadan ya da katkı maddesi kullanılmadan siyah renk alana kadar bekletilmesi ile elde edilir ve bu işlem olgunlaştırma olarak adlandırılır [4, 5]. Proses esnasında sarımsağın özellikle renk, pH değeri, kuru madde, indirgen şeker içeriği gibi fizikokimyasal özelliklerinde ve besin değerinde önemli değişimler oluşmaktadır [6]. Antioksidan aktivitesinin beyaz sarımsağa oranla artması bu ürünü sağlık açısından tercih edilir hale getirmektedir [7].

Yüksek antioksidan aktiviteye sahip biyoaktif bileşenleri içeriğinde barındıran siyah sarımsağın sağlığa faydalı etkilere sahiptir. Bu özelliği sebebiyle siyah sarımsak tüketimi sosyal açıdan tüketimi kısıtlanan beyaz sarımsağa nazaran daha tercih edilir olmuştur. Yaşa bağlı hastalıkların önleyici tedavisinde kullanılabilir [8]. Hem beyaz sarımsağın hem de siyah sarımsağın anti-obeze, hepatoprotektif, nefroprotektif [9], bağışıklık sistemini güçlendirici, anti-tümör [10], nöroprotektif [4], anti-inflamatuar [11], anti-kanserojen, anti-alerjik [6], kardiyovasküler hastalıkları baskılama [5, 12] gibi sağlığa faydalı birçok etkisi bulunmaktadır. Siyah sarımsaktaki ana antioksidan bileşen olan S-allil sisteninin (SAC), beyaz sarımsak içeriğindeki diğer sülfür bileşenlerine (allisin, diallil disülfid) göre toksisitesinin az olması, hastalıkları önleyici etkisi, kolay emilimi, hızlı biyoyararlanımı siyah sarımsağı değerli kılmaktadır [4]. Tip 1 ve Tip 2 diyabetik fareler üzerinde yapılan deneyde siyah sarımsak suyunun hiperglisemiyi azalttığı ve  $\beta$  hücre fonksiyonunu geliştirdiği gözlemlenmiştir [13]. Beyaz ve siyah sarımsağın toksisitesinin incelendiği *in vivo* bir çalışmaya göre beyaz ve siyah sarımsağın toksik olmadığı, sadece yüksek dozda beyaz sarımsağın genotoksik etki gösterdiği bulgular arasındadır [14].

Bu derlemenin amacı son yıllarda fonksiyonel özellikleri ve insan sağlığına olumlu etkilere sahip olan siyah sarımsağın besin içeriğinin paylaşılması, üretim yöntemi ve üretim sürecinde siyah sarımsağın yapısında ve fizikokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişikliklerin araştırılmasıdır. Bununla birlikte uzun işlem süresine sahip siyah sarımsak üretim işleminin kısaltılması için kullanılabilir alternatif ön işlem ve teknolojilerin de derlenmesi amaçlanmıştır.

## BESİN İÇERİĞİ

Taze sarımsağın içeriğinde %63-65 su, %26-30 karbonhidrat (fruktan), %1.1-3.5 organosülfür bileşikleri, %1.5-2.0 protein (allinaz), %1.5 lif, %1.2 serbest amino asit (arginin), %0.1-0.2 lipit bulunmaktadır [6,15]. Bu bileşikler serin ortam koşullarında depolama sırasında doğal olarak alliin oluşumuna neden olur. Mikrobiyal bozulma, fermentasyon, kesme, ezme, çiğneme gibi işlemler sonucu sarımsak hasar aldığı anda kofulda bulunan allinaz enzimi tarafından hızla alliin (sistein sülfoksit) allisin (sitotoksik alkil alkan-tiyosulfinata) parçalanır [6, 16, 17].

Beyaz sarımsakta bulunan alliin kararsız sülfoksit bağı nedeniyle olgunlaşma işlemi boyunca daha stabil bir bileşik olan S-allil sisteine, S-allilmerkaptosisteine ya da

diallil sülfid, diallil disülfid, diallil trisülfite, dithiin ve ajoene dönüşür [14,18]. SAC siyah sarımsakta en yüksek oranda bulunan sülfür içeren amino asit bileşiklerindedir.  $\gamma$ -glutamil-S-allil sisteninin (GSAC),  $\gamma$ -glutamil transpeptidaz enzimi ile hidrolizi sonucu SAC oluşur [7]. Yapılan bir çalışmada 90°C sıcaklıkta olgunlaştırılan sarımsakların 80, 70 ve 60°C'ye göre alliin miktarının daha hızlı azaldığı gözlemlenmiştir [19]. SAC'ın serbest radikalleri inhibe edici etki gösterdiği belirtilmektedir. SAC oluşumunu sağlayan  $\gamma$ -glutamil transpeptidaz enzimi aktivitesi sıcaklık ve ürünlerdeki nemden etkilenmektedir [7].

Siyah sarımsak olgunlaştırma işlemi boyunca indirgen şeker içeriği ve toplam polifenol içeriği artmaktadır. Antioksidan maddeler, fenolik bileşikler ile birlikte flavonoidler ve sülfür bileşikleridir [7]. Siyah sarımsaktaki başlıca fenolik asitler, hidroksi sinamik asit türevleri ve gallik asit; başlıca flavonoidler de kateşin, epikateşin, epigallokateşin gallat gibi flavanollerdir. Fenolik bileşikler, olgunlaşma süresince yaklaşık 10 kat artmaktadır [20]. Özaydın ve ark. [21] tarafından yapılan bir çalışmada siyah sarımsağın metanolik ekstraksiyonu içeriğinde fenolik asit sınıfından p-hidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanillin ve p-kumarik asit olup, flavonol grubundan ise kuersetin bulunmuştur.

Polisakkaritlerin parçalanması asidik ve yüksek sıcaklıklarda gerçekleşir. İlerleyen siyah sarımsak üretim sürecinde azalan pH değeri ve ısı işlem nedeni ile sukrozun fruktoz ve glikoza parçalanması beklenmektedir. Beyaz sarımsağın polisakkarit içeriğinin %90'dan fazlası indirgen olmayan sakkarit olan fruktan ve galaktan olduğu rapor edilmiştir [22]. Fruktan sarımsakta ozmotik basınç denetimi, düşük sıcaklığa adaptasyon, fotosentez ve donma stresine karşı korumayı sağlar [23]. Siyah sarımsak prosesi süresince, fruktan ısı işlemi glikosidik bağları koparmasıyla monomerlerine parçalanır, oluşan bu indirgen şekerler Maillard reaksiyonlarında (MR) kullanılırlar [23–25]. Yuan ve ark. [25] yaptıkları çalışmada siyah sarımsak üretimi (55°C, %80 bağıl nem ve 90 gün) gerçekleştirmişlerdir. Üründe ilk 60 gün 5 gün ara ile son 30 gün 10'ar gün ara ile analizler yaptıkları çalışmada fruktan oranı %84.79 azalmış, fruktoz %508.11 artmış ve glikoz oranında önemli bir değişim olmamıştır. Proses süresince fruktoz/glikoz ve aminoasitler arasındaki reaksiyon sonucu oluşan MR ara ürünler ilk 70 güne kadar artmış ve sonra azalmaya başlamıştır. Glikoz fruktoza göre daha yüksek kimyasal reaksiyon aktivitesine sahip olduğu için siyah sarımsak oluşum işlemi boyunca miktarı sabit kalmış ve fruktoz oranı artmıştır.

Beyaz sarımsağın içeriğindeki proteinler başlıca arjinin (636-1036 mg/100 g), glutamik asit (52.92-805 mg/100 g), aspartik asit (15.57-489 mg/100 g) ve lösindir (78.57-308 mg/100 g) [26]. Siyah sarımsak içeriğinde bulunan en yüksek orandaki proteinler fenil alanin (42.03–143,07 mg/100 g), glutamik asit (18.36–128.87 mg/ 100 g) ve tiroindir (77.31–109.13 mg/100 g) [27]. Siyah sarımsak oluşumu sonrasında tirozin (yaklaşık %83 oranında), arjinin (yaklaşık %90 oranında) ve glutamik asit (yaklaşık %80 oranında) azalırken fenilalanin ve

metiyonin (beyaz sarımsağa göre 2,5 kattan yüksek oranda) artmaktadır [28, 29]. Amino asitlerin bir kısmı ilk etapta üründeki protein ve peptitlerin enzimatik hidrolizi ya da piroliz gibi enzimatik olmayan hidrolizi sonucu oluşmuş olup devam eden ısı işlem sürecinde indirgen şekerlerle reaksiyona girerek azalmaya başlamıştır [22].

Maillard reaksiyonları ile pentozun degradasyona uğraması ile furfural oluşur [30]. Siyah sarımsaktaki antioksidan aktiviteye sahip olan bileşiklerden biri önemli bir Maillard reaksiyon ara ürünü olan 5-hidroksimetilfurfuraldır (5-HMF) [19]. 5-HMF yüksek oranda alındığında toksik etkilere sahip olmasına rağmen, günlük alım miktarı 80–100 mg/kg vücut ağırlığında herhangi bir toksik etki gözlemlenmemiştir [31,32]. Literatürde siyah sarımsakta bulunan 5-HMF miktarı en fazla 6000 µg/g civarında olduğu düşünüldüğünde toksik özelliklerinin görülmesi beklenmemektedir [33, 34]. Buna rağmen bir çalışmada, siyah sarımsağın antioksidan aktivitesini sağlayan bileşenlerden biri olan 5-HMF'nin yüksek dozdaki toksik etkilerinden dolayı siyah sarımsak numunelerine %5 epigallokateşin eklenerek 5-HMF miktarı %50 oranında son üründe azaltılmış olup içeriğindeki epigallokateşin sayesinde siyah sarımsağın antioksidan aktivitesi artış göstermiştir [35].

Martínez-Casas ve ark. [30], yürüttüğü bir çalışma sonucuna göre siyah sarımsaktaki toplam polifenol miktarı (820.4±215.90 mg GAE/100 g kuru maddede; GAE: gallik asit eşdeğeri) mor kabuklu taze sarımsağın (77.86±37.33 mg GAE/100 g kuru maddede) 10 katı olarak ölçümlenmiştir. Bununla doğru orantılı olarak siyah sarımsağın antioksidan aktivitesi kuru maddede 449.77±115.39 µM Trolox@/100 g değerinden 2089.6±236.48 µM Trolox@/100 g değerine yükselmiştir.

## SIYAH SARIMSAK ÜRETİMİ

Siyah sarımsak üretiminde son ürün kalite özelliklerini etkileyen üretim parametreleri sıcaklık, ortam bağıl nemi ve süredir. Sıcaklık arttıkça siyah sarımsağın oluşum süresi kısalmaktadır. Ancak yüksek sıcaklıklarda üründe yanık tadı, ekşi tat gibi istenmeyen duyuşsal özellikler gelişmektedir [19, 34]. Ayrıca siyah sarımsak üretiminin yüksek maliyetli olması katma değeri yüksek, tüketici beklentisini karşılayacak bir ürün eldesi için en uygun üretim koşullarının belirlenmesinin önemini göstermektedir.

Birçok kaynakta siyah sarımsak oluşumu fermantasyon işlemi olarak tanımlanmıştır. Ancak siyah sarımsak oluşumunda meydana gelen çoğunlukla Maillard reaksiyonları olan enzimatik olmayan kararma reaksiyonlarıdır [7, 36]. Bahsedilen mayalanma işlemi mikroorganizmalar vasıtasıyla ya da spontan olarak gerçekleşen anaerobik koşullarda gerçekleşen fermantasyondan farklıdır [14, 23].

Ancak siyah sarımsak ön işleminde fermantasyon uygulanarak yapılan çalışmalar mevcuttur. Jung ve ark.

[9] siyah sarımsağın biyoaktivitesinin maya fermantasyonu (*Saccharomyces cerevisiae*) ile daha da arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmaya göre maya fermantasyonu ile elde edilen siyah sarımsak ekstraktının olgunlaştırılmış siyah sarımsağa göre obezite, hiperlipidemi, böbrek ve karaciğer hastalıklarına karşı daha etkili olduğu belirlenmiştir.

## SIYAH SARIMSAK ÜRETİMİ SIRASINDA OLUŞAN DEĞİŞİKLİKLER

### Fizikokimyasal Değişimler

Siyah sarımsak prosesinde fiziksel ve kimyasal özellikleri etkileyen unsurlar genel olarak karbonhidratlar, uçucu sülfür bileşikleri, serbest amino asitler, polifenoller ve diğer antioksidan bileşikler arasında gerçekleşen değişim ya da interaksiyonları kapsar [23]. Bu değişimin büyüklüğü çoğunlukla üretim parametreleri ile yakından ilişkilidir [7]. Son üründe renk beyazdan siyaha dönerken, suda çözünebilir kuru madde miktarı (Brix), esmerleşme düzeyi, asitlik, tatlılık artmakta pH değeri ve su aktivitesi azalmaktadır [37]. Uygulanan farklı proses parametrelerinde siyah sarımsakta oluşan fizikokimyasal değişimler Tablo 1'de özetlenmiştir.

Olgunlaştırma işlemi boyunca sert ve sulu yapıdaki sarımsak elastik, jelatinimsi ve yumuşak bir tekstür kazanır. Nem oranı %40-50 arasına geldiğinde siyah sarımsağın tüketilmesi daha uygundur. Nem değeri %35'in altına düştüğünde kuruluğundan dolayı daha sert ve zayıf bir elastisiteye sahip olduğu için çiğnenmesi daha zordur [19]. Tat profilinde gerçekleşen değişimler incelendiğinde beyaz sarımsakta yoğun olarak sülfür uçucu bileşenleri (diallil trisülfid %21.3, diallil disülfid %21.0) ve acılık veren bütenal türevleri bulunurken siyah sarımsakta tatlılık ve Maillard reaksiyon ürünlerinden kaynaklanan kavrulmuş tatları, özellikle furfural (%17.3) daha yüksek oranda bulunmuştur [39]. Kavrulmuş tatlar haricinde, siyah sarımsak ekşi, sülfür, meyvemsi, şekerli (fruktoz, glikoz) tatları da içermektedir [40]. Maillard reaksiyonları sonucu oluşan ara ürünler sebebi ile beyazdan kahverengiye ve siyaha doğru renk değişimi gerçekleşmektedir. Siyah sarımsakta renk değişimi L değeri 0 (siyah) ve 100 (beyaz) arasındaki renk değeri ile veya esmerleşme düzeyi (spektrofotometre, 420 nm) ile gösterilmektedir. Siyah sarımsağın oluşma prosesinde gerçekleştiği gibi L renk değerinin azalması rengin beyazdan siyaha değiştiği anlamına gelmektedir. Rengin koyulaşmasının ana sebebi olgunlaştırma işlemi ile üründe oluşan melanoidin pigmentidir. Olgunlaşma işlemi süresince siyah sarımsağın renginde meydana gelen değişim Şekil.1'de gösterilmiştir. Renkteki değişime ek olarak Maillard reaksiyonlarının sonuna doğru üründe melanoidinin oluşmaya başlaması ile siyah sarımsakta acımsı, yanığımsı, istenmeyen bir tat oluşmaya başlar [25].

Tablo 1. Siyah sarımsakta beyaz sarımsağa göre gerçekleşen fizikokimyasal değişimler\*  
*Table 1. Physicochemical changes in black garlic compared to white garlic\**

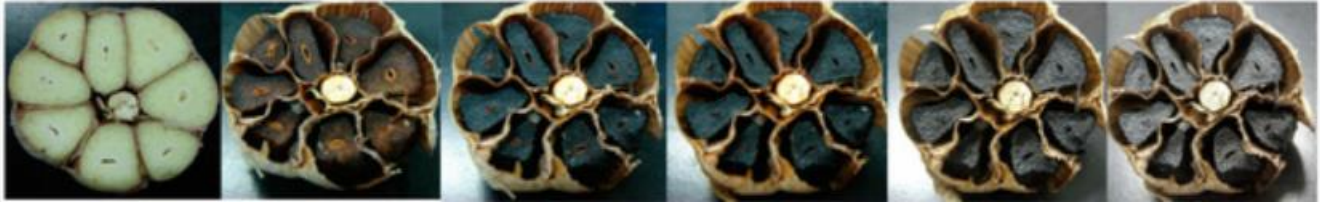
Proses parametresi	Brix	Nem	pH	ΔE	L	Referans
40°C, 70% RH (RH: bağıl nem), 45 gün		19% ↓		%886 ↑		[7]
85°C, 70% RH, 45 gün		31% ↓		%2 828 ↑		
90°C, 100% RH, 34 saat		%6 ↓	%16 ↓	%207 ↑		
60°C, 60% RH, 6 saat		%11 ↓	%22 ↓	%336 ↑		
75°C, 70% RH, 48 saat		%14 ↓	%30 ↓	%464 ↑		[16]
70°C, 60% RH, 60 saat		%37 ↓	%36 ↓	%914 ↑		
65°C, 50% RH, 192 saat		%31 ↓	%32 ↓	%1279 ↑		
55°C, 80% RH, 90 gün			%35 ↓			[25]
72°C, 90% RH, 33 gün	%22 ↑		%41 ↓		%65 ↓	
75°C, 90% RH, 21 gün	%12 ↑		%40 ↓		%65 ↓	[37]
78°C, 90% RH, 14 gün	%9 ↑		%36 ↓		%63 ↓	
72°C, 90% RH, 35 gün	%13-30 ↑		%40-47 ↓			[8]
60°C, 70-90% RH, 45 gün	%147 ↑		%23 ↓		%58 ↓	[38]

\*: ΔE: Esmerleşme Düzeyi, L: Renk (Hunterlab). Tablodaki oklar siyah sarımsaktaki parametrelerin beyaz sarımsağa nazaran azalışını veya artışını belirtmektedir.

\*: ΔE: Browning Level, L: Color (Hunterlab). The arrows in the table indicate the decrease or increase of the parameters in black garlic compared to white garlic.

Siyah sarımsak oluşumu sırasında son üründe fruktan ve galaktan gibi polisakaritlerin suda çözünebilen formdaki monomerlerine parçalanması sonucu brix değerinde artış gözlenmektedir. Beyaz sarımsakta 33.83-43.5 (°Brix) olan suda çözünebilen kuru madde

miktarı, uygulanan ortam sıcaklığı, bağıl nem ve süreye bağlı olarak, siyah sarımsakta 38.28-55.75 (°Brix) seviyelerine yükselmektedir [8, 37].



Şekil 1 Olgunlaşma işlemi boyunca siyah sarımsak renginde oluşan değişimler [28]

Figure 1. Changes in the color of black garlic during ripening process [28]

Olgunlaştırma süresince pH değerinde azalma görülmektedir. Bunun nedeni Maillard reaksiyonları sonucunda aldeheksodaki aldehit grubunun Yapılan bir çalışmada siyah sarımsakta askorbik asit miktarının mor kabuklu taze sarımsak türünden 4.65 kat daha düşük olduğu bulgulanmıştır. Bunun başlıca sebebinin siyah sarımsak üretiminde uygulanan sıcaklık ve depolama süresinin askorbik asidin stabilitesine etki etmesi olduğu belirtilmiştir [30].

### Antioksidan Özelliklerinde Oluşan Değişimler

Siyah sarımsağın, beyaz sarımsaktan daha yüksek polifenol içeriğine sahip olduğu ve antioksidan kapasite gösterdiği bilinmektedir [14]. Siyah sarımsak lipit peroksidasyonunu ve serbest radikal üretimini engelleme, süperoksit dismutaz benzeri aktivite gösterme ve serbest oksijen türleri süpürücü özelliklerine sahiptir [7, 41-43]. Literatürde farklı siyah sarımsak üretim işlem parametrelerinin son ürünün

oksidasyonu ile oluşan karboksilik asitlerdir [7]. Karboksilik asit içerisinde belirlenen en yüksek artış asetik asit miktarında gözlemlenmiştir [21]. antioksidan özelliklerinde oluşan değişimler Tablo 2'de özetlenmiştir.

Siyah sarımsağın yüksek antioksidan özelliğinden sorumlu olan bileşikler başlıca SAC, THβC (tetrahidro-β-karbolin) ve 5-HMF'dir [19,21]. Kloroform ve metanol çözeltileri (4:1 ve 2:1) ile ekstraksiyonu gerçekleştirilen siyah sarımsak ekstraktlarında HPLC analizinde 5-HMF ve 1-metil-1,2,3,4-tetrahidro-β-karbolin-3-karboksilik asit dışında adenosin, üridin ve 2-asetilpirol bileşikleri bulunmuştur [33].

Bir çalışmada siyah sarımsaktaki L-triptofan miktarının aldehit ya da pirüvik asit ile kimyasal reaksiyonu sonucu azalarak THβC içeriğinin yükseldiği bulgular arasındadır. THβC'nin askorbik asitten daha yüksek hidrojen peroksit giderme aktivitesi gösterdiği in-vitro çalışmalarda ölçümlenmiştir [44].



Tablo 2. Siyah sarımsakta beyaz sarımsağa göre biyoaktif bileşen ve antioksidan özelliklerinde gerçekleşen değişimler\*

*Table 2. Changes in bioactive components and antioxidant properties of black garlic compared to white garlic\**

Proses parametreleri	Toplam polifenol	Antioksidan kapasitesi	Toplam flavonoid	SAC içeriği	Referans
40°C, 70% RH, 45 gün	-	3.6 x <sup>↑2</sup>	-	6.4 x <sup>↑</sup>	[7]
55°C, 70% RH, 45 gün	-	4.9 x <sup>↑2</sup>	-	5.8 x <sup>↑</sup>	
70°C, 70% RH, 45 gün	-	5.5 x <sup>↑2</sup>	-	5.8 x <sup>↑</sup>	
85°C, 70% RH, 45 gün	-	7.2 x <sup>↑2</sup>	-	4.4 x <sup>↑</sup>	[37]
72°C, 90% RH, 33 gün	2.9 x <sup>↑</sup>	6.8 x <sup>↑1</sup> ; 4.8 x <sup>↑3</sup>	-	-	
75°C, 90% RH, 21 gün	3.2 x <sup>↑</sup>	6.1 x <sup>↑1</sup> ; 3.9 x <sup>↑3</sup>	-	-	
78°C, 90% RH, 14 gün	3.0 x <sup>↑</sup>	6.3 x <sup>↑1</sup> ; 3.5 x <sup>↑3</sup>	-	-	[28]
70°C, 90% RH, 35 gün	3.5 x <sup>↑</sup>	2.7 x <sup>↑1</sup> ; 16.0-13.6 x <sup>↑2</sup>	4.9 x <sup>↑</sup>	-	
90°C, 100% RH, 34 saat	3.9 x <sup>↑</sup>	-	1.1 x <sup>↑</sup>	-	[20]
60°C, 60% RH, 6 saat	4.8 x <sup>↑</sup>	-	1.1 x <sup>↑</sup>	-	
75°C, 70% RH, 48 saat	6.6 x <sup>↑</sup>	-	1.2 x <sup>↑</sup>	-	
70°C, 60% RH, 60 saat	8.7 x <sup>↑</sup>	-	1.4 x <sup>↑</sup>	-	
65°C, 50% RH, 192 saat	9.3 x <sup>↑</sup>	-	1.5 x <sup>↑</sup>	-	
60°C, 70-90% RH, 45 gün	1.1 x <sup>↑</sup>	3.5 x <sup>↑4</sup>	-	-	[38]

\*: Antioksidan kapasitesi 1) ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit)), 2) DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil), 3) TEAC (Trolox® eşiti antioksidan kapasite), 4) FRAP (demir iyonu indirgeyici antioksidan güç) yöntemi ile belirlenmiştir. Tablodaki oklar siyah sarımsaktaki parametrelerin beyaz sarımsağa nazaran kaç kat artış olduğunu belirtmektedir.

\*: *Antioxidant capacity was determined by 1) ABTS (2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazollin-6-sulfonic acid)), 2) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil), 3) TEAC (Trolox® equivalent antioxidant capacity), 4) the FRAP (ferric ion reducing antioxidant power) methods. The arrows in the table indicate how many times increase the parameters in black garlic compared to white garlic.*

Siyah sarımsağın antioksidan kapasitesi hammadde kalitesine, orijinine, beyaz sarımsağın hasat sonrası depolama koşulları gibi etmenlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Medina ve ark. [8] bir önceki yıl hasat edilen ve -2°C dondurucuda depolanan üç farklı sarımsak çeşidi (Çin, İspanya, Kaliforniya) ile aynı yıl içinde hasat edilen çeşitlerden elde edilen siyah sarımsakların ürün kalitesine etkilerini belirlemişlerdir. Buna göre bir yıl önce hasat edilen antioksidan kapasitesi ve polifenol miktarında genel olarak azalma görülmüştür. Ancak içlerinde Çin sarımsağının depolanmadan önemli derecede etkilenmemesi, çeşide bağlı olarak depolamadaki değişimlerin farklı olabileceğini ortaya koymaktadır.

## ÜRETİM SÜRESİNİ AZALTMAK İÇİN YAPILAN UYGULAMALAR

Siyah sarımsak üretim sürecinin en az 20 günden fazla sürmesi yüksek enerji tüketimine ve süre kaybına neden olmaktadır. Bu durum ürünün biyoaktif maddeleri kayba uğratmadan, istenen kalite özelliklerinde ürün üretmek için araştırmacıları yenilikçi teknolojiler, farklı ön işleme teknikleri kullanmanın yollarını aramaya yönlendirmiştir. Yapılan ön işlemler sarımsağın hücre duvarının parçalanması ile açığa çıkan bileşiklerin reaksiyon hızını arttırmak ve bu şekilde üretim süresini azaltmak hedeflenmiştir. Yüksek hidrostatik basınç, vurgulu elektrik alan, mikrodalga gibi inovatif uygulamalar kullanılarak siyah sarımsak üretiminde verimlilik sağlanması konusunda çalışmalar mevcuttur [45].

Siyah sarımsağın depolama süresini uzatmak amacıyla ön işlemler geleneksel kurutma ve ohmik ısıtma yöntemi kullanılmış ve ardından 70°C, %94 bağıl neme sahip ortamda 12 gün süre ile olgunlaştırma işlemine tabi tutulmuştur. İşlem sürecinde ölçülen ve Maillard reaksiyonu göstergesi olan furoil-metil amino asit

miktarının daha düşük olarak ölçüldüğü (42 mg/100 g protein) ohmik ısıtma işleminin uygunluğunu göstermektedir [46].

Pektinaz, selüloz gibi hücre duvarını hidrolize eden enzimlerin kullanımı hücre duvarı geçirgenliğini artırarak biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu bilgiden faydalanarak Kim ve ark. [13] sarımsak suyunun enzim karışımı ile karıştırılıp yüksek hidrostatik basınç altında (100 MPa, 55°C, 24 h) işleme tabi tutulmasının ardından siyah sarımsak üretimini (55°C, %70 bağıl nem ve 15 gün) gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sonucunda ön işleme tabi tutulmamış siyah sarımsağa göre oluşan S-allil sistein miktarı 3 kat, beyaz sarımsağa göre 10 kat artış göstermiştir. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması uygun değerlerde enzim ile substratın temasını hızlandırarak enzim aktivitesini arttırmasına yardımcı olmaktadır. Chen ve ark. [47], sarımsağa uygulanan yüksek basınç (300 MPa, 15 dk.) ön uygulamasının  $\gamma$ -glutamilttransferaz ( $\gamma$ -GTP) aktivitesini arttırarak son ürünlerdeki SAC oranının 8 kat arttırdığını tespit etmişlerdir.

Yüksek hidrostatik basınç (500 MPa, 10 dk.) ve yüksek basınçlı karbondioksit (7MPa, 3dk., 45°C) ön uygulaması ile siyah sarımsak oluşum süresi 60-90 günden 15 güne kısalmış ve duyu ve fizikokimyasal kalite özellikleri bakımından tüketiciler tarafından tercih edilebilirliği yüksek bir ürün üretimi sağlanmıştır. Antioksidan etkinliğini sağlayan SAC, 5-HMF, fenolik içeriği ticari ürüne göre yüksek basınç ön işleminde sırasıyla yaklaşık %25, 70, 23 oranında; yüksek basınçlı karbondioksit ön işleminde ise %19, 66, 2 oranında daha düşük bulunmuştur [45]. Ancak olgunlaştırma süresinin en az 4 kat azaltılması optimum proses koşullarının belirlenmesi için daha fazla çalışmanın yapılmasını teşvik etmelidir. Bir başka çalışmada da

siyah sarımsak melanoidin üretiminde kullanılan yüksek hidrostatik basınç uygulamasının siyah sarımsak melanoidinin termal stabilitesini arttırdığı saptanmıştır [48].

Siyah sarımsak üretimi öncesi ön işlem olarak hammadde dondurucuda belli bir süre bekletilip olgunlaştırma süresi kısaltılabilmektedir. Bu amaçla Kandemirli ve ark. [49] ön işlem olarak beyaz sarımsakları -16°C dondurucuda 30 h bekletmiş ve donma sonrası elde edilen siyah sarımsakların antioksidan aktivitesi, toplam fenolik, toplam flavanoid ve HMF oranlarının daha yüksek olduğunu ve olgunlaşma süresinin 35 günden 25-30 güne azaldığını belirlenmiştir. Siyah sarımsak elde etmede dondurarak bekletme ön işleminin etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise 22 gün işlem süresi sonunda ön işlem uygulanmayan kontrol numunesine göre indirgen şeker oranı %51.88, toplam fenol miktarı %58.54, 5-HMF miktarı %25 oranında artış göstermiştir [50].

## SONUÇ

Siyah sarımsak üretimi esnasında renk koyulaşmakta, su aktivitesi ve pH değeri azalmakta, kuru madde, indirgen şeker içeriği ise artış göstermektedir. Antioksidan etkiye sahip olan fenolikler, başlıca S-allil sistein gibi sülfür bileşikler, Maillard reaksiyon ürünleri beyaz sarımsağa kıyasla artmaktadır. Temel olarak üründe renk değişimine sebep olan kimyasal değişimler Maillard reaksiyonları ve enzimatik reaksiyonlar sonucu gerçekleşmektedir. Uzun bir olgunlaşma periyoduna sahip siyah sarımsak üretiminin verimliliğini artırmak için kullanılan dondurarak saklama, yüksek hidrostatik basınç uygulaması, enzim ile muamele gibi inovatif uygulamaların avantajları bu alanlardaki çalışmalara yoğunlaşılmasının ve geliştirilmesi gerekliliğinin önemini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Akan, S. (2014). Sarımsak (*Allium sativum* L.) tüketiminin insan sağlığına yararları. *Akademik Gıda*, 12(2), 95-100.
- [2] Oosthuizen, C.B., Reid, A.M., Lall, N. (2018). Garlic (*Allium sativum*) and its associated molecules, as medicine. In *Medicinal Plants for Holistic Health and Well-Being*. Edited by N.Lall, Academic Press, 277-285p.
- [3] TÜİK, (2022). Bitkisel Üretim İstatistikleri, 2021, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2021-37249> Adresinden Elde Edildi.
- [4] Colín-González, A.L., Santana, R.A., Silva-Islas, C.A., Chánez-Cárdenas, M.E., Santamaría, A., Maldonado, P.D. (2012). The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract- and S-allylcysteine-induced protection. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1, 1-16.
- [5] Czompa, A., Szoke, K., Prokisch, J., Gyongyosi, A., Bak, I., Balla, G., Tosaki, A., Lekli, I. (2018). Aged (black) versus raw garlic against ischemia/reperfusion-induced cardiac complications. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 1-14.
- [6] Kimura, S., Tung, Y.C., Pan, M.H., Su, N.W., Lai, Y.J., Cheng, K.C. (2017). Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 62-70.
- [7] Bae, S.E., Cho, S.Y., Won, Y.D., Lee, S.H., Park, H.J. (2014). Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 397-402.
- [8] Medina, M.Á.T., Pérez-Aparicio, J., Moreno-Ortega, A., Moreno-Rojas, R. (2019). Influence of variety and storage time of fresh garlic on the physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Foods*, 8(8), 314-324.
- [9] Jung, Y.M., Lee, S.H., Lee, D.S., You, M.J., Chung, I.K., Cheon, W.H., Kwon, Y.S., Lee, Y.J., Ku, S.K. (2011). Fermented garlic protects diabetic, obese mice when fed a high-fat diet by antioxidant effects. *Nutrition Research*, 31(5), 387-396.
- [10] Wang, D., Feng, Y., Liu, J., Yan, J., Wang, M., Changlong, J.S. (2010). Black garlic (*Allium sativum*) extracts enhance the immune system. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 4(1), 37-40.
- [11] Kim, D.G., Kang, M.J., Hong, S.S., Choi, Y.H., Shin, J.H. (2017). Antiinflammatory effects of functionally active compounds isolated from aged black garlic. *Phytotherapy Research*, 31(1), 53-61.
- [12] Liu, J., Zhang, G., Cong, X., Wen, C. (2018). Black garlic improves heart function in patients with coronary heart disease by improving circulating antioxidant levels. *Frontiers in Physiology*, 9, 1-11.
- [13] Kim, J.H., Yu, S.H., Cho, Y.J., Pan, J.H., Cho, H.T., Kim, J.H., Bong, H., Lee, Y., Chang, M.H., Jeong, Y.J., Choi, G., Kim, Y.J. (2017). Preparation of S-Allylcysteine-enriched black garlic juice and its antidiabetic effects in streptozotocin-induced insulin-deficient mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(2), 358-363.
- [14] Medina, M.Á.T., Merinas-Amo, T., Fernández-Bedmar, Z., Font, R., Río-Celestino, M., Pérez-Aparicio, J., Moreno-Ortega, A., Alonso-Moraga, Á., Moreno-Rojas, R. (2019). Physicochemical characterization and biological *in vitro* assays. *Foods*, 8(220), 1-18.
- [15] Canbolat, E. (2017). Sarımsağın besinsel yönden ve sağlık açısından değerlendirilmesi. *Uluslararası Taşköprü Pompeiopolis Bilim Kültür Sanat Araştırmaları Sempozyumu*, Nisan 10-12, 2017, Kastamonu, Türkiye, 935-949p.
- [16] Kang, O.J. (2016). Physicochemical characteristics of black garlic after different thermal processing steps. *Preventive Nutrition and Food Science*, 21(4), 348-354.
- [17] Rana, S.V., Pal, R., Vaiphei, K., Sharma, S.K., Ola, R.P. (2011). Garlic in health and disease. *Nutrition Research Reviews*, 24(1), 60-71.
- [18] Amagase, H., Petesch, B.L., Matsuura, H., Kasuga, S., Itakura, Y. (2001). Intake of garlic and its bioactive components. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 955-962.
- [19] Zhang, X., Li, N., Lu, X., Liu, P., Qiao, X. (2016). Effects of temperature on the quality of black garlic.

- Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(7), 2366-2372.
- [20] Kim, J.S., Kang, O.J., Gweon, O.C. (2013). Comparison of phenolic acids and flavonoids in black garlic at different thermal processing steps. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 80–86.
- [21] Özeydin, A. G., Arin, E., Önem, E. (2020). Türk mutfağında yeni bir fonksiyonel gıda olarak siyah sarımsak (*Allium sativum* L.): fenolik madde içeriği ve bakteriyel iletişim (Quorum Sensing) üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, 18(1), 27-35.
- [22] Liang, T., Wei, F., Lu, Y., Kodani, Y., Nakada, M., Miyakawa, T., Tanokura, M. (2015). Comprehensive NMR analysis of compositional changes of black garlic during thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(2), 683-691.
- [23] Ríos-Ríos, K.L., Montilla, A., Olano, A., Villamiel, M. (2019). Physicochemical changes and sensorial properties during black garlic elaboration: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 459-467.
- [24] Lu, X., Li, N., Qiao, X., Qiu, Z., Liu, P. (2018). Effects of thermal treatment on polysaccharide degradation during black garlic processing. *LWT-Food Science and Technology*, 95(61), 223-229.
- [25] Yuan, H., Sun, L., Chen, M., Wang, J. (2018). An analysis of the changes on intermediate products during the thermal processing of black garlic. *Food Chemistry*, 239, 56-61.
- [26] USDA. (2019). *Garlic, raw*. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169230/nutrients> Adresinden Elde Edildi.
- [27] Chang, T. C., Jang, H. D., Lin, W. D. (2021). Biochemical properties of black garlic aged under different temperatures of commercial rice wine extracts in Taiwan. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 509-518.
- [28] Choi, I.S., Cha, H.S., Lee, Y.S. (2014). Physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Molecules*, 19(10), 16811-16823.
- [29] Qiu, Z., Zheng, Z., Zhang, B., Sun-Waterhouse, D., Qiao, X. (2020). Formation, nutritional value, and enhancement of characteristic. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1-34.
- [30] Martínez-Casas, L., Lage-Yusty, M., López-Hernández, J. (2017). Changes in the aromatic profile, sugars, and bioactive compounds when purple garlic is transformed into black garlic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(49), 10804-10811.
- [31] Abraham, K., Gürtler, R., Berg, K., Heinemeyer, G., Lampen, A., Appel, K.E. (2011). Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food. *Molecular Nutrition and Food Research*, 55(5), 667-678.
- [32] Choudhary, A., Kumar, V., Kumar, S., Majid, I., Aggarwal, P., Suri, S. (2021). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) formation, occurrence and potential health concerns: recent developments. *Toxin Reviews*, 40(4), 545-561.
- [33] Lu, X., Li, N., Qiao, X., Qiu, Z., Liu, P. (2017). Composition analysis and antioxidant properties of black garlic extract. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(2), 340-349.
- [34] Sun, Y.E., Wang, W. (2018). Changes in nutritional and bio-functional compounds and antioxidant capacity during black garlic processing. *Journal of Food Science and Technology*, 55(2), 479-488.
- [35] Lee, C.H., Chen, Y.T., Hsieh, H.J., Chen, K.T., Chen, Y.A., Wu, J.T., Tsai, M.S., Lin, J.A., Hsieh, C.W. (2020). Exploring epigallocatechin gallate impregnation to inhibit 5-hydroxymethylfurfural formation and the effect on antioxidant ability of black garlic. *LWT- Food Science and Technology*, 117, 108628.
- [36] Lei, M., Zhang, Z., Liu, R., Zhang, M., Xu, M. (2015). The physicochemical changes of black garlic during thermal processing. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 7(9), 712-715.
- [37] Toledano-Medina, M.A., Pérez-Aparicio, J., Moreno-Rojas, R., Merinas-Amo, T. (2016). Evolution of some physicochemical and antioxidant properties of black garlic whole bulbs and peeled cloves. *Food Chemistry*, 199, 135-139.
- [38] Koca, I., Tekguler, B., Koca, A.F. (2016). Some physical and chemical characteristics of Taşköprü and Chinese black garlicks. *Acta Horticulturae*, 1143, 221–226.
- [39] Molina-Calle, M., Priego-Capote, F., Luque de Castro, M.D. (2017). Headspace–GC–MS volatile profile of black garlic vs fresh garlic: evolution along fermentation and behavior under heating. *LWT-Food Science and Technology*, 80, 98-105.
- [40] Yang, P., Song, H., Wang, L., Jing, H. (2019). Characterization of key aroma-active compounds in black garlic by sensory-directed flavor analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(28), 7926-7934.
- [41] Jeong, Y.Y., Ryu, J.H., Shin, J.H., Kang, M.J., Kang, J.R., Han, J., Kang, D. (2016). Comparison of anti-oxidant and anti-inflammatory effects between fresh and aged black garlic extracts. *Molecules*, 21(4), 1-15.
- [42] Kim, J.H., Nam, S.H., Rico, C.W., Kang, M.Y. (2012). A comparative study on the antioxidative and anti-allergic activities of fresh and aged black garlic extracts. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(6), 1176-1182.
- [43] Sato, E., Kohno, M., Niwano, Y. (2006). Increased level of tetrahydro-β-carboline derivatives in short-term fermented garlic. *Plant Foods for Human Nutrition*, 61(4), 175-178.
- [44] Ichikawa, M., Yoshida, J., Ide, N., Sasaoka, T., Yamaguchi, H., Ono, K. (2006). Tetrahydro-β-carboline derivatives in aged garlic extract show antioxidant properties. *Journal of Nutrition*, 136(3), 726-731.
- [45] Li, F., Cao, J., Liu, Q., Hu, X., Liao, X., Zhang, Y. (2020). Acceleration of the Maillard reaction and achievement of product quality by high pressure pretreatment during black garlic processing. *Food Chemistry*, 318, 126517.
- [46] Ríos-Ríos, K.L., Vázquez-Barrios, M.E., Gaytán-Martínez, M., Olano, A., Montilla, A., Villamiel, M. (2018). 2-Furoylmethyl amino acids as indicators of Maillard reaction during the elaboration of black garlic. *Food Chemistry*, 240, 1106-1112.

- [47] Chen, Y.T., Chen, Y.A., Lee, C.H., Wu, J.T., Cheng, K.C., Hsieh, C.W. (2020). A strategy for promoting  $\gamma$ -glutamyltransferase activity and enzymatic synthesis of S-allyl-(L)-cysteine in aged garlic via high hydrostatic pressure pretreatments. *Food Chemistry*, 316, 126347.
- [48] Zhao, Y., Ding, Y., Wang, D., Deng, Y., Zhao, Y. (2021). Effect of high hydrostatic pressure conditions on the composition, morphology, rheology, thermal behavior, color, and stability of black garlic melanoidins. *Food Chemistry*, 337, 127790.
- [49] Kandemirli, F., İçli, N., Bakır, T.K., Nazlı, B., Aydın, S. (2020). The investigation of the effect of freezing pretreatment on properties of black garlic produced from Kastamonu garlic. *Food and Health*, 6(1), 1-8.
- [50] Li, N., Lu, X., Pei, H., Qiao, X. (2015). Effect of freezing pretreatment on the processing time and quality of black garlic. *Journal of Food Process Engineering*, 38(4), 329-335.
-

## Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritler ve Terapötik Etkileri

Duygu Zehir Şentürk<sup>1</sup> , Tülin Uçar<sup>1</sup> , Ömer Şimşek<sup>2</sup>  ✉

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

<sup>2</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul

Geliş Tarihi (Received): 08.04.2022, Kabul Tarihi (Accepted): 12.11.2022

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [omers@yildiz.edu.tr](mailto:omers@yildiz.edu.tr) (Ö. Şimşek)

☎ 0 212 383 4545 📠 0 212 383 4571

### ÖZ

Ekzopolisakkaritler, tekrarlanan şeker birimlerinin glikozidik bağ ile bir araya gelmesi ile oluşmuş polimerler olup çok çeşitli mikroorganizma, bitki ve hayvan tarafından üretilmektedir. En önemli üreticilerinden biri laktik asit bakterileridir (LAB). Bu polimerler sentezlendikleri hücreye kovalent bağlarla bağlı bulunabileceği gibi, ortama salgılanarak hücreye elektrostatik kuvvetle zayıf bir biçimde de bağlı olabilir. Buldukları hücreyi düşük su aktivitesi, ozmotik stres, bakteriyofajlar, toksik bileşikler vb. durumlara karşı korumaktadırlar. Sentez mekanizması da dahil olmak üzere ekzopolisakkaritler arasında içerdikleri şeker biriminin çeşit ve sayısı, molekül ağırlığı, yan zincirlerin varlığı, yükü gibi özelliklerle çok çeşitli farklılıklar gözlemlenir ve bu durum çeşitli fonksiyonel özellikte benzersiz yapıda ekzopolisakkaritlerin oluşumunu sağlar. LAB tarafından üretilen ekzopolisakkaritler toksik olmayışı ve biyo-bozunur özelliği başta olmak üzere tekstürel yapı ve organoleptik kaliteyi olumlu yönde etkilediğinden gıda sistemlerinde çok yaygın bir kullanım alanı bulmuştur. Günümüzde ekzopolisakkaritlerin teknolojik özelliklerinin yanı sıra çeşitli çalışmalar ışığında antioksidan, anti-tümör, prebiyotik, yara iyileştirici, anti diyabetik ve kolesterol seviyesini düzenleyici gibi birçok biyolojik fonksiyonu ortaya çıkarılmıştır. Bu derlemede literatürde yer alan çalışmalar eşliğinde ekzopolisakkaritlerin yapısı ve sağlık üzerine bazı etkileri incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Laktik asit bakterisi, Ekzopolisakkarit, Sağlık

### Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria and Their Therapeutic Effects

#### ABSTRACT

Exopolysaccharides are polymers formed by the combination of repeated sugar units with glycosidic bonds and can be produced by a wide variety of microorganisms, plants and animals. One of the most important producers is lactic acid bacteria (LAB). These polymers can be covalently bound to the cell in which they are synthesized, or they can be secreted into the environment and be weakly bound to the cell by electrostatic force. They may protect the cell that they are in against factors such as low water activity, osmotic stress, bacteriophages and toxic compounds. Including their synthesis mechanism, a wide variety of differences in the properties of exopolysaccharides such as the type and number of sugar units they contain, molecular weight, the presence of side chains and charge have been reported, and these differences lead to the formation of exopolysaccharides with various functional properties and unique structures. Exopolysaccharides produced by LAB have found a very common uses in food systems because they

influence the textural structure and organoleptic quality, especially with their non-toxicity and biodegradable feature. In addition to the technological properties of exopolysaccharides, many biological functions such as antioxidant, anti-tumor, prebiotic, wound-healing, antidiabetic and cholesterol level regulation have been revealed in the light of various studies. In this review, the structure of exopolysaccharides and some of their beneficial effects on human health are presented by means of the relevant studies in the literature.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, Exopolysaccharide, Health

## GİRİŞ

Geleneksel alışkanlıklara bağlı olarak üretilen fermente gıdaların gerek olgunlaştırma aşamasında gerek tat, aroma ve kendine özgün tekstürünün oluşturulmasında starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterileri (LAB), gıdadaki karbohidratları fermente ederek son ürün olarak temelde laktik asit üretirler [1]. Bunun yanında LAB besin bakımından zengin ortamlarda bulunduğu çeşitli organik asitler, hidrojen peroksit, bakteriyosin veya ekzopolisakkarit (EPS) gibi çok çeşitli metabolitleri de üreterek fonksiyonel özellik gösterebilirler. LAB'ler ürettikleri metabolitler ile gıdanın yapısal ve tekstürel özelliklerini iyileştirmelerinin yanı sıra tüketici sağlığı üzerinde olumlu etkilerinden dolayı da dikkat çekmiş ve bakteri grupları arasında GRAS (genel olarak güvenli kabul edilen) statüsüne sahip olduklarından endüstride kullanımları yaygın hale gelmiştir [1, 2]. Son yıllarda LAB tarafından sentezlenen EPS'nin hem sağlığı olumlu yönde etkilemesi hem de gıdaların yapısal ve tekstürel özelliklerini iyileştiren doğal biyopolimerler olması oldukça dikkat çekmiştir. Aynı zamanda söz konusu özelliklerinden dolayı çok yönlü fonksiyonel bir mikrobiyal metabolit olan EPS, gıda, ilaç, kozmetik, tekstil gibi birçok alanda kullanılmaya başlanmıştır [3, 4]. Bu durum mikrobiyal kaynaklı EPS'lere olan ilginin artmasını sağlamıştır.

Mikrobiyal polisakkaritler bitki ve hayvan kaynaklı polisakkaritlere kıyasla tekrarlanabilir üretim parametreleri, daha kısa sürede elde edilmeleri, kalitesi ve nihai ürünün yüksek verimi gibi birçok avantaja sahiptir. EPS'ler mikrobiyal polisakkaritlerin bir çeşididir. Mantarlar ve bakteriler tarafından hücre içi ya da hücre dışı sentezlenebilirler. LAB'lerin çeşit ve miktar bakımından en iyi EPS üreticileri olduğu bilinmektedir [5, 6, 7].

LAB tarafından üretilen EPS'lerin bazıları, canlılarda immüno-modülatör, anti-tümör, anti-biyofilm ve antioksidan aktiviteleri gibi sağlık üzerine faydaları bulunmaktadır. Bununla birlikte, sağlık üzerine etkileri genel olarak konakçı-bakteri ilişkisine dayanır ve karakteristiğine bağlı olarak bağışıklık sistemi üzerine etkisi olabilmektedir. EPS'lerin birçoğu uzun karbohidrat zincirlerinden oluştuğundan kısa zincirlere kıyasla daha yavaş metabolize edilerek, kolon bölgelerinde daha uzun süre kalmaktadır. Kolondaki bir ya da sınırlı sayıda bakterinin büyüme ve

gelişmesini sağlayarak prebiyotik olarak fonksiyon gösterdiği ve bağırsak mikrobiyotasını modifiye ederek sağlığı olumlu yönde etkilediği bilinmektedir [6, 8].

## EKZOPOLİSAKKARİTLER

Polisakkaritler dünyadaki en önemli biyolojik polimerlerdendir [9, 10] ve doğada oldukça yaygın şekilde bulunurlar. Bu polimerlerin canlılar için başlıca enerji depo materyali (örneğin glikojen) olmasının yanı sıra özellikle bakteri hücre duvarı bileşenleri olan peptidoglikan, lipopolisakkarit, lipooligosakkarit, teikoik asit, lipoteikoik asit ve EPS'lerin yapısında yer alması gibi birçok hayati fonksiyonu bulunmaktadır. Örneğin teikoik asit, teikuronik asit, lipopolisakkarit ve peptidoglikan gibi bakteri hücre duvarı bileşenleri polisakkaritlerden oluşmaktadır [11-13]

EPS'ler düz veya dallanmış tekrarlı şeker ve şeker türevlerini içeren uzun zincirli, yüksek molekül ağırlığına sahip ve temel olarak hücre çeperi dışında bulunacak şekilde üretilen polimerlerdir. Bu şeker birimleri farklı oranlarda ağırlıklı olarak ya glukoz, galaktoz, fruktoz ve ramnozdan ya da bunların kombinasyonlarından oluşmaktadır [14-16]. Birçok prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizma hücre duvarlarının bileşiminde bulunmayan hücre dışı EPS olarak adlandırılan polisakkaritler üretme kabiliyetindedirler [14]. Bitkiler, algler, mantarlar ve bakteriler tarafından da EPS üretilmektedir. GRAS statüsüne sahip gıda sınıfı LAB tarafından üretilen EPS, bitki ve hayvan kaynaklı EPS'nin bir alternatifi olarak kullanılabilir [17]. Bakteriler teknolojik ve endüstriyel uygulamalar için EPS üretiminden sorumlu temel organizmalardır [4,5]. *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve *Weissella* cinslerinin EPS üreticisi oldukları bilinmektedir [3,18].

LAB'ler tarafından üretilen EPS'ler, hücreyi ozmotik stres, düşük su aktivitesi, fagositoz, bakteriyofajlar, toksik bileşikler ve makrofajlara karşı koruyucu işlevlere sahiptir [8]. Diğer yandan, EPS'ler hücre tanımada, yüzeylere tutunma ve probiyotikler gibi mikrobiyal ekosistemlerin bağırsak florasında kolonizasyonunu kolaylaştıran biyofilmlerin oluşmasında kilit öneme sahiptir. Ayrıca üretilen EPS'ler, üreticisi LAB tarafından enerji kaynağı olarak da kullanılabilir [12, 13, 19, 20]. Bu biyopolimerler hücrede kovalent bağlarla sıkı bir

şekilde bağlanmış hücre etrafında kapsül oluşturan kapsüller EPS (CPS) veya hücreye gevşek şekilde bağlı olarak hücre yüzeyi ile elektrostatik etkileşimler vasıtasıyla ilişkili olan ve çoğunlukla ortama salınarak yapışkan bir özellik kazandıran (slime) EPS (SPS) olarak iki formda bulunabilir. CPS ve SPS, hücre yüzeyine bağlanma şekillerinde farklılık olan ekzoselüler polisakkaritlerdir. EPS üreticisi LAB türleri EPS üretimlerini çoğunlukla SPS formunda gerçekleştirirken, bazı türler ise hem CPS hem de SPS formunda üretebilmektedir. CPS, SPS'den daha iyi su tutma kapasitesine sahip iken, salgı formunda olmasından dolayı SPS'nin daha yüksek viskoziteye sahip olduğu bilinmektedir [13, 16, 21-23]. Yang ve ark. [22] tarafından yapılan bir çalışmada; Çin lahanası turşusu olan kimchi'den iki EPS formunu da üretebilen *L. rhamnosus* JAAS8 suşu izole edilmiştir. Söz konusu suş tarafından üretilen hücre yüzeyini çevreleyen mevcut kapsüller polisakkarit (CPS) ve yapışkan polisakkaritin (SPS) biyosentezleri ayrı ayrı incelenmiştir. Sonuç olarak; gelişme ortamında bulunan SPS biyosentezinin logaritmik büyüme safhası boyunca arttığı, sonrasında söz konusu artışın durağan safhada azaldığı ve sonunda viskozite etkisinde belirli oranda azalma olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun fermentasyon ortamında yer alan glikohidrolazların EPS'yi monomerlere hidrolize etmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Bununla birlikte üretilen CPS'nin etkilenmediği aksine fermentasyon işlemi sırasında veriminin sürekli arttığı belirlenmiştir. Besin maddelerinin tükenmesi, asitliğin artması, tuz varlığı gibi olumsuz çevre koşullarının CPS oluşumunu teşvik ettiği görülmüştür. Söz konusu bu durum hücre koruma ile ilişkilendirilmiş, koruma ve direnç özelliklerinden dolayı sağlık açısından probiyotik olarak kullanımının ön koşulunu oluşturduğu görülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen sonuçta benzer olarak; *L. helveticus*, *L. delbrueckii* ve *S. thermophilus* gibi diğer birçok EPS üreten LAB'nin durağan safhada EPS veriminde benzer azalmalar olduğu bulunmuştur.

LAB tarafından üretilen EPS'ler; yapısal olarak tek tip monosakkaritlerin tekrarlanan birimlerinden oluşan homopolisakkaritler (HoPS) ve iki veya daha fazla monosakkaritten oluşan bir ünitenin düzenli tekrarlayan birimlerinden oluşan heteropolisakkaritler (HePS) olmak üzere iki alt sınıfa ayrılmaktadır [18, 19, 24,]. HoPS, glukoz, fruktoz gibi tek tip monosakkarit içerir ve  $\alpha$ -D-glukanlar (deskranlar, mutanlar, alternanlar),  $\beta$ -D-glukanlar, fruktanlar (levan, inülin) ve poligalaktan olmak üzere dört gruba ayrılır [18]. HoPS'lar arasındaki temel farklılık esas olarak ana zincirdeki bağlar, molekül ağırlıkları ve dallanma yapılarının özellikleri nedeniyle ortaya çıkmaktadır [16]. Genellikle molekül ağırlıkları  $10^4$  ile  $10^6$  Da aralığında değişmektedir. *Leuconostoc* ve *Weissella* suşları başlıca ve önemli miktarda HoPs üreticileridir [12, 25, 26].

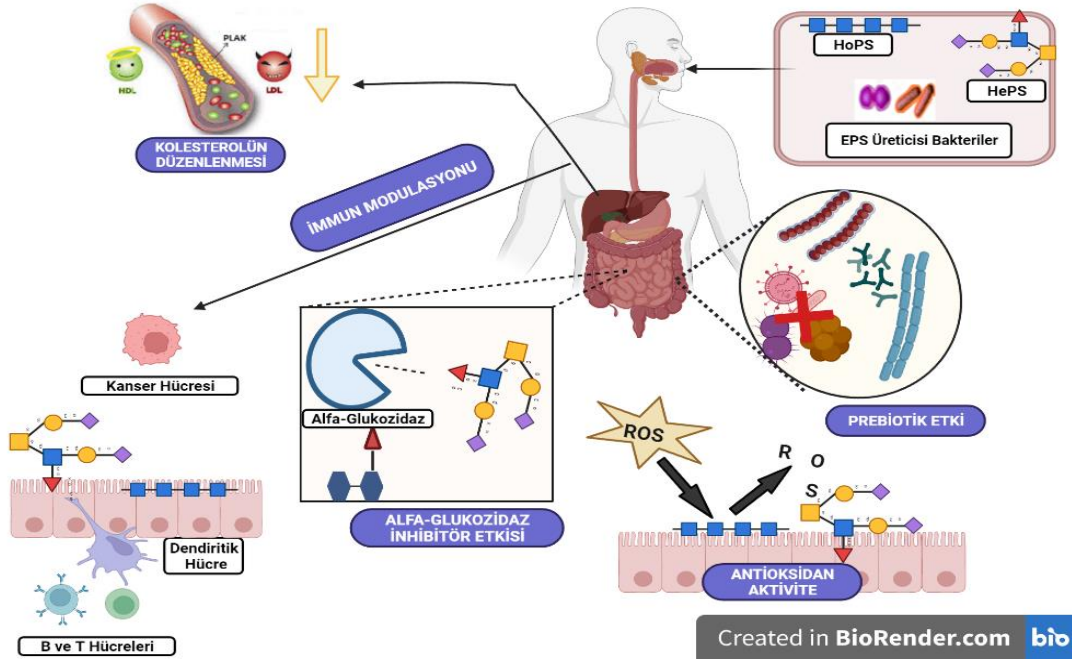
HoPS'ların üretilmesi için fermentasyon ortamında sükröz substrat olarak kullanılır ve monosakkarit üniteleri bakteri hücresi duvarında bulunan glikoziltransferaz tarafından oluşturulduktan sonra biyosentez gerçekleştirilir. Alfa-glukanlar,  $\alpha$ -(1-6) ve  $\alpha$ -(1-3) bağlı glikozidik birimlerinden oluşmaktadır. *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *L. mesenteroides* subsp. *dextranicum* tarafından dekstransükraz enziminin aktivitesi ile sükrözden üretilen dekstranlar  $\alpha$ -(1-6) ve  $\alpha$ -(1-3) glikozidik bağlarını içerir. Dekstran çözeltilerinin viskozitesi konsantrasyon, sıcaklık ve moleküler ağırlık fonksiyonlarına bağlı olarak değişir, sahip oldukları glikozidik bağların serbest dönüşümü sayesinde esnek bir yapıya sahiptir ve suda oldukça iyi çözünürler [27,28]

## LAB'LER TARAFINDAN ÜRETİLEN EPS'NİN SAĞLIKLA İLİŞKİSİ

LAB tarafından üretilen doğal biyopolimerler olan EPS'lerin insan sağlığı açısından da son derece önemli olduğu bilinmektedir. Antioksidan, prebiyotik, anti-tümör, immüno-modülasyon, antiinflamatuvar, proinflamatuvar ve kolesterol düşürücü aktiviteler gibi sağlık üzerine olumlu etkilere sahip olduklarından gıda endüstrisinde değerli bileşenler olarak kabul edilirler [29-34]. LAB'nin EPS'lerinin sağlık üzerine etkileri takip eden bölümlerde incelenip Şekil 1'de kısaca özetlenmiştir ve çalışmada yer alan EPS'lerin bazılarının sağlık üzerine etki mekanizmaları Tablo 1'de listelenmiştir.

### EPS'lerin Prebiyotik Etkileri

Probiyotikler, belirli miktarlarda alındıklarında konakçısına bir sağlık yararı sağlayabilen canlı mikroorganizmalardır. Prebiyotikler ise bağırsak mikrobiyotasında bulunan yararlı mikroorganizmaların gelişimini ve stabilitesini sağlayarak konakçı sağlığını olumlu yönde etkileyen ve sindirilemeyen maddelerdir. Bunlar genellikle polimerizasyon dereceleri 2 ile 20 monomer arasında değişen oligosakkaritlerdir. Söz konusu prebiyotikler probiyotikler tarafından metabolize edilerek patojen mikroorganizmalara karşı bağışıklık geliştirirler. Prebiyotiklerin temeli oligosakkaritlere dayanır. Galaktooligosakkaritler (GOS) ve fruktooligosakkaritler (FOS) önemli prebiyotikler olarak bilinmektedir. LAB tarafından üretilen poli ve heterooligosakkaritler potansiyel prebiyotiklerdir. Uzun karbohidrat zincirlerine sahip olan EPS'ler kısa zincirli olanlardan daha yavaş metabolize edileceğinden gastrointestinal sistemde daha uzun süre kalarak prebiyotik etki yapabildiği düşünülmektedir. Ayrıca EPS'lerin probiyotik mikroorganizmalar tarafından üretilen kısa zincirli yağ asitleri ile birlikte sindirim sisteminde iyi bir prebiyotik etki gösterdiği de bildirilmiştir [12, 16, 24, 35, 36].



Şekil 1. LAB tarafından üretilen EPS'lerin sağlık üzerine etkileri. Görsel <https://biorender.com/> adresindeki çeşitli öğeler kullanılarak oluşturulmuştur.

Figure 1. The health effects of EPS produced by LAB. The image was created using various elements from <https://biorender.com/>.

Tablo 1. LAB'leri tarafından üretilen EPS'lerin sağlık üzerine etki mekanizması

Table 1. The mechanism of action of EPS produced by LABs on health

EPS Üreticisi Bakteri	EPS YAPISI	Sağlık Üzerine Etki Mekanizması	Referans
<i>L. plantarum</i> RJF4	HePS (Glukoz, Mannoz)	Antioksidan – Kolesterol Üzerine Diyabet Üzerine(Alfa-amilaz İnhibitörü)	[17]
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	HePS (Fruktoz, Ramnoz)	Antioksidan	[64]
<i>Weisella cibaria</i>	HePS (Glukoz, Ramnoz)	Süperoksit Anyon Süpürme- Hidroksil Radikali Süpürme	[79]
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> B3	(HePSMannoz, Glukoz, Sükroz+Maltoz, Fruktoz, N- asetil glukozamin)	Süperoksit Anyon Süpürme	[80]
<i>L. acidophilus</i> DSMZ 20079	HePS (Glukoz, Fruktoz, Glukuronik asit)	İmmün Modülasyonu (MCF7 ve Caco-2 hücrelerinin canlılık inhibisyonu-hücreyel proliferasyon inhibisyonu)	[96]
<i>L. plantarum</i> BR2	(HePS Glukoz, Mannoz)	Kolesterole Üzerine	[118]
<i>L. paracasei</i> JY062	-	Diyabet Üzerine (Alfa-amilaz İnhibitörü)	[132]
<i>Lactobacillus</i> sp. Ca <sub>6</sub>	HoPS (Glukoz)	Yara İyileştirici	[138]
<i>Lactobacillus gasseri</i> FR4	HePS (Glukoz, Mannoz, Galaktoz, Ramnoz, Fukoz)	Antimikrobiyal Etki ( <i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı)	[140]
<i>Streptococcus thermophilus</i> CRL 1190 FM	HePS (Glukoz, Galaktoz)	Antiülser	[144]

Söz konusu EPS'ler vücuda yeterli miktarlarda alındığında canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanan probiyotik mikroorganizmaların büyümesini teşvik ederek, konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkiler yaratır ve bağırsak mikrobiyotasını pozitif yönde modüle eder [39,

42]. Prebiyotik karbohidratları fermente edebilen yeteneği hem tür hem de substrata özgü bir özellik olduğundan prebiyotik ve probiyotikleri bir arada bulunduran sinbiyotik ürünlerin insan sağlığı üzerinde daha fazla olumlu etkileri olduğu öne sürülmektedir [39,



43-46]. Sinbiyotik ürünler, probiyotik mikroorganizmaların prebiyotik içeren ürünlerde gelişmelerinin teşvik edildiği, sağlık ve beslenme metabolizmasını düzenleyici ve iyileştirici potansiyeli yüksek fonksiyonel gıdalardır [40]. LAB tarafından üretilen EPS'lerin prebiyotik olarak kullanıldığı uygulamalar sınırlı olduğundan, EPS üreten bir LAB suşunun fermente gıdalarda doğrudan starter olarak kullanılması, sinbiyotik ürünlerin gelişmesine katkıda bulunabilir [35]. EPS'lerin prebiyotik özellikler göstermesinin yanı sıra bağırsak florasında LAB türlerinin kolonizasyonunu kolaylaştırması, zorlu sindirim koşullarına direnç göstermesi ve konak bağışıklık sistemini güçlendirmesi gibi probiyotik açıdan önemli fonksiyonları vardır [47-50]. Yapılan bir çalışmada *L. sanfranciscensis* tarafından üretilen levan tipi EPS'nin prebiyotik özellikleri incelenmiştir. Sonuç olarak; sağlıklı insanların dışkı örneklerinden alınan bakteriler tarafından tek karbon kaynağı olarak kullanılan levanın fermantasyonu sonucunda bifidobakterlerin sayısı artmış ancak laktobasillerin sayısında azalma gözlenmiştir. Bifidojenik etki *in vitro* olarak tespit edilmiş ancak model sistemde prebiyotik etki değerlendirilememiştir [12]. Probiyotik bakterilerin bağırsak florasında tutunabilme ve kümeleşebilme yetenekleri söz konusu ortamlarda kolonize olabilmeleri açısından oldukça önemlidir. Bu durum konakçı-bakteri ilişkisi ile doğrudan alakalı olup EPS'nin sağlık üzerinde yararlar gösterebilmesini de etkilemektedir. EPS'nin söz konusu ilişkideki anahtar rolü, kimyasal yapı ve karakteristiğine bağlı olarak bağışıklık sistemi üzerinde farklı etkilerde bulunmasıdır [50]. Örneğin yapılan bir çalışmada yüksek moleküler ağırlığa sahip EPS üreten *L. casei* subsp. *shirota* ile daha az EPS üreten EPS mutant suşlar fare makrofaj hücrelerindeki sitokin üretimleri açısından karşılaştırılmış ve doğal türün sitokin oluşumundaki uyarısı mutant türlere nazaran daha az bulunmuştur. Bu sonuç EPS'nin immün sistemi etkileyici özellikte olduğunu göstermiştir [51]. Benzer olarak bu etki EPS üreten ve üretmeyen *L. plantarum* ve *L. rhamnosus* RW-9595M suşlarında da tespit edilmiştir [52, 53].

EPS'nin prebiyotik özelliği aracılığıyla gastrointestinal sistemde düzenleyici olarak işlev sergileyebileceği yapılan çalışma ile desteklenmiştir [54]. Bilindiği üzere İrritabl bağırsak sendromu (IBS), genel popülasyonun %7 ila %21'ini etkileyen; yaşam kalitesini ve iş verimliliğini önemli ölçüde azaltabilen kronik bir rahatsızlıktır [55]. Halen daha etkili bir tedavisi olmasa da semptomların azaltılmasında ilk basamak özellikle suda çözümlür diyet lif alımını arttırmak gibi beslenmede yapılacak değişimlerden oluşmaktadır [56, 57]. Zhou ve ark. [54] tarafından yapılan çalışmada *L. plantarum* NCU116 tarafından üretilip ardından saflaştırılan EPS (EPS116) değişen oranlarda (0, 80 ve 160 mg/kg EPS116) dekstran sodyum sülfat (DSS) ile birlikte erkek farelerin beslenmesinde 7 gün boyunca kullanılmıştır. Çalışma sonunda DSS+EPS grubu farelerin DSS grubu farelere göre hastalık aktivite indeksinin daha düşük

olduğu ayrıca kolite yatkinliğın göstergesi olan CD11b+ hücrelerin sayısının da EPS içeren gruplarda düşük olduğu bulunmuştur. Yine aynı çalışmada kolon fonksiyonunun devamı için gerekli olan epitel rejenerasyonun incelendiğinde hücre proliferasyonunun EPS içeren gruplarda arttığı görülmüştür. Kolit semptomlarını iyileştirdiği bildirilen *Bifidobacteriaceae*'nin sağlıklı kontrol grubunda ve DSS + 160 mg/kg EPS116 grubunda artışının yanı sıra bağırsak rejenerasyonunu düzenleyen ve IBD semptomlarını hafifleten *Lactobacillaceae* familyasının DSS grubu ile karşılaştırıldığında DSS + 160 mg/kg EPS116 grubunda dikkate değer atışı gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile EPS116'nın bağırsak epitel rejenerasyonu ve mikrobiyota modülasyonu yoluyla bağırsak homeostazını kolaylaştırdığı ortaya konmuştur.

### EPS'lerin Antioksidan Aktiviteleri

Son yörüngesinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran atom veya moleküller serbest (reaktif) radikaller olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikaller eşlenmemiş elektron bulundurdıklarından dolayı kararsız yapıda olup diğer maddelerle reaksiyona girerek kararlı duruma geçme eğilimindedirler. Reaktif oksijen türleri (ROS) arasında; süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil ( $\cdot OH$ ), peroksil (ROO), lipit peroksil ve alkoksil ( $RO\cdot$ ) radikalleri bulunmaktadır [58-60]. Hidroksil ve süperoksit anyon radikalleri oksijen metabolizmasından elde edilen yüksek oranda reaktif moleküllerdir. Bunlar genellikle biyolojik reaksiyonların yan ürünleridir. Endojen ya da ekzojen kaynaklı olabilirler. Endojen kaynaklı olarak en önemli üretim yeri mitokondri iken; ekzojen kaynaklı üretimi ise UV ışınlar ve çeşitli kimyasal maddelerdir. ROS'lerin düşük yoğunluklarda bulunmaları halinde hücre fizyolojisinde yararlı etkilerinden söz edilebilir ancak yoğunlukları arttığı durumlarda lipidlere, hücre membranlarına, karbohidratlara, proteinlere, DNA ve nükleotid koenzimler üzerinde yapısal bozukluklara neden olarak zararlı etkilere yol açabilirler [60-63]. Söz konusu zararların başında yaşlanmanın hızlanmasında etkisi olduğu gibi kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, bağışıklık sisteminde zayıflama ve gastrointestinal hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalıklara sebep olmaktadır [64-66]. Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve kararlı hale getirme yeteneğine sahip maddelere "antioksidan" adı verilir. Antioksidan maddeler mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyerek ya da oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kırarak etki gösterirler [67, 68]. Antioksidanlar da reaktif oksijen türleri gibi endojen veya ekzojen kaynaklıdır. Serbest radikallerin artmasıyla, endojen antioksidanlar yetersiz kalabilmekte ve bu durum ekzojen antioksidanların dışarıdan alınmasını gerektirmektedir [69].

Hemen hemen tüm organizmalar antioksidan savunma ve onarım sistemlerine sahip olsalar da bu sistemler ROS'nin neden olduğu hasarı önlemekte yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, ROS'lerin oluşturabileceği hasarlardan korunmak amacıyla gıdalara sıklıkla ekzojen kaynaklı bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillendirilmiş hidroksianizol (BHA) gibi birçok sentetik antioksidan ilave edilmektedir. Sentetik antioksidanların oksidasyon sürecini yavaşlatmada oldukça başarılı olduğu kanıtlanmış olsa da sağlık açısından yaratabileceği olumsuz yan etkileri ve toksisiteyi büyük endişe kaynağı oluşturmaktadır. Nitekim söz konusu sentetik antioksidanların bazı ülkelerde gıdalarda kullanımı kanserojenik etkisi olabileceği şüphesinden dolayı yasaklanmış veya sınırlandırılmıştır. Bu nedenle, insan vücudunu serbest radikallerden korumak ve birçok kronik hastalığın ilerlemesini geciktirmek amacıyla doğal, toksik olmayan antioksidanlara daha fazla önem verilerek kullanımları yaygınlaşmaya başlamıştır [64, 65, 70, 71]. Son yıllarda yapılan araştırmalar mikrobiyal kaynaklardan izole edilen bazı polisakkaritlerin antioksidan aktivite özelliklerinin beraberinde düşük sitotoksositeye sahip olduğunu göstermiştir. LAB tarafından üretilen EPS'lerin söz konusu sentetik antioksidanların yerine kullanılabileceği fikri son yıllarda yapılan birçok çalışmanın odağını oluşturmuştur [72-74].

Dilna ve ark. [17] probiyotik özelliği olan *L. plantarum* RJF4 tarafından üretilen, glukoz ve mannoz şekerlerinden oluşan bir HePS EPS'nin antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Kontrol olarak kullanılan askorbik aside nazaran söz konusu EPS'nin daha iyi antioksidan özelliklere sahip olduğunu ve ayrıca bu durumun yanı sıra kolesterol seviyesini düşürme ve  $\alpha$ -amilaz enzimini inhibe etme kabiliyetine de sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Seo ve ark. [66] yaptıkları bir çalışmada probiyotik *L. plantarum* YML009 tarafından üretilen EPS'nin gıda katkı maddesi olarak veya doğrudan ilaç olarak kullanımını araştırmışlar, söz konusu suşun antioksidan aktivitesi incelendiğinde önemli ölçüde yüksek antioksidan kapasiteleri olduğunu tespit etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlar, *L. plantarum* YML009'dan üretilen EPS'nin var olan veya biriken ROS'lerinin temizlenmesinde ve antioksidan aktivitesinin pozitif yönde regülasyonunda etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca sadece ROS birikimi riskini azaltmakla kalmayıp, aynı zamanda süperoksit anyonunu ve hidrojen peroksiti de indirgemesinde dolayı doğal bir antioksidan olduğu, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasara ve hastalıklara karşı önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir. Pan ve Mei [64] tarafından fermente bir ürün olan kimchi'den izole edilmiş *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 12 suşunun ürettiği fruktoz ve ramnoz şekerlerinden oluşmuş HePS EPS'nin hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamda antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Araştırma sonucuna göre *in vitro* şartlarda yüksek değerlerde antioksidan aktivitesi gösterdiği, EPS konsantrasyonu arttıkça söz konusu bu antioksidan aktivitesinin de fark edilir oranda arttığı

rapor edilmiştir. *In vivo* ortamda ise farelere yapılan EPS uygulaması, lipid peroksidasyonu seviyesini önemli ölçüde inhibe etmiş, CAT ( $H_2O_2$  ayrışmasına bağlı olarak absorpsiyon azalışı) ve SOD (ksantin oksidaz sistemi ile oksidasyonunu inhibe etme kabiliyeti) da dahil olmak üzere antioksidan aktivitelerini artırmıştır. Nitekim, araştırmacılar çalışmalarından elde ettikleri verilere göre EPS'nin lipid peroksidasyon riskini azalttığını ve toplam antioksidan aktivitesini pozitif yönde etkilediğini önermiştir. Zhang ve ark. [65] geleneksel fermente Çin tofusundan izole edilmiş *L. plantarum* C88 tarafından üretilen galaktoz ve glukoz şekerlerinden oluşan bir HePS'nin, *in vitro* ortamda kolon adenokarsinoma hücreleri olan Caco-2 doku hücrelerinde  $H_2O_2$  yaralanmalarına karşı belirgin bir antioksidan aktivite gösterdiğini rapor etmiştir. Ayrıca malondialdehit (MDA) oluşumunu inhibe ettiği, EPS konsantrasyonuna paralel olarak SOD ve toplam antioksidan aktivitesini artırdığını da ortaya koyan söz konusu çalışmada EPS'nin, ROS'lerin hücre ortamından uzaklaştırılması, antioksidan aktivitelerin regülasyonu ve lipid peroksidasyonu önlenmesinde önemli etkilere sahip olduğu ortaya konulmuştur. Aynı çalışmada kullanılan EPS'nin, doğal bir ajan olarak fonksiyonel gıdalarda kullanılabileceği önerilmektedir.

### EPS'lerin Süperoksit Anyon Süpürme Aktiviteleri

Süperoksit anyon radikali biyolojik makromoleküllerle reaksiyona giren ve doku hasarına neden olan aktif serbest radikallerin öncülerindedir. Hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijeni gibi diğer ROS'lerin oluşumunda da önemli rol oynamaktadır. Dahil oldukları reaksiyonlarda indirgen veya yükseltgen olarak davranabilirler. Süperoksit anyon radikal üretimi enzimatik veya enzimatik olmayan elektron transferleri sonucunda gerçekleşebilmektedir [58, 71, 75]. EPS'nin süper oksit anyon süpürme aktivite mekanizması; ortamda bulunan süperoksit radikal iyonları ile birleşerek kararlı radikaller oluşturması ve böylece serbest radikal zincir reaksiyonunu sona erdirmesi ile gerçekleşmektedir [76-78].

Dahansi ve ark. (2018) tarafından yürütülen çalışmada Nijerya geleneksel kasava püresinden *Weissella cibaria* izole edilmiştir. Bu bakteri tarafından sentezlenen EPS saflaştırılmış ve antioksidan özellikleri değerlendirilmiştir. Konsantrasyon artışı ile birlikte süperoksit anyonu süpürme aktivitesi tıpkı kontrol örneği askorbik asitte olduğu gibi artış sergilemiştir ve 4 mg/mL konsantrasyonda EPS için %77.1 iken askorbik asit için %83,1 olarak tespit edilmiştir [79].

*L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 ve *L. plantarum* GD2 dan elde edilen EPS'lerin süperoksit anyonu süpürme aktivitesinin incelendiği bir başka çalışmada aktivitenin konsantrasyona bağlı olarak değiştiği ve 1250 mg/mL EPS varlığında %48 ve 36 olduğu tespit edilmiştir. Süperoksit anyon temizleme aktivitesinin, OH bağının

ayırışma enerjisi yoluyla meydana gelebileceği öne sürülmüştür [80].

### EPS'lerin Hidroksil Radikali Süpürme Aktiviteleri

ROS'ler arasında hidroksil radikali, en reaktif tür olmasından dolayı seri bir şekilde lipid radikalleri oluşturarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatır. Hidroksi radikalleri komşu hücreler veya biyolojik moleküller ile kolayca reaksiyona girerek hücrelerde veya biyolojik moleküllerde ciddi oksidatif hasara neden olarak yaşlanma ve kanser gibi hastalıklara yol açar [81]. Söz konusu bu durum gıda sistemlerinde veya hücrelerde antioksidan etkinliğinin sağlanabilmesi için ortamlardan hidroksil radikallerinin uzaklaştırılmasını gerektirmektedir. Hidroksil radikali, geçiş metallerin varlığında Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır [82-86]. Son zamanlarda, çeşitli laktobasillerden izole edilen bazı EPS'nin iyi hidroksil radikali süpürme aktivitelerine sahip olduğu bulunmuştur [44, 58, 59]. Min ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Lactobacillus plantarum* JLAU103 tarafından üretilen asidik karakterdeki heteropolimerik EPS 103'ün hidroksil radikali süpürme aktiviteleri 10 mg/mL konsantrasyonda %80.4 oranla aynı konsantrasyondaki askorbik aside (%97,2) yaklaşmıştır [81]. Yine Xu ve ark. (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *L. casei* NA-2'den izole edilen EPS 1,2 mg/mL konsantrasyonda %42 oranında hidroksi radikali süpürme aktivitesi göstermiştir [87]. Dahunsi ve ark. (2018) ise *W. cibaria* EPS'si için 4 mg/mL konsantrasyonunda süpürme aktivitesini %88, askorbik asit için %83 olarak tespit etmiştir. Böylece bu EPS'nin standart antioksidana göre daha yüksek radikal süpürme aktivitesi sergilediğini gösterilmektedir [88].

Çeşitli doğal polisakkaritlerin hidroksil radikali süpürme aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda, söz konusu polisakkaritlerin  $Fe^{+2}$  ve  $Cu^{+2}$  gibi şelatlama iyonları ile birleşerek hidroksil radikallerinin oluşumunu engellediği ve buna bağlı olarak gerçekleşecek hidrojen veya elektron ayrılma mekanizmalarını inhibe ettiği öne sürülmüştür [59, 64, 89].

Jiang ve ark. (2021) tarafından yürütülen çalışmada *L. plantarum* 1.0665 suşundan ekstrakte edilen EPS'nin konsantrasyonu 0.15'ten 5.0 mg/mL'ye çıkartıldığında radikal süpürme aktivitesi  $5.95 \pm 1.77$ 'den  $91.22 \pm 1.48$ 'e yükselmiştir. Bu durum düşük moleküler ağırlıklı ve orta moleküler ağırlıklı polisakkaritlerin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olabileceğini göstermiştir [90].

### EPS'lerin Serbest Radikal Süpürme Aktiviteleri

2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali, antioksidanların serbest radikal süpürücü aktivitelerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan stabil

formda serbest nitrojen radikaldir [65, 91]. Zhang ve ark. [65] geleneksel fermente bir ürün olan Çin tofusundan izole edilen *L. plantarum* C88 tarafından üretilmiş galaktoz ve glukoz şekerlerinden oluşan bir HePS EPS'nin *in vitro* ortamda 4 mg/mL EPS konsantrasyonda %52.23 DPPH serbest radikal süpürme aktivitesinin olduğunu tespit etmişlerdir. Xu ve ark. [92] *Bifidobacterium animalis*'den elde edilen EPS ile yaptıkları bir çalışmada, DPPH serbest radikal süpürme aktivitesinin kontrol grubu olan askorbik asit ile eşdeğer oranda olduğunu ve söz konusu EPS'nin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak DPPH radikal süpürme aktivitesinin de arttığını bildirmişlerdir. Muhtemel aktivitenin EPS içindeki diğer antioksidan bileşenlerin varlığına bağlı olabileceği ve söz konusu bileşiklerle etkileşime girerek sinerjik olarak güçlü antioksidan aktivite sergilediklerini düşünmüşlerdir. Bu çalışmada *Bifidobacterium animalis* EPS'sinin doğal bir ajan olarak fonksiyonel gıdalarda potansiyel uygulamaya katkıda bulunabileceği önerilmiştir. Ayrıca polisakkarit yapısındaki karbon atomlarındaki artan yük yoğunluğuna bağlı olarak radikalleri süpürme aktivitesinin artabildiği çalışmalarda belirtilmiştir [66, 93].

### EPS'lerin İmmün Modülasyon Özellikleri

Kanser hastalığının gittikçe yaygınlaştığı günümüz koşullarında özellikle kolorektal kanser tüm dünyada kansere bağlı ölümlerin önde gelen başlıca nedenidir. EPS'ler doğal anti tümör aktivitesi ile çeşitli kolon kanseri hücre hatlarının proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkilerinden dolayı hastalığın önlenmesine yardımcı olabileceğinden son yıllarda yapılan birçok çalışmanın odağını oluşturmuştur [94-96].

Kanser, bazı etkilerle değişime uğramış hücrelerin kontrolsüz hücre proliferasyonu ile oluşarak tümör adı verilen kitle oluşumuna yol açan ve vücut içerisinde gerek lokal gerek uzak noktalara yayılabilen kompleks hastalıklar grubudur [97]. Tümörlerin bazıları iyi huylu olup, hızlı büyümelerine rağmen sadece buldukları yerde kalırlar. Bunların cerrahi işlemlerle alınması sonucu söz konusu problem ortadan kalkar. Bazı tümörler ise kötü huylu olup, hücreleri buldukları yerden ayrılarak kan yoluyla vücudun diğer bölgelerine taşınır ve buralara yerleşerek çoğalırlar. Normal şartlar altında hücreler belli bir kontrol altında ihtiyaca göre bölünerek çoğalırlar. Hücreler bir taraftan programlı ölüm (apoptoz) ile yok olurken, diğer taraftan da büyüme faktörlerinin etkisiyle çoğalırlar. Büyüme faktörleri normalde DNA'daki çeşitli genlerin aktivitesi sonucu oluşan proteinlerdir. Bahsedilen genler mutasyona uğrayarak hücrelerin aşırı büyümesine sebep olurlarsa dokularda kanser oluşur [98, 99]. Tümör hücreleri, normal hücrelerde bulunmayan aşırı büyüme hızı, lokal invazyon, diferansiasyon, kalıcı anjiyogenez, anaplazi ve metastaz gibi bir takım farklı özellikler gösterirler [96].

Cerrahi ve radyoterapi lokal tedavi yöntemleri olup, onların arkasından kemoterapi ve immünoterapi gibi sistemik tedaviler uygulanmaktadır. Kemoterapi çoğu kanser hastalıklarında temel tedaviyi temsil eder. Kemoterapi uygulamasında kullanılan anti tümör ajanların güçlü bir aktiviteye sahip olmasına rağmen, sitotoksik ilaçlarla yapıldığından dolayı birçok yan etkileri (bulantı, kusma, yorgunluk, hematopoetik baskılama ve immünotoksosite gibi) bulunmaktadır [100]. Ayrıca uygulanan kemoterapötik ajanların çoğu aktif bölünen hücreleri hedef aldığından sağlıklı hücre kanserli hücre ayrımı yapamaz ve sağlıklı hücre hasarına yol açar. Bunların yanı sıra uygulanan ilaca özgü kazanılmış dirençler, lokal nüks ve uzak metastaz riski kolon kanseri kemoterapisinde uygulamalarını sınırlandırmıştır. Normal sağlıklı hücreleri etkilemeden seçici olarak kanser hücrelerini öldürebilen veya en azından terapötik dozları düşürmek ve geleneksel anti tümör ilaçlarının verimliliğini arttırmak için adjuvan (destekleyici, tamamlayıcı) olarak görev yapabilen hedefe yönelik terapilere ihtiyaç vardır. Bu nedenle LAB gibi güvenli doğal kaynaklardan üretilen EPS'nin sağlık üzerine olumlu etkileri, kolon kanserinin önlenmesi ve tedavisi için sentetik anti tümör ajanları yerine alternatif olarak kullanılabilmesi birçok çalışmada ön görülmüştür [95-97, 101, 102].

Polisakkaritlerin anti tümör aktivitesi, monosakkarit kompozisyonu, moleküler ağırlık, polimerik omurganın yapısı, yan zincirler ve hatta dallanma noktalarının sayısı gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Ayrıca mannoz ve glukoz kalıntılarının varlığı ve tekrarlama ünitesinde dallanma noktalarının mevcut olması gibi diğer yapısal özellikler anti tümör aktivitelerini arttırmada etkilidir [103].

LAB'nin kanser üzerine önleyici ve tedavi edici mekanizması; apoptoz indüksiyonu, proliferasyonu önleme, seçici sitotoksosite, hücre döngüsünün baskılanması, antimutajen, antioksidan, anti-anjiyogenez, antiinflamasyon veya sinyal yolak modülasyonunu içerir [97].

Wang ve ark. [100] geleneksel fermente bir ürün olan Çin Pao Cai'den izole edilmiş *L. plantarum* 70810 suşu tarafından üretilen CPS'nin HepG-2 (karaciğer kanseri hücresi), BGC-823 (mide kanseri hücresi) ve HT-29 (kolon kanseri hücresi) hücrelerine karşı *in vitro* ortamda anti tümör aktivitelerini konsantrasyona ve zamana karşı incelemiştir. *In vitro* ortamda yapılan anti tümör aktivitesi analizleri sonucunda CPS'nin HepG-2, BGC-823 ve özellikle HT-29 tümör hücreleri üzerinde kullanılan EPS konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak önemli bir anti tümör aktivitesi gösterdiği rapor edilmiştir. Elde edilen veriler *L. plantarum* 70810 tarafından üretilen CPS'nin kanser hastalarında doğal kaynaklı anti tümör ilaç takviyesi olarak kullanılmaya uygun olabileceğini ortaya koymuştur.

Zhang ve ark. [78] tarafından yapılan bir başka çalışmada ise Finlandiya'ya ait geleneksel fermente bir süt ürünü olan viili'den izole edilmiş *L. plantarum* ZDY2013 suşu tarafından hem normal EPS hem de sülfatlanmış bir gruba sahip olan EPS üretilerek saflaştırılmıştır. Çalışmanın devamında üretilen iki farklı türdeki EPS grubunun antioksidan aktiviteleri ve Caco-2 hücreleri üzerinde *Bacillus cereus* enterotoksinlerin neden olduğu sitotoksitesite incelenmiştir. Nitekim; sülfatlanmış EPS'nin normal EPS'ye nazaran daha yüksek radikal süpürme aktivitesine sahip olduğu ve mevcut sitotoksitesitenin önlenmesinde sülfatlanmış EPS'nin patojenik *B. cereus* toksinlerine karşı antagonistik etkisinin daha güçlü olduğu belirlenmiştir. Sülfatlanmış EPS'nin *B. cereus* toksinlerine karşı gösterdiği etki mekanizmasının oksidatif hasarı azaltma kabiliyeti ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Elde edilen sonuçlar ile *L. plantarum* ZDY2013 suşundan üretilen EPS'nin terapötik amaçlı kullanımlar için umut verici bir aday olabileceğini ve EPS'nin biyolojik aktivitelerini iyileştirmek için sülfonasyonun etkili bir strateji olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Choi ve ark. [104] yaptıkları çalışmada *L. acidophilus* 606'dan üretilen polisakkaritlerin HT-29 hücrelerinde etkili anti tümör aktivitesi ve uyarılmış apoptoz etkisi gösterdiğini ortaya koymuştur. Ewaschuk ve ark. [105] *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum* ve *Streptococcus thermophilus*'un HT-29 ve Caco-2 hücrelerinin canlılığını azalttığını ve apoptozisi uyardığı bildirmişlerdir. Bu bilimsel veriler ışığında yapılan bir başka çalışmada ise EPS'nin HT-29 apoptozisini uyardığı ve dolayısıyla insan kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir [63]. *L. plantarum* 17C suşunun kolorektal kanser hücresi HT-29'a karşı güçlü bir anti tümör etkisine sahip olduğu bulunmuştur [106]. Bebek dışkılarından izole edilmiş 138 adet *Lactobacillaceae* takımı türüne ait suşun içerisinde 10 tanesinin HT-29 hücrelerine karşı anti-proliferatif etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Söz konusu çalışmada *Lactobacillaceae* suşlarında hücre duvarının bileşiminin HT-29 hücrelerinde apoptozisi teşvik eden başlıca faktör olduğu anlaşılmıştır [107].

EPS'nin anti tümör aktivite özelliğinin yanı sıra bağışıklık sistemini düzenleyici etkileri de çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [24, 100, 108]. Bu çalışmalarda araştırılan en önemli parametreler arasında IL-6, IL-10, IL-12 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler üzerinde EPS'nin etkisi sayılabilmektedir. Söz konusu parametreler EPS kimyasal yapısına bağlı olarak EPS direnç sistemi üzerinde baskılayıcı veya uyarıcı etkiler gösterebilmektedir [42, 50]. EPS'nin immün sistemi üzerindeki modüle edici aktivitesi, esas olarak IL-6, IL-10 IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  üretimini indüklemesi ve yarattığı fagositoz etkisi ile ortaya çıkmaktadır. Özellikle vücudumuzda ROS gibi yüksek seviyedeki serbest radikallerin zararlı hale gelmesi anında söz konusu etki oluşmaktadır [63, 109].

El-Deeb ve ark. [96] *L. acidophilus* DSMZ 20079'dan saflaştırdıkları EPS'nin, farklı kanser hücre hatları üzerindeki anti-tümör ve immünomodülatör etkilerini, özellikle Caco-2 hücre hattına selektif sitotoksik etkisini değerlendirmişlerdir. Söz konusu çalışmada EPS uygulamasından sonra MCF7 (meme kanseri hücresi) ve Caco-2 hücrelerinin canlılık inhibisyonu sırasıyla %71.86 ve 80.65 olarak bulunurken; hücresel proliferasyon inhibisyonu da sırasıyla %78.95 ve 87.27 bulunmuştur. Bu oranların tedavi edilmeyen hücrelerden önemli ölçüde farklı olduğu görülmüştür. Araştırmacılar aynı çalışmada EPS tarafından hücrelerde immün cevabın uyarıldığını ve tüm hücre tiplerinde bulunan bir transkripsiyon faktörü olan NF- $\kappa$ B inflamatuvar yolunun inaktive edildiğini rapor etmişlerdir. Kanser hücrelerinin mevcut terapötik uygulamalarına yeni yöntemler sağlamanın yanı sıra apoptotik mekanizmalarla tümör hücreleri üzerinde doğrudan sitotoksik etki uyguladığı ortaya koyulan bu çalışmada, *L. acidophilus*'dan üretilen EPS'nin kolon kanseri üzerindeki etkilerinin çok umut verici olduğu düşünülmektedir. Ancak *in vivo* çalışmalarda EPS ve konakçı bağışıklık sistemi arasındaki olası etkileşimleri tanımlamanın da gerekli olduğu belirtilmiştir.

Liu ve ark. [63] tarafından yapılan bir çalışmada probiyotik olan *L. paracasei* subsp. *paracasei* NTU101 ve *L. plantarum* NTU102 suşlarından elde edilen EPS'lerin *in vitro* ortamda antioksidan ve immün modülasyon aktiviteleri incelenmiştir. Söz konusu suşlardan üretilen EPS'lerin konsantrasyona bağlı olarak Raw 264.7 hücre hattında (IL-6, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  dahil) sitokin üretimini indüklediği ve immün modülatör aktivitesi mekanizmasında aktif rol alan Toll benzeri antijen önleyici hücreleri uyararak sitokin oluşumunu indüklediği belirlenmiştir. Ayrıca aynı çalışmadan elde edilen veriler, EPS'lerin makrofajların üretimini artırarak fagositoz uyarılmasına aracılık etmede anahtar faktörler olabileceğini de düşündürmüştür. Probiyotik bakterilerin immün düzenleyici etkileri, hücre içerisinde sitokin üretimini indüklemeye veya geliştirme kapasiteleri ile ilgilidir. Liu ve ark. [63] *L. casei shirota* suşunun yararlı aktivitesinin bir kısmının IL-12 ve TNF- $\alpha$  üretimini uyarma yeteneğinden kaynaklandığını ifade etmiştir.

### EPS'lerin Kolesterol Seviyesi Azaltma Üzerine Etkileri

Kolesterol insan vücudunda hayati öneme sahip olup, tüm hücre zarlarının bileşeni, safra tuzları ve steroid hormonlarının öncülü olarak görev alır. Ancak kandaki kolesterol seviyesinin yükselmesi kardiyovasküler hastalıkların (KVH) oluşmasında en önemli risk faktörüdür. WHO tarafından KVH'lerin dünya çapında ölümlerin %31'inden sorumlu olduğunu ve 2015 yılında dünyada 17.7 milyon insanın ölüm nedeninin KVH olduğu açıklanmıştır. Önümüzdeki yirmi yıl içinde önde gelen ölüm nedenleri arasında olmaya devam edeceğini bildirilmiştir ve 2030 yılına kadar, KVH'ler dünya çapında

yaklaşık 23.3 milyon insanı etkileyeceği tahmin edilmektedir. Ayrıca WHO 40 ve üzeri yaşlarda olan insanların kan serumunda bulunan kolesterolün %10'luk bir azalmanın kalp hastalığı oluşma ihtimalini %50 oranında azaltabileceğini bildirmiştir [110]. Bu nedenle kan serumundaki kolesterol seviyesinin düşürülmesi hastalıkların önlenmesi bakımından büyük önem taşımaktadır. İlaç tedavisi, diyet düzenlemesi ve mevcut yaşam tarzında alınan önlemler kan kolesterol seviyelerini düşürmede etkili ama yetersiz kalmaktadır [111, 112]. Bunun üzerine son yıllarda, kandaki yüksek kolesterol seviyelerinin düşürülmesinde yeni yaklaşımlar söz konusu olmuş ve probiyotik bakterilerin kullanımına yönelmiştir. Konu üzerinde birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışma yapılmış ve özellikle belirli *Lactobacillus* türlerini içeren probiyotik ürünlerin kandaki yüksek kolesterol seviyelerini azalttığı bildirilmiştir [113]. Probiyotiklerin hipokolesterolemik etkileri üzerine yapılan çalışmalardan birinde, uygun suş(lar) ile fermente edilen süt ürünlerinin, kan dolaşımındaki kolesterol seviyesinde azalmaya neden olabileceği sonucuna varılmıştır [114]. Laktobasillerin önemli bir metaboliti olan EPS'lerin özellikle kolesterol düşürücü potansiyelleri araştırılmıştır [112, 115, 116].

Nakajima ve ark. [117]'nin yaptıkları bir çalışmada EPS üretimi olan ve olmayan iki *L. lactis* subsp. *cremoris* suşunun kolesterolü bağlama yetenekleri araştırılmıştır. EPS üretebilen suşun, üretmeyen suşa kıyasla daha fazla kolesterolü bağlayabildiği sonucuna varılmış, bu durum polisakaritlerin diyet lifi etkisi göstermesi ile ilişkilendirilmiş ve fazla kolesterolün üretilmiş EPS'ye bağlanarak dışkı yolu ile atıldığı düşünülmüştür. Dilna ve ark. [17]'nin yaptıkları çalışmada çürümüş Jack meyvesinden izole edilmiş *L. plantarum* RJF4 tarafından üretilen, glukoz ve mannoz birimlerinden oluşan bir HePS EPS'nin kolesterol seviyesini düşürebilme yeteneğini incelemişlerdir. Yapılan analizler sonucunda *L. plantarum* RJF4' den elde edilen EPS ilavesiyle serum kolesterol seviyesinin %42.24 oranında azaltılabildiği ve bu azalmanın adsorpsiyon yoluyla gerçekleştirildiği vurgulanmıştır. Aynı çalışmada dekstranlardan oluşan EPS'nin kullanılması halinde mevcut kolesterol fazlalığının giderilemediği bildirilmiştir. Sasikumar ve ark. [118]'in yaptığı çalışmada Jack meyvesinden izole edilmiş *L. plantarum* BR2 suşu tarafından üretilen EPS'nin kolesterol düşürme yeteneği incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; EPS ilavesi ile serum kolesterol seviyesinde %47.5 oranında azalma olduğu belirlenmiştir. Ancak EPS'nin kolesterol düşürme mekanizmasının tam olarak açıklanamadığı çalışmada, bazı EPS üreten probiyotik suşların serbest safra asitlerini bağlayarak vücuttan atılımı arttırabileceği ve söz konusu serbest safra tuzları vücuttan atıldığı için de karaciğer tarafından yeni safra asitleri sentezine yol açarak kandaki kolesterol seviyesini düşürdüğü düşünülmüştür. Böylece EPS'nin gıdalara ilave edilmesi ile kandaki kolesterol seviyesinin bir dereceye kadar

düşürülmesine yardımcı olabileceği sonucuna ulaşmıştır.

Yapılan birçok çalışmada genel olarak EPS'nin serum kolesterolü düşürücü yeteneğinin vücuttaki mekanizması hakkında kesin olarak bilgi verilememiş, çeşitli olası mekanizmalar önerilmiştir. Bunlar EPS'nin kolesterol düşürücü özelliğinin, EPS tarafından kolesterol adsorpsiyonundan kaynaklanabileceği [17, 76] veya safra tuzunu serbest asitlere parçalayarak bağırsak kanalında çözünürlük ve emilim düzeylerini artırmak suretiyle intestinal sistemden daha hızlı ve kolay uzaklaştırılmasını sağlayabilecekleri düşünülmüştür. EPS'nin serbest safra asitlerini veya kolesterolü bağlayarak vücuttan uzaklaştırılmasına yardımcı olduğu ve böylece serbest safra tuzlarının vücuttan atılması ile mevcut kolesterolden yeni safra asitlerinin sentezinin kandaki kolesterol konsantrasyonunu düşürebileceği önerilen mekanizmalar arasındadır [118-120].

### EPS'lerin Diyabet Üzerine Etkisi

Diabetes mellitus (DM), insan vücudunda insülin yokluğu, eksikliği veya periferik etkisizliği sonucu ortaya çıkan, karbohidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklar ile seyreden, tüm dünyada görülme sıklığı gittikçe artan kronik bir metabolizma hastalığıdır. Kan şekeri seviyesinin yönetimi, bu hastalığın tedavisinde belirleyici özelliştir. Biguanidler, insülin sekretagogları ve  $\alpha$ -glukozidaz inhibitörleri gibi oral hipoglisemik ilaçların kullanılmasıyla söz konusu hastalık kontrol altına alınabilmektedir [121-123].

### Alfa-Glukozidaz İnhibitör Aktiviteleri

Alfa-glukozidaz enzimler (glukoamilaz, sükras, maltaz, dekstrinaz ve izomaltaz) kompleks karbohidratların parçalanmasından sorumlu temel enzimler olup ince bağırsağın fırçamsı yüzeyinde bulunurlar. Kompleks karbohidratlar ince bağırsakta amilaz enzimi aktivitesi ile oligosakkaritlere ayrışır, sonrasında oligo ve disakkaritler de monosakkaritlere ayrıştırılırlar. Monosakkaritler de bağırsak duvarından kolayca emilip kana geçerler. Normalde karbohidratlar primer olarak hızlı bir şekilde distal duodenum ve proksimal jejunumdan absorbe olurlar. Alfa glukozidaz inhibitörleri, yarışmacı olarak tersinir bir şekilde enzime bağlanarak, karbohidrat absorpsiyonu ve emilimini geciktirir ve gastrointestinal yol boyunca ilerlemesini sağlar. Enzim inhibisyonunun net sonucu karbohidratların emilimindeki gecikmedir. Alfa glukozidaz inhibitörleri glukozun emilimini etkilemez, ancak emilme yerini gastrointestinal sistemde daha distale kaydırır. Bu gecikme malabsorpsiyona neden olmaz, aksine  $\beta$  hücrelerine insülin salınımını arttırması için zaman kazandırarak hem tip 1 hem de tip 2 DM'de tokluk aşamada plazma glukozunda azalmaya neden [122, 124-126]. Tokluk hiperglisemi düzeylerini düşürmenin etkili yolu, gastrointestinal glukoz emiliminde  $\alpha$ -glukozidaz

inhibitörleri tarafından karbohidrat sindirim enzimlerinin inhibisyonunu geciktirerek olabileceği öngörülmüştür. Bu sebepten çeşitli sentetik  $\alpha$ -glukozidaz inhibitörleri, mevcut sentetik ilaçlara göre daha fazla etki ve daha az yan etki ile alternatif bir ilaç olarak kullanılabileceğinden bitki ekstraktları ve laktik asit bakterilerini içeren gıdaların  $\alpha$ -glukozidaz inhibitörleri üzerinde etkilerini belirlemek için artan sayıda araştırma yapılmıştır [127, 128, 129]. Yapılan araştırmalar sonucunda, bazı çalışmalarda  $\alpha$ -glukozidaz inhibitör aktivitesinin, LAB'ler tarafından üretilen EPS'lerden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür [118, 130, 131].

Ramchandran ve Shah [130] tarafından yapılan çalışmada, EPS üreten bir kültürün, belirli bir seviyede inülin (%3) varlığında EPS olmayan bir üretim kültürüne karşı  $\alpha$ -glukozidaz inhibitör aktivitelerini incelemiştir. Alfa-glukozidaz inhibitör aktivitesi EPS içeren yoğurtta daha belirgin olduğu sonucuna ulaşmışlardır. EPS'lerin tam olarak etki mekanizmaları bilinemediğinden mekanizmanın enzimin aktif yerine bağlanması için substrat ile rekabet ettiğini ve böylece oligosakkaritlerin disakkaritlere parçalanmasını önlediği düşünülmüştür.

Zhao ve ark [132] tarafından in vivo olarak yürütülen çalışmada deney hayvanları 5 gruba ayrılmıştır. Kontrol grup (NG) fareler normal diyet ile beslenirken diğer gruplara %40'ı yüksek yağlı besinlerden oluşacak şekilde diyet müdahalesi yapılmıştır. 4 hafta boyunca *L. paracasei* JY062 grubu (JY062) 0.2 mL *L. paracasei* JY06; EPS grubu 0.2 mL EPS solüsyonu; EPP grubu da EPS - *L. paracasei* JY062 (0.2 mL) ayrıca takviye edilirken, NG ve diabetik grup (DG) farelere 0.2 mL yağsız süt verilmiştir ve kan şekeri seviyeleri 4.hafta sonunda kaydedilmiştir. Dört haftanın sonunda DG, JY062, EPP ve EPS grubu farelere intraperitoneal olarak streptozosin (STZ) (30 mg/kg vücut ağırlığı) enjekte edilirken NG grubundaki farelere eşit miktarlarda sitrik asit tamponu verilmiştir ve tüm deney gruplarının açlık kan şekeri seviyeleri 12.haftaya kadar kaydedilmiştir. İlk 4 haftalık beslenme farklılığında JY062, EPP ve EPS gruplarını açlık kan şekeri seviyesi DG grubuna göre önemli ölçüde düşük olduğu tespit edilmiştir. 5.haftada STZ enjeksiyon edilen tüm gruplarda açlık kan şekeri yüksek olarak ölçülürken 13.27 mmol/L ile en yüksek DG 'de saptanmıştır. 6-12. hafta ölçümlerinde DG'un açlık kan seviyesi artışı gözlemlenirken JY062, EPP ve EPS grubu farelerde bu değer azalmıştır. Ayrıca en yüksek AUC, HbA1c ve LPS seviyeleri DG 'de saptanmıştır. Serum TG, TC, FFA, LDL-C ve insülin yine en yüksek DG'de ölçülürken JY062, EPP ve EPS gruplarında ciddi bir azalma olmuştur. HDL-C içeriği NG grubunda 6.44 mmol/L iken 3.55 mmol/L ile DG en düşük seviyeye düşmüştür. Diyet müdahale gruplarından en yüksek HDL-C değeri EPP grubunda (6.11 mmol/L) bulunmuştur ve bunu sırasıyla EPS (4.79 mmol/L) ve JY02 (4.00 mmol/L) izlemiştir. Bu sonuçlar, *L. paracasei* JY062 veya EPS'nin farelerde kan şekeri ve lipid metabolizmasını iyileştirebileceği

hipotezini destekler niteliktedir. Bununla beraber *L. paracasei* JY062 ve EPS kombinasyonun en iyi sonuçlara sahip olduğu bulunmuştur.

### Alfa Amilaz İnhibisyonu

Alfa-amilaz, glikojen ve nişastanın hidrolizi aracılığıyla insan tokluk kan glukoz seviyesinin artmasında önemli bir role sahip enzimdir. Bu enzimin aktivitesinin inhibisyonu, tip II diyabetin kontrolünde etkili bir strateji olarak düşünülebilir [133]. Akarboz gibi sentetik antidiyabetik ilaçların sürekli kullanımı mide-bağırsak bozuklukları olan hastalar için uygun olmayan karın şişkinliğine, bağırsak bozulmasına ve ishale neden olur [133, 134]. Bu kapsamda Hashemi ve ark. [133] tarafından yapılan çalışma ile *L. plantarum* LS5 ve LU5 suşlarının EPS'lerinin farklı konsantrasyonlarda alfa-amilaz inhibisyonunu değerlendirilmiştir. 400'de ( $\mu\text{g/ml}$ ) LS5-EPS ve LU5-EPS'nin inhibisyon aktiviteleri sırasıyla %34.43 ve 35.13 olarak saptanmıştır. Oysa ki Dilna ve ark. [17] *L. plantarum* RJF4'ün EPS'sinin 800'de ( $\mu\text{g/ml}$ ) %40 a-amilaz inhibisyon aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir. Alfa-amilaz inhibitöründeki EPS mekanizması net şekilde açıklanmamıştır; ancak inhibisyon aktivitelerinin EPS'nin kaynağına, şeker bileşimine, moleküler ağırlığına ve kullanılan konsantrasyona bağlı olduğu sonucuna varılabilir [133].

### EPS'nin Diğer Sağlık Etkileri

#### EPS'nin Yara İyileştirici Özelliği

Cilt dışardan vücuda girecek olan patojenlere karşı ilk bariyer görevini üstlenen ,termoregülatör işlev gören ve immünolojik süreçlere katılan önemli bir yapıdır [135]. Cildin mikrobiyotası sağlığını ve homeostasını korur [135]; ancak fiziksel ya da kimyasal yanıklar, bağ dokusu bozuklukları, diyabet gibi metabolik hastalıklar,iltihaplanma, ameliyat gibi yaralanmalarla bu homeostas değişir [135, 136]. Her ne kadar sağlıklı insanlarda yaraların iyileşme süreci birkaç günün alsada diyabet hastalarında olduğu gibi bazı yaraların iyileşmesi daha uzun sürer veya hiç iyileşmez. Bu hastalar ilaç kullanımı ile tedavi olabilirler. Mevcut yaraların çoğu için iyileştirici ilaçlar maliyetlidir ve çeşitli yan etkilere neden olur. Bu nedenle, güvenli, maliyet bakımından düşük ve hastalar tarafından daha iyi tolere edilebilen etkili yara iyileştirme biyoaktif bileşiklerine sürekli bir talep vardır [135]. Yara iyileşmesinin majör fazları; inflamasyon, proliferasyon (granülasyon doku formasyonu) ve remodeling fazları olup bu fazların birbiri ile entegre sürelerde gerçekleştiği bilinmektedir [136]. Son yıllarda yapılan çalışmalar deniz bakterilerinden elde edilen EPS'nin kemik restorasyonuna, bağ dokularının çoğalmasına ve yara iyileşmesine yardımcı olan özellikler sergilediğini göstermektedir [137].

Trabelsi ve ark. tarafından 2017 yılında yapılan çalışmada *Lactobacillus* sp.Ca<sub>6</sub> tarafından üretilen  $\alpha$

(1→6) bağlı glukoz birimlerinden oluşan EPS'nin yara iyileştirici özelliği değerlendirilmiştir. Bu anlamda 2–3 aylık ve 190±9 g ağırlığındaki fareler intramolaküler eneksiyonla ketaminle total anesteziye maruz kalmış ve göğüs bölgelerinde 150–200 mm<sup>2</sup>lik bir yara alanı oluşturulmuştur. Deney hayvanları 4 gruba ayrılmıştır. İlk grupta yara tedavisi için herhangi bir madde kullanılmamıştır. Grup 2,3 ve 4 için ise sırasıyla; gliserol, Cytol Centella® ve gliserol ile hazırlanmış 15 mg/mL EPS-Ca<sub>6</sub> içeren krem kullanılmıştır. Yaranın oluşturulduğu gün 0.gün olarak kabul edilmiş ve grup 2, 3 ve 4 için krem iki günde bir ince tabaka halinde tedavi uygulanmıştır. Pansuman aralıkları boyunca yaralar rengi, iltihaplanması ve yeniden epitelizasyonu açısından takip edilmiştir. Tedavinin ilk 7 günlük kısmında EPS ile pansuman yapılan yaraların diğer metotlarla tedavi edilen yaralara göre daha temiz olduğu gözlemlenmiş, şişme ve kızarıklık gibi inflamasyonlar tespit edilmemiştir. Deneyin 7. gününde hem Grup 3 hem de Grup 4'ün kabuk dokusu düşmüştür ve yaralar sağlıklı, temiz ve pembemsi bir renk almışken diğer iki grup için 8.günden sonra bile kabuklanma devam etmiştir. 14 günlük tedavinin sonunda grup 3 ve 4 teki yaraların tamamen kapandığı grup 1 ve 2'nin ise hala açık yara halinde olduğu görülmüştür. EPS-Ca<sub>6</sub> ile tedavi edilen farelerde yara kapanma yüzdesi 9. günde %89.4, 13. günde %97.91 olarak kaydedilmiştir. Benzer şekilde epitel rejenerasyon 1. ve 2. gruplarda grup 3 ve 4 e göre daha az organize olduğu ve henüz tamamlanmadığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, EPS-Ca<sub>6</sub>'nın biyoyumluluğunun, yara iyileşmesi için gerekli büyüme faktörlerini üretmek için yara bölgesindeki çevreleyen sağlıklı hücreleri uyurabileceğini yara kapanmasını hızlandırabileceğini göstermiş olup dermal yaraların iyileşmesi için terapötik bir ajan olarak uygulanabileceğini göstermiştir [138]. Yapılan bir diğer çalışmada insan fibroblast hücreleri mikro plaka kuyucuğunda  $3 \times 10^5$  kob/kuyu yoğunluğunda olacak şekilde 6 kuyucukta bir gece boyunca 37°C'de ve %5.0 CO<sub>2</sub>'de %5.0 FBS-DMEM ortamında inkübe edilmiştir. Ertesi gün, birleşik tek tabakaya yatay çizikler eklenmiştir. Plaka PBS ile iyice yıkanmıştır, kontrol oyukları taze bir ortamla doldurulurken ve ikinci oyuklar *Lactiplantibacillus plantarum* E16 tarafından üretilmiş olan E16-EPS'sini içeren taze ortamla muamele edilmiştir ve 37°C'de 5.0% CO<sub>2</sub> varlığında inkübe edilmiştir. 0, 24 ve 48. saatlerde mikroskop altında görüntüleme yapılmıştır. 24 saat sonra, E16-EPS ile tedavi edilen hücreler kontrol grubundaki %41'e kıyasla %50 yara kapanması gösterirken, 48 saatte E16-EPS ile tedavi edilen hücreler kontrol grubundaki %60'a kıyasla %77 yara kapanması göstermiştir. Bu bulgular, E16-EPS'nin yara iyileşmesi ve hücre göçü biyoaktivitesine sahip olduğunu ve bu da onu çeşitli terapötik ve farmakolojik uygulamalar için uygun hale getirdiğini göstermektedir [135].

## Antimikrobiyal Etki

Son yıllarda artan antimikrobiyal direnç çok ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir ve yeni antimikrobiyal ilaçlara olan talebi arttırmıştır. LAB'den türetilen EPS'lerin *in vitro* olarak gram pozitif ve gram negatif patojenlere veya gastrointestinal sistemdeki patojenik bakterilere karşı antagonistik etkiler gösterebileceğini birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur [3,139]. Örneğin; *Salmonella enterica* ATCC 43972 ve *Micrococcus luteus*, *Lactobacillus* sp.'den izole edilen EPS-Ca<sub>6</sub> tarafından etkili bir şekilde inhibe edilmiştir [138]. *Lactobacillus gasserii* tarafından üretilen HePS, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* gibi çeşitli gıda kaynaklı patojenlere karşı *in vitro* antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir [140].

Noda ve ark. [141] armuttan izole edilen bir laktik asit bakteri suşunun, (*Lactobacillus plantarum* SN35N), negatif yüklü asidik ekzopolisakkarit (EPS) ürettiğini tespit etmiştir. Bu suştan elde edilen asidik EPS'nin bir norovirüs modeli olarak tanınan influenza virüsüne (*Alphainfluenzavirus Influenza A* virüsü) ve feline calicivirus'e (*Vesivirus Feline calicivirus*) karşı engelleyici bir etki gösterdiği bulunmuştur. Alvarez ve ark. [142] tarafından *L.plantarum* A6'dan izole edilen EPS yenilebilir ambalaj yaklaşımıyla çeri domates kaplanmasında kullanılmıştır. *Fusarium* sp., *Aspergillus niger* ve *Rhizopus stolonifer*'e karşı incelenmiştir. Çalışma bu EPS'nin *Fusarium* sp. ve *Rhizopus stolonifer*'e karşı antifungal ajan olarak kullanabileceğini gösterilmiştir.

EPS'lerin *in vivo* antimikrobiyal aktivitesi probiyotiklerin gastrointestinal sistem yüzeyini kolonize etmesine yardımcı olan prebiyotik etkisi ve böylece konakçıda patojenik bakterilerin rekabetçi inhibisyonunu arttırması ile açıklanabilir [139, 141].

## Antiülser Etkisi

Ülser, mide ya da onikiparmak bağırsağının (duodenum), sindirim sıvıları ve mide asidi gibi tahriş edici vücut sıvıları tarafından tahrip edilmesi ve doku kaybı meydana gelmesidir. Mide ülserlerine esas olarak *Helicobacter pylori* enfeksiyonları ve nonsteroid antiinflatuar ilaçların (NSAID'ler) uzun süreli kullanımı sonucu oluşur. Bu faktörler mide epitel hücreleri üzerinde toksik etkilere, mukozal kan akışında azalmaya, lökositlerin vasküler endoteliuma yapışmasına ve proinflatuar sitokinlerin ekspresyonu ile inflamatuvar sürecin amplifikasyonuna neden olabilir [143].

EPS üreticisi bakteri içeren gıdaların GI ülser durumundaki olumlu etkileri sınırlı çalışmalarda incelenmiştir. Örneğin *in vivo* bir çalışmada, EPS üreten *Streptococcus thermophilus* CRL 1190 FM ile fermente

sütle önleyici olarak tedavi edilen farelerde, Asetil-salisilik asit (ASA) uygulamasından sonra gastrit gelişmediği gözlemlenmiştir (144). Ayrıca çalışmada EPS'nin mide mukozasına yapışabilme özelliği olduğunu öne sürmüşlerdir [143, 144]. Benzer bir çalışmada, *S. thermophilus* CRL1190 ve metabolitlerinin, inflamatuvar yanıtı düzenlediğini, ayrıca *H. pylori*'nin tutunmasını engellediğini ve sonuç olarak gastro-koruyucu etkisini ortaya koymuştur [145].

## SONUÇ

Bulduğumuz yüzyılda LAB'leri üretmiş oldukları metabolitlerle tüketicilerin daha doğal ve daha faydalı ürün yönündeki isteğini karşılayabilen bakterilerdir. Hücre dışına sentezledikleri EPS'leri, LAB için mikrobiyal florada karşılaşabilecekleri olumsuz koşullara karşı direnç göstermesini sağlayan organik polimer olarak karşımıza çıkmıştır. Araştırmacılar ilk etapta endüstriyel alandaki önemi nedeniyle EPS'lerin izolasyonu, saflaştırılması ve karakterizasyonu üzerine yoğunlaşmıştır. Günümüzde EPS'ye olan araştırma ilgisi, sağlık yararları nedeniyle de artmaktadır ve birçok çalışmada prebiyotik, anti-tümör, anti-oksidan ve kolesterol düzenleyici vb. etkileri kanıtlanmıştır. Bu derleme okuyucularına laktik asit bakterileri EPS'lerinin sağlığını üzerine terapötik etkilerini inceleyen araştırmaları sunmuştur. Nitekim bu çalışmalar doğrultusunda EPS'nin tüm potansiyelini ortaya çıkarmak için *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların arttırılması gerektiği görüşü savunulmaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Zapašnik, A., Sokolowska, B., Bryła, M. (2022). Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety. *Foods*, 11(9), 1283.
- [2] Mathur, H., Beresford, T.P., Cotter, P.D. (2020). Health benefits of lactic acid bacteria (LAB) fermentates. *Nutrients*, 12(6), 1679.
- [3] Prete, R., Alam, M.K., Perpetuini, G., Perla, C., Pittia, P., Corsetti, A. (2021). Lactic acid bacteria exopolysaccharides producers: A sustainable tool for functional foods. *Foods*, 10(7), 1653.
- [4] Tiwari, S., Kavitate, D., Devi, P.B., Shetty, P.H. (2021). Bacterial exopolysaccharides for improvement of technological, functional and rheological properties of yoghurt. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1585-1595.
- [5] Daba, G.M., Elnahas, M.O., Elkhateeb, W. A. (2021). Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 173, 79-89.
- [6] Lynch, K.M., Zannini, E., Coffey, A., Arendt, E.K. (2018). Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: Isolation, properties,



- characterization, and health benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9, 155-176.
- [7] Zhou, Y., Cui, Y., Qu, X. (2019). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review. *Carbohydrate polymers*, 207, 317-332.
- [8] Sørensen, H. M., Rochfort, K.D., Maye, S., MacLeod, G., Brabazon, D., Loscher, C., Freeland, B. (2022). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Production, purification and health benefits towards functional food. *Nutrients*, 14(14), 2938.
- [9] Casillo, A., Lanzetta, R., Parrilli, M., Corsaro, M.M. (2018). Exopolysaccharides from marine and marine extremophilic bacteria: Structures, properties, ecological roles and applications. *Marine Drugs*, 16(2), 69.
- [10] Ates, O. (2015). Systems biology of microbial exopolysaccharides production. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 3, 200.
- [11] Sutherland, I.W. (2007). Bacterial exopolysaccharides. In: Kamerling JP, Editor. *Comprehensive Glycoscience*. Oxford: Elsevier, 521–57.
- [12] Badel, S., Bernardi, T., Michaud, P. (2011). New perspectives for *Lactobacilli* exopolysaccharides. *Biotechnology Advances*, 29(1), 54-66.
- [13] Zeidan, A.A., Poulsen, V.K., Janzen, T., Buldo, P., Derkx, P.M., Øregaard, G., Neves, A.R. (2017). Polysaccharide production by lactic acid bacteria: From genes to industrial applications. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(Supp\_1), S168-S200.
- [14] Sutherland, I.W. (2001). Microbial polysaccharides from gram-negative bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), 663-674.
- [15] Welman, A.D., Maddox, I.S. (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Perspectives and Challenges. *Trends In Biotechnology*, 21(6), 269-274.
- [16] Ismail, B., Nampoothiri, K.M. (2010). Production, purification and structural characterization of an exopolysaccharide produced by a probiotic *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510. *Archives of Microbiology*, 192(12), 1049-1057.
- [17] Dilna, S.V., Surya, H., Aswathy, R.G., Varsha, K.K., Sakthikumar, D.N., Pandey, A., Nampoothiri, K.M. (2015). Characterization of an exopolysaccharide with potential health-benefit properties from a probiotic *Lactobacillus plantarum* RJF4. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1179-1186.
- [18] Jurášková, D., Ribeiro, S.C., Silva, C.C. (2022). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: From biosynthesis to health-promoting properties. *Foods*, 11(2), 156.
- [19] Dertli, E., Mercan, E., Arıcı, M., Yılmaz, M.T., Sağdıç, O. (2016). Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics. *LWT-Food Science And Technology*, 71, 116-124.
- [20] Kanmani, P., Albarracin, L., Kobayashi, H., Lida, H., Komatsu, R., Kober, A.H., Ohtsubo, W.I., Suda, Y., Aso, H., Makino, S., Kano, H., Saito, T., Villena, J., Kitazawa, H. (2018). Exopolysaccharides from *Lactobacillus delbrueckii* OLL1073R-1 modulate innate antiviral immune response in porcine intestinal epithelial cells. *Molecular Immunology*, 93, 253-265.
- [21] Nachtigall, C., Vogel, C., Rohm, H., Jaros, D. (2020). How capsular exopolysaccharides affect cell surface properties of lactic acid bacteria. *Microorganisms*, 8(12), 1904.
- [22] Yang, Z., Li, S., Zhang, X., Zeng, X., Li, D., Zhao, Y., Zhang, J. (2010). Capsular and slime-polysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* JAAS8 isolated from Chinese sauerkraut: potential application in fermented milk products. *Journal of Bioscience And Bioengineering*, 110(1), 53-57.
- [23] Freitas, F., Alves, V.D., Reis, M.A., Crespo, J.G., Coelho, I.M. (2014). Microbial polysaccharide-based membranes: Current and future applications. *Journal of Applied Polymer Science*, 131(6), 40047.
- [24] Harutoshi, T. (2013). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria for food and colon health applications. In *Lactic acid bacteria-R & D for food, health and livestock purposes*. IntechOpen.
- [25] Karaca, H., Dinçer, E., Kıvanç, M. (2010). Metabolik mühendisliğinde laktik asit bakterileri. *Akademik Gıda*, 8(1), 32-38.
- [26] Kajala, I., Shi, Q., Nyssölä, A., Maina, N.H., Hou, Y., Katina, K., Tenkanen, M., Juvonen, R. (2015). Cloning and characterization of a *Weissella confusa* dextransucrase and its application in high fibre baking. *Plos One*, 10(1), E0116418.
- [27] Ahmad, N.H., Mustafa, S., Che Man, Y.B. (2015). Microbial polysaccharides and their modification approaches: A review. *International Journal Of Food Properties*, 18(2), 332-347.
- [28] Delvart, A., Moreau, C., Cathala, B. (2022). Dextrans and dextran derivatives as polyelectrolytes in layer-by-layer processing materials—A review. *Carbohydrate Polymers*, 119700.
- [29] Patel, A., Prajapati, J.B., Holst, O., Ljungh, A. (2014). Determining probiotic potential of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from vegetables and traditional Indian fermented food products. *Food Bioscience*, 5, 27-33.
- [30] Ryan, P.M., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Caplice, N.M., Stanton, C. (2015). Sugar-coated: exopolysaccharide producing lactic acid bacteria for food and human health applications. *Food & Function*, 6(3), 679-693.

- [31] Zannini, E., Waters, D.M., Coffey, A., Arendt, E.K. (2016). Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(3), 1121-1135.
- [32] Kim, K., Lee, G., Thanh, H.D., Kim, J.H., Konkitt, M., Yoon, S., Park, M., Yang, S., Park, E., Kim, W. (2018). Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* LRCC5310 offers protection against rotavirus-induced diarrhea and regulates inflammatory response. *Journal Of Dairy Science*, 101(7), 5702-5712.
- [33] Abid, Y., Casillo, A., Gharsallah, H., Joulak, I., Lanzetta, R., Corsaro, M.M., Attia, H., Azabou, S. (2018). Production and structural characterization of exopolysaccharides from newly isolated probiotic lactic acid bacteria. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 108, 719-728.
- [34] Bengoa, A.A., Llamas, M.G., Iraporda, C., Dueñas, M.T., Abraham, A.G., Garrote, G.L. (2018). Impact of growth temperature on exopolysaccharide production and probiotic properties of *Lactobacillus paracasei* strains isolated from kefir grains. *Food Microbiology*, 69, 212-218.
- [35] Tsuda, H., Miyamoto, T. (2010). Production of exopolysaccharide by *Lactobacillus plantarum* and the prebiotic activity of the exopolysaccharide. *Food Science and Technology Research*, 16(1), 87-92.
- [36] Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J.M., Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 1-16.
- [37] Dal Bello, F., Walter, J., Hertel, C., Hammes, W.P. (2001). In vitro study of prebiotic properties of levan-type exopolysaccharides from *Lactobacilli* and non-digestible carbohydrates using denaturing gradient gel electrophoresis. *Systematic and Applied Microbiology*, 24(2), 232-237.
- [38] O'Connor, E.B., Barrett, E., Fitzgerald, G., Hill, C., Stanton, C., Ross, R.P. (2006). Production of vitamins, exopolysaccharides and bacteriocins by probiotic bacteria. in probiotic dairy products, A. Tamime (Ed.) 167-194.
- [39] Das, D., Baruah, R., Goyal, A. (2014). A food additive with prebiotic properties of an  $\alpha$ -d-glucan from *Lactobacillus plantarum* DM5. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 20-26.
- [40] Yılmaz-Ersan, L., Özcan, T., Akpınar-Bayazit, A., Delikanlı, B. (2016). Bifidojenik faktör olarak laktoz türevlerinin önemi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30(2), 79-90.
- [41] Hongpattarakere, T., Chertong, N., Wichienchot, S., Kolida, S., Rastall, R.A. (2012). In vitro prebiotic evaluation of exopolysaccharides produced by marine isolated lactic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers*, 87(1), 846-852.
- [42] Caggianiello, G., Kleerebezem, M., Spano, G. (2016). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(9), 3877-3886.
- [43] Gopal, P.K., Sullivan, P.A., Smart, J.B. (2001). Utilisation of galacto-oligosaccharides as selective substrates for growth by lactic acid bacteria including *Bifidobacterium lactis* DR10 and *Lactobacillus rhamnosus* DR20. *International Dairy Journal*, 11(1-2), 19-25.
- [44] Kaplan, H., Hutkins, R.W. (2003). Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei* 1195. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(4), 2217-2222.
- [45] Huebner, J., Wehling, R.L., Hutkins, R.W. (2007). Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 17(7), 770-775.
- [46] Kekkonen, R., Ahlroos, T., Suomalainen, T., Tynkkynen, S., Poussa, T., Nevala, R., Korpela, R. (2007). A combination of galacto-oligosaccharides and *Lactobacillus* GG increases *Bifidobacteria* to a greater extent than *Lactobacillus* GG on its own. *Milchwissenschaft*, 62(3), 326-330.
- [47] Lebeer, S., Verhoeven, T.L., Perea Vélez, M., Vanderleyden, J., De Keersmaecker, S.C. (2007). Impact of environmental and genetic factors on biofilm formation by the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(21), 6768-6775.
- [48] Salazar, N., Ruas-Madiedo, P., Kolida, S., Collins, M., Rastall, R., Gibson, G., Clara, G. (2009). Exopolysaccharides produced by *Bifidobacterium longum* IPLA E44 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* IPLA R1 modify the composition and metabolic activity of human faecal microbiota in pH-controlled batch cultures. *International Journal Of Food Microbiology*, 135(3), 260-267.
- [49] Fanning, S., Hall, L. J., Cronin, M., Zomer, A., Macsharry, J., Goulding, D., Motherway, M., O., Shanahan, F., Nally, K., Dougan, G. Van Sinderen, D. (2012). Bifidobacterial surface-exopolysaccharide facilitates commensal-host interaction through immune modulation and pathogen protection. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 109(6), 2108-2113.
- [50] Hidalgo-Cantabrana, C., López, P., Gueimonde, M., De Los Reyes-Gavilán, C.G., Suárez, A., Margolles, A., Ruas-Madiedo, P. (2012). Immune modulation capability of exopolysaccharides synthesised by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 4(4), 227-237.
- [51] Yasuda, E., Serata, M., Sako, T. (2008). Suppressive effect on activation of macrophages by *Lactobacillus casei* strain shirota genes determining the synthesis of cell wall-associated polysaccharides. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 4746-4755.
- [52] Bleau, C. 1., Monges, A., Rashidan, K., Laverdure, J. P., Lacroix, M., Van Calsteren, M.R., Millette, M.,





- Savard, R., Lamontagne, L. (2010). Intermediate chains of exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M increase IL-10 production by macrophages. *Journal of Applied Microbiology*, 108(2), 666-675.
- [53] Remus, D.M., Van Kranenburg, R., Van Swam, I.I., Taverne, N., Bongers, R.S., Wels, M., Wells, J., M., Bron, P., A., Kleerebezem, M. (2012). Impact of 4 *Lactobacillus plantarum* capsular polysaccharide clusters on surface glycan composition and host cell signaling. *Microbial Cell Factories*, 11(1), 1-10.
- [54] Zhou, X., Zhang, D., Qi, W., Hong, T., Xiong, T., Wu, T., Geng, F., Xie, M., Nie, S. (2021). Exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* NCU116 facilitate intestinal homeostasis by modulating intestinal epithelial regeneration and microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(28), 7863-7873.
- [55] Chey, W.D., Kurlander, J., Eswaran, S. (2015). Irritable bowel syndrome: A clinical review. *Jama*, 313(9), 949-958.
- [56] Adriani, A., Ribaldone, D.G., Astegiano, M., Durazzo, M., Saracco, G.M., Pellicano, R. (2018). Irritable bowel syndrome: The clinical approach. *Panminerva Medica*, 60(4), 213-222.
- [57] Camilleri, M. (2018). Management options for irritable bowel syndrome. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 93, No. 12, Pp. 1858-1872). Elsevier.
- [58] Kaur, C., Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables-The millennium's health. *International Journal of Food Science & Technology*, 36(7), 703-725.
- [59] Xu, R., Shang, N., Li, P. (2011). In vitro and in vivo antioxidant activity of exopolysaccharide fractions from *Bifidobacterium animalis* RH. *Anaerobe*, 17(5), 226-231.
- [60] Karabulut, H., Gülay, M.Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 4(1), 50-59.
- [61] Finkel, T., Holbrook, N.J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239-247.
- [62] Melov, S., Ravenscroft, J., Malik, S., Gill, M.S., Walker, D.W., Clayton, P.E., Wallace, D.E., Malfroy, B., Doctrow, S., R., Lithgow, G.J. (2000). Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science*, 289(5484), 1567-1569.
- [63] Liu, C.F., Tseng, K.C., Chiang, S.S., Lee, B.H., Hsu, W.H., Pan, T.M. (2011). Immunomodulatory and antioxidant potential of *Lactobacillus* exopolysaccharides. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 91(12), 2284-2291.
- [64] Pan, D., Mei, X. (2010). Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 12. *Carbohydrate Polymers*, 80(3), 908-914.
- [65] Zhang, L., Liu, C., Li, D., Zhao, Y., Zhang, X., Zeng, X., Yang, Z., Li, S. (2013). Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. *International Journal of Biological Macromolecules*, 54, 270-275.
- [66] Seo, B.J., Bajpai, V.K., Rather, I.A., Park, Y.H. (2015). Partially purified exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* YML009 with total phenolic content, antioxidant and free radical scavenging efficacy. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 49(4), 282-292.
- [67] Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Deemer, E.K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3122-3128.
- [68] Koca, N., Karadeniz, F. (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 16, 32-37.
- [69] Karabulut, H., Gülay, M.Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
- [70] Wang, C.L., Huang, T.H., Liang, T.W., Fang, C.Y., Wang, S.L. (2011). Production and characterization of exopolysaccharides and antioxidant from *Paenibacillus* sp. TKU023. *New Biotechnology*, 28(6), 559-565.
- [71] Sevim, D. (2011). Antioksidanlar ve Zeytinyağı. *Zeytin Bilimi*, 2(1), 43-47.
- [72] Valentão, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P.B., Seabra, R.M., Bastos, M.L. (2002). Antioxidative properties of cardoon (*Cynara cardunculus* L.) infusion against superoxide radical, hydroxyl radical, and hypochlorous acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4989-4993.
- [73] Li, W., Ji, J., Chen, X., Jiang, M., Rui, X., Dong, M. (2014). Structural elucidation and antioxidant activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus helveticus* MB2-1. *Carbohydrate Polymers*, 15(2), 351-359.
- [74] Xing, J., Wang, G., Zhang, Q., Liu, X., Gu, Z., Zhang, H., Chen, Y.Q., Chen, W. (2015). Determining antioxidant activities of *Lactobacilli* cell-free supernatants by cellular antioxidant assay: A comparison with traditional methods. *Plos One*, 10(3), E0119058.
- [75] Liu, C.F., Hu, C.L., Chiang, S.S., Tseng, K.C., Yu, R.C., Pan, T.M. (2009). Beneficial preventive effects of gastric mucosal lesion for soy- skim milk fermented by lactic acid bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(10), 4433-4438.
- [76] Wang, T., Jonsdottir, R., Ólafsdóttir, G. (2009). Total phenolic compounds, radical scavenging and

- metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chemistry*, 116(1), 240-248.
- [77] Lin, C., Wang, C., Chang, S., Inbaraj, B.S., Chen, B. (2009). Antioxidative activity of polysaccharide fractions isolated from *Lycium barbarum* Linnaeus. *International Journal of Biological Macromolecules*, 45(2), 146–151.
- [78] Zhang, Z., Liu, Z., Tao, X., Wei, H. (2016). Characterization and sulfated modification of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 and its biological activities. *Carbohydrate Polymers*, 153, 25–33.
- [79] Adesulu-Dahunsi, A.T., Sanni, A.I., Jeyaram, K. (2018). Production, characterization and in vitro antioxidant activities of exopolysaccharide from *Weissella cibaria* GA44. *LWT*, 87, 432-442.
- [80] Sirin, S., Aslim, B. (2020). Characterization of lactic acid bacteria derived exopolysaccharides for use as a defined neuroprotective agent against amyloid beta1–42-induced apoptosis in SH-SY5Y cells. *Scientific Reports*, 10(1), 1-18.
- [81] Min, W.H., Fang, X.B., Wu, T., Fang, L., Liu, C.L., Wang, J. (2019). Characterization and antioxidant activity of an acidic exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* JLAU103. *Journal of bioscience and bioengineering*, 127(6), 758-766.
- [82] Milardović, S., Iveković, D., Grabarić, B.S. (2006). A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, 68(2), 175-180.
- [83] Liu, C., Wang, C., Xu, Z., Wang, Y. (2007). Isolation, chemical characterization and antioxidant activities of two polysaccharide from the gel and the skin of *Aloe barbadensis* Miller irrigated with sea water. *Process Biochemistry*, 42(6), 961–970.
- [84] Peng, X., Xiong, Y.L., Kong, B. (2009). Antioxidant activity of peptide fractions from whey protein hydrolysates as measured by electron spin resonance. *Food Chemistry*, 113(1), 196-201.
- [85] Huang, S.Q., Ding, S., Fan, L. (2012). Antioxidant activities of five polysaccharides from *Inonotus obliquus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(5), 1183-1187.
- [86] Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
- [87] Xu, X., Qiao, Y., Peng, Q., Shi, B., Dia, V. P. (2022). Antioxidant and immunomodulatory properties of partially purified exopolysaccharide from *Lactobacillus casei* isolated from Chinese Northeast Sauerkraut. *Immunological Investigations*, 51(4), 748-765.
- [88] Adesulu-Dahunsi, A.T., Sanni, A.I., Jeyaram, K. (2018). Production, characterization and in vitro antioxidant activities of exopolysaccharide from *Weissella cibaria* GA44. *LWT*, 87, 432-442.
- [89] Li, S., Shah, N.P. (2014). Antioxidant and antibacterial activities of sulfated polysaccharides from *Pleurotus eryngii* and *Streptococcus thermophilus* ASCC1275. *Food Chemistry*, 165, 262–270.
- [90] Jiang, B., Wang, L., Zhu, M., Wu, S., Wang, X., Li, D., Liu, C., Feng, Z., Tian, B. (2021). Separation, structural characteristics and biological activity of lactic acid bacteria exopolysaccharides separated by aqueous two-phase system. *LWT*, 147, 111617.
- [91] Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- [92] Xu, R., Shang, N., Li, P. (2011). In vitro and in vivo antioxidant activity of exopolysaccharide fractions from *Bifidobacterium animalis* RH. *European Food Research and Technology*, 232, 231-241 17(5), 226-231.
- [93] Kim, D.Y., Shin, W.S. (2015). Unique characteristics of self-assembly of bovine serum albumin and fucoidan, an anionic sulfated polysaccharide, under various aqueous environments. *Food Hydrocolloids*, 44, 471-477.
- [94] Li, W., Tang, W., Ji, J., Xia, X., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., Zhou, J., Dong, M. (2015). Characterization of a novel polysaccharide with anti-colon cancer activity from *Lactobacillus helveticus* MB2-1. *Carbohydrate Research*, 411, 6-14.
- [95] Karunanithi, S., Levi, L. (2018). High-fat diet and colorectal cancer: Myths and facts. *Future Oncology*, 14(6), 493-495.
- [96] El-Deeb, N.M., Yassin, A.M., Al-Madboly, L.A., El-Hawiet, A. (2018). A novel purified *Lactobacillus acidophilus* 20079 exopolysaccharide, La-Eps-20079, molecularly regulates both apoptotic and Nf-Kb inflammatory pathways in human colon cancer. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 1-15.
- [97] Wu, J., Zhang, Y., Ye, L., Wang, C. (2021). The anti-cancer effects and mechanisms of lactic acid bacteria exopolysaccharides in vitro: A review. *Carbohydrate polymers*, 253, 117308.
- [98] Pavlopoulou, A., Spandidos, D.A., Michalopoulos, I. (2015). Human cancer databases. *Oncology Reports*, 33(1), 3-18.
- [99] Anonim. (2016). Kanser Nedir? Türk Tıbbi Onkoloji Derneği. <https://www.kanser.org/saglik/toplum/sayfa/kanser-nedir>
- [100] Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., Dong, M. (2014). Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International Journal of Biological Macromolecules*, 63, 133–139.
- [101] Zhao, Q., Xie, B., Yan, J., Zhao, F., Xiao, J., Yao, L., Zhao, B., Huang, Y. (2012). In vitro antioxidant and antitumor activities of polysaccharides extracted from *Asparagus officinalis*. *Carbohydrate Polymers*, 87(1), 392-396.

- [102]Gunnarsson, H., Ekholm, A., Olsson, L.I. (2013). Emergency presentation and socioeconomic status in colon cancer. *Ejso*, 39, 831-836.
- [103]Jiang, X., Zhang, Z., Chen, Y., Cui, Z., Shi, L. (2014). Structural elucidation and *in vitro* antitumor activity of a novel oligosaccharide from *Bombyx batryticatus*. *Carbohydrate Polymers*, 103, 434-441.
- [104]Choi, S.S., Kim, Y., Han, K.S., You, S., Oh, S., Kim, S.H. (2006). Effects of *Lactobacillus* strains on cancer cell proliferation and oxidative stress *in vitro*. *Letters in Applied Microbiology*, 42(5), 452-458.
- [105]Ewaschuk, J.B., Walker, J.W., Diaz, H., Madsen, K.L. (2006). Bioproduction of conjugated linoleic acid by probiotic bacteria occurs *in vitro* and *in vivo* in mice. *The Journal of Nutrition*, 136(6), 1483-1487.
- [106]Haghshenas, B., Nami, Y., Haghshenas, M., Abdullah, N., Rosli, R., Radiah, D., Yari Khosroushahi, A. (2015). Bioactivity characterization of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *Microbiologypopen*, 4(5), 803-813.
- [107]Rajoka, M.S.R., Jin, M., Haobin, Z., Li, Q., Shao, D., Jiang, C., Huang, Q., Yang, H., Shi, J., Hussain, N. (2018). Functional characterization and biotechnological potential of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from human breast milk. *Lwt*, 89, 638-647.
- [108]Vinderola, G., Perdigón, G., Duarte, J., Farnworth, E., Matar, C. (2006). Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirifaciens* on the gut mucosal immunity. *Cytokine*, 36(5-6), 254-260.
- [109]Patten, D.A., Leivers, S., Chadha, M.J., Maqsood, M., Humphreys, P.N., Laws, A.P., Collett, A. (2014). The structure and immunomodulatory activity on intestinal epithelial cells of the epps isolated from *Lactobacillus helveticus* sp. *rosyjski* and *Lactobacillus acidophilus* sp. 5e2. *Carbohydrate Research*, 384, 119-127.
- [110]Who. (2017). Cardiovascular diseases (Cvds). [http://www.who.int/en/newsroom/factsheets/detail/Cardiovascular-Diseases-\(Cvds\)](http://www.who.int/en/newsroom/factsheets/detail/Cardiovascular-Diseases-(Cvds)), (Ağustos 2018).
- [111]Ahire, J.J., Bhat, A.A., Thakare, J.M., Pawar, P.B., Zope, D.G., Jain, R.M., Chaudhari, B.L. (2012). Cholesterol assimilation and biotransformation by *Lactobacillus helveticus*. *Biotechnology Letters*, 34(1), 103-107.
- [112]Tsai, C.C., Lin, P.P., Hsieh, Y.M., Zhang, Z.Y., Wu, H.C., Huang, C.C. (2014). Cholesterol-lowering potentials of lactic acid bacteria based on bile-salt hydrolase activity and effect of potent strains on cholesterol metabolism *in vitro* and *in vivo*. *The Scientific World Journal*, 690752.
- [113]Alp, D., Ertürkmen, P. (2017). Probiyotik olarak kullanılan *Lactobacillus* spp. suşlarının kolesterol düşürücü etkileri ve olası mekanizmalar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(1), 108-113.
- [114]Pereira, D.I., Gibson, G.R. (2002). Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 37(4), 259-281.
- [115]Ruas-Madiedo, P., Salazar, N., De Los Reyes-Gavilan, C.G. (2009). Biosynthesis and chemical composition of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *bacterial polysaccharides: Current Innovations and Future Trends*, 279-310.
- [116]Lynch, K.M., Zannini, E., Coffey, A., Arendt, E.K. (2018). Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: Isolation, properties, characterization, and health benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9, 155-176.
- [117]Nakajima, H., Suzuki, Y., Hirota, T. (1992). Cholesterol lowering activity of ropy fermented milk. *Journal of Food Science*, 57(6), 1327-1329.
- [118]Sasikumar, K., Vaikkath, D.K., Devendra, L., Nampoothiri, K.M. (2017). An exopolysaccharide (eps) from a *Lactobacillus plantarum* Br2 with potential benefits for making functional foods. *Bioresource Technology*, 241, 1152-1156.
- [119]Welman, A.D. (2009). Exploitation of exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Nutritional and functional benefits. *Bacterial Polysaccharides: Current Innovations and Future Trends*, 331-344.
- [120]Bhat, B., Bajaj, B.K. (2018). Hypocholesterolemic and bioactive potential of exopolysaccharide from a probiotic *Enterococcus faecium* K1 isolated from Kalarei. *Bioresource Technology*, 254, 264-267.
- [121]Lin, Y., Sun, Z. (2010). Current views on type 2 diabetes. *The Journal Of Endocrinology*, 204(1), 1-11.
- [122]Atmaca, M.H., Ecemiş, G.C. (2012). Oral antidiyabetik ajanlar. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 29(1s), 23-29.
- [123]Kazeem, M.I., Adamson, J.O., Ogunwande, I.A. (2013). Modes of inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase by aqueous extract of *Morinda lucida* benth leaf. *Biomed Research International*.
- [124]Bayraktar, M. (2001). Oral hipoglisemikler. *Türkiye Tıp Dergisi*. 8(Ek 1), 35-44.
- [125]Manohar, V., Talpur, N.A., Echard, B.W., Lieberman, S., Preuss, H.G. (2002). Effects of a water-soluble extract of maitake mushroom on circulating glucose/insulin concentrations in kk mice. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 4(1), 43-48.
- [126]Kim, S.D., Nho, H.J. (2004). Isolation and characterization of  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from the fungus *Ganoderma lucidum*. *Journal Of Microbiology*, 42(3), 223-227.

- [127]Mccue, P., Kwon, Y.I., Shetty, K. (2005). Anti-amylase, anti-glucosidase and anti-angiotensin I-converting enzyme potential of selected foods. *Journal of Food Biochemistry*, 29(3), 278-294.
- [128]Ogunwande, I.A., Matsui, T., Fujise, T., Matsumoto, K. (2007). A-glucosidase inhibitory profile of Nigerian medicinal plants in immobilized assay system. *Food Science And Technology Research*, 13(2), 169-172.
- [129]Jong-Anurakkun, N., Bhandari, M.R., Kawabata, J. (2007). A-glucosidase inhibitors from Devil Tree (*Alstonia Scholaris*). *Food Chemistry*, 103(4), 1319-1323.
- [130]Ramchandran, L., Shah, N.P. (2009). Effect of exopolysaccharides and inulin on the proteolytic, angiotensin-I-converting enzyme and  $\alpha$ -glucosidase-inhibitory activities as well as on textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage. *Dairy Science & Technology*, 89(6), 583-600.
- [131]Chen, P., Zhang, Q., Dang, H., Liu, X., Tian, F., Zhao, J., Chen, Y., Zhang, H., Chen, W. (2014). Screening for potential new probiotic based on probiotic properties and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. *Food Control*, 35(1), 65-72.
- [132]Zhao, J., Wang, L., Cheng, S., Zhang, Y., Yang, M., Fang, R., Li, H., Man, C., Jiang, Y. (2022). A potential symbiotic strategy for the prevention of type 2 diabetes: *Lactobacillus paracasei* JY062 and exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* JY039. *Nutrients*, 14(2), 377.
- [133]Hashemi, S.M.B., Abedi, E., Kaveh, S., Mousavifard, M. (2022). Hypocholesterolemic, antidiabetic and bioactive properties of ultrasound-stimulated exopolysaccharide produced by *Lactiplantibacillus plantarum* strains. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 28, 100334.
- [134]Angelin, J., Kavitha, M. (2020). Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 853-865.
- [135]Zaghloul, E.H., Ibrahim, M.I. (2022). Production and characterization of exopolysaccharide from newly isolated marine probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* E16 with *in vitro* wound healing activity. *Frontiers in Microbiology*, 13.
- [136]Demir, A., (2022). Potansiyel Probiyotik *Lactobacillus plantarum* GD2 Tarafından Üretilen Ekzopolisakkarit'in (Eps) Yara İyileşme Özelliklerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [137]Priyanka, P., Arun, A.B., Ashwini, P., Rekha, P.D. (2016). Functional and cell proliferative properties of an exopolysaccharide produced by *Nitratireductor* sp. PRIM-31. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 400-404.
- [138]Trabelsi, I., Ktari, N., Slima, S.B., Triki, M., Bardaa, S., Mnif, H., Salah, R.B. (2017). Evaluation of dermal wound healing activity and *in vitro* antibacterial and antioxidant activities of a new exopolysaccharide produced by *Lactobacillus* sp. Ca6. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 194-201.
- [139]Jurášková, D., Ribeiro, S.C., Silva, C.C. (2022). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: From biosynthesis to health-promoting properties. *Foods*, 11(2), 156.
- [140]Rani, R.P., Anandharaj, M., Ravindran, A.D. (2018). Characterization of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus gasserii* FR4 and demonstration of its *in vitro* biological properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 772-783.
- [141]Noda, M., Danshiitsoodol, N., Sakaguchi, T., Kanno, K., Sugiyama, M. (2021). Exopolysaccharide produced by plant-derived *Lactobacillus plantarum* SN35N exhibits antiviral activity. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 44(12), 1886-1890.
- [142]Álvarez, A., Manjarres, J.J., Ramírez, C., Bolívar, G. (2021). Use of an exopolysaccharide-based edible coating and lactic acid bacteria with antifungal activity to preserve the postharvest quality of cherry tomato. *LWT*, 151, 112225.
- [143]Saadat, Y.R., Khosroushahi, A.Y., Gargari, B.P. (2019). A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 217, 79-89.
- [144]Rodríguez, C., Medici, M., Rodríguez, A.V., Mozzi, F., de Valdez, G.F. (2009). Prevention of chronic gastritis by fermented milks made with exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* strains. *Journal of Dairy Science*, 92(6), 2423-2434.
- [145]Marcial, G., Villena, J., Faller, G., Hensel, A., de Valdéz, G.F. (2017). Exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* CRL1190 reduces the inflammatory response caused by *Helicobacter pylori*. *Beneficial Microbes*, 8(3), 451-461.


## Mikoproteinler: Geleneksel Et ve Et Ürünlerine Bir Alternatif



Orhan Kaya<sup>1,2</sup>  , Ali Kozlu<sup>1,2</sup> , Öyküm Bahar Esen<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Pınar Entegre Et ve Un Sanayi A.Ş., Araştırma ve Geliştirme Merkezi, 35170 Kemalpaşa, İzmir

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

Geliş Tarihi (Received): 11.06.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 24.10.2022

 Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [orhan.kaya@pinaret.com.tr](mailto:orhan.kaya@pinaret.com.tr) (O. Kaya)

 0 232 877 0900  0 232 877 0950

### ÖZ

Dünya nüfusunda meydana gelen hızlı artış, mevcut gıda ihtiyacının günden güne artmasına neden olmaktadır. Hayvansal kaynaklı protein üretiminin zaman, enerji, maliyet ve çevre gibi faktörler üzerine olumsuz etkileri bulunabilmektedir. Dolayısıyla hızla artan küresel nüfusa yeterli gıda kaynağının sağlanması ve hayvansal bazlı protein üretimi süresince meydana gelebilecek söz konusu olumsuzlukların azaltılması gibi gereklilikler, geleneksel et ve et ürünleri gibi alışlagelmiş protein kaynaklarının alternatif içeriklerle değiştirilmesi yaklaşımını ortaya çıkarmıştır. Mikoproteinler tek hücre proteini olarak da bilinen mikrobiyal protein grubunda yer almakta; kısmen veya tamamen hayvansal bazlı proteinlerin yerini alabilmektedir. Aynı zamanda bunların üretiminde tarımsal endüstriyel atık maddelerinin substrat olarak kullanılabilmesi çevresel açıdan çok yönlü bir katkı sağlamaktadır. Mikoproteinler elzem amino asitler, karbonhidratlar ve vitaminler açısından zengin bir içeriğe sahiptir. Ayrıca toplam üretim maliyetinin düşük olması, sel ve kuraklık gibi iklimsel koşullardan ve alan sınırlamalarından bağımsız olarak üretilebilmesi gibi avantajları ile ön plana çıkmaktadır. Bu derlemede, mikoprotein üretimi için gerekli fermantasyon koşulları ve kullanılan substratlar, mikoproteinlerin besin değeri, mikoprotein ürünlerinin duyu özellikleri ve tüketicilerce kabulü, mikoproteinlerin et ikamesi olarak formülasyonlarda kullanımı ve çevre, sağlık ve güvenlik faktörleri üzerine etkisi hakkında bilgi verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Mikoprotein, Tek hücre proteini, Et alternatifi, Protein alternatifi

### Mycoproteins: An Alternative to Conventional Meat and Meat Products

#### ABSTRACT

The rapid increase in the world population has caused the current food demand to increase day by day. The production of animal-based proteins may have adverse effects on factors such as time, energy, cost and environment. Therefore, requirements such as providing sufficient food supply to the rapidly growing global population and reducing these undesired effects that may occur during the production of animal-based proteins have created an approach to replace conventional protein sources like traditional meat and meat products with alternative ingredients. Mycoproteins are in the group of microbial proteins, also known as single cell proteins and can partially or completely replace animal-based proteins. Also, the use of agricultural and industrial waste materials as a substrate in the production of mycoproteins provides a versatile contribution to the cleaner environment. They are rich in essential amino acids, carbohydrates and vitamins and have positive and effective properties like low total production costs and producibility that is independent from climatic challenges such as flood, drought and area limitations. In this review, information on fermentation conditions and substrates used for mycoprotein production, nutritional value of mycoproteins, sensory properties and consumer acceptance of mycoprotein products, the use of mycoproteins in formulations like meat substitutes, and the effect of mycoproteins on environmental, health and safety factors are presented.

**Keywords:** Mycoprotein, Single cell protein, Meat alternative, Alternative protein source

## GİRİŞ

Son yıllarda küresel nüfus büyük bir artış göstererek 2.6 milyardan 7 milyar kişiye yükselmiştir [1]. Dünya nüfusu günümüzde yılda yaklaşık %1.13 oranında artmakta ve mevcut ortalama nüfus değişikliği yılda 80 milyon kişi civarında olmaktadır [2]. Dünya nüfusu mevcut hızla artmaya devam ederse küresel nüfusun 2042'de 9 milyar kişiye ulaşabileceği ve bu nüfusu besleyebilmek için küresel gıda üretiminin %70-100 oranında artması gerektiği tahmin edilmektedir. Bu durum nedeniyle küresel nüfusa yiyecek sağlamakta zorlukların ortaya çıkabileceği öngörülmektedir [3, 4, 5].

Nüfus artışı tek başına küresel gıda talebini artırmasının yanı sıra, gelişmekte olan ülkelerde et ve süt ürünlerine yönelik kişi başına tüketim talebi özellikle kentsel nüfuslarda büyüyen orta sınıflar arasında giderek artmaktadır [6, 7]. Araştırmacılar, 195 ülkeyi değerlendiren bir çalışmada işlenmiş et tüketiminin tavsiye edilen miktardan %90 daha fazla, kırmızı et tüketiminin ise tavsiye edilen miktardan %18 daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir [8]. Yüksek miktarda et ürünleri tüketimi ise insan sağlığını tehdit edici sorunlardan biri olarak ele alınmaktadır [9, 10]. Yüksek protein alımının yan etkileri arasında bağırsak rahatsızlığı, hiperaminoasidemi, hiperamonyemi, hiperinsülinemi, bulantı, yorgunluk ve kardiyovasküler hastalıklar gibi riskler yer almaktadır [11]. Bu nedenle geçtiğimiz yıllarda Avustralya Ulusal Kalp Vakfı, diyet önerilerinde haftalık kırmızı et tüketim miktarını 350 gram ile sınırlandırmıştır [12]. Ayrıca Avustralyalı araştırmacıların gerçekleştirdikleri ürün yaşam döngüsü değerlendirmeleri sonucunda kırmızı et karbon ayak izinin 7.2-11.5 kg CO<sub>2</sub>/kg karkas ağırlığı arasında olduğu, enerji tüketiminin ise 24.3-29.5 MJ/kg karkas ağırlığı olduğu saptanmıştır [13]. Kalhor ve ark. [14] yapmış oldukları çalışmada ise kış aylarında 1 ton paketlenmiş tavuk eti üretiminde ortaya çıkan karbon ayak izinin 5357.61 kg CO<sub>2</sub>, yaz aylarında ise 2931.91 kg CO<sub>2</sub> olduğunu belirlemişlerdir. Kesimhane ve paketleme işlemlerindeki toplam enerji tüketiminin de 1 ton paketlenmiş ürün başına 133.46 GJ olduğunu saptamışlardır. Dana eti ve tavuk etinin su ayak izi raporları incelendiğinde 1 kg dana eti üretimi için 15500 litre su kullanıldığı, 1 kg tavuk eti üretimi için ise 3900 litre su kullanıldığı tespit edilmiştir [15]. Ayrıca et üretiminde, tahıllar için gerekli olandan 100 kat daha fazla su kullanımı gerçekleşmektedir. Dünya çapındaki çiftlik hayvanları ise, küresel ölçekteki tatlı suyun neredeyse dörtte birini kullanmaktadır [16, 17]. Ek olarak 2018 yılında yapılan bir çalışmada çöl olmayan ve buzla kaplı olmayan arazinin yaklaşık %43'ünün tarımsal alanları kapsadığını belirtilmiştir [18]. Ete yönelik artan talep de dünyadaki doğal alanların tarım arazisine dönüştürülmesinde rol oynamaktadır. Küresel ölçekte sığır, domuz ve diğer hayvanları yetiştirmek, tarım ürünü yetiştirmeye göre iki kat daha fazla arazi kullanımına neden olmaktadır. Ayrıca, hasat edilen bu tarım ürünlerinin üçte biri hayvancılık sektörü için kullanılmaktadır [19]. Dünya nüfusunun artmasına paralel olarak artacak olan tarımsal ve hayvansal ürün talebinin karşılanması durumunda doğal araziler

üzerindeki baskının daha da artması ve biyoçeşitlilik olumsuz yönde etkilemesi ile sonuçlanacağı düşünülmektedir [20]. Bu durum tüketiciler için sağlık sorunlarına ek olarak, yüksek miktarlarda et tüketiminin iklim değişikliğini ve gezegenimizdeki su kaynaklarını ciddi bir şekilde etkileyebileceğini göstermektedir.

Gelişmiş ülkelerdeki bireylerin diyetlerinde yüksek et tüketimi olmasına rağmen Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) tahminlerine göre, gelişmekte olan ülkelerdeki açlık, yetersiz beslenme ve çeşitli hastalıklar her yıl 12.000.000 insanın ölümüyle sonuçlanmaktadır [1, 21]. Yaşamın ilk yıllarında meydana gelen yetersiz beslenme ölüm riskinin artmasına ve kronik rahatsızlıklara neden olmaktadır. Günümüzde dünyada yaklaşık bir milyar insan (5 yaş altındaki 165 milyon çocuk dahil), yeterli enerji ve protein içeriğine sahip yiyeceklerle ulaşamamaktadır [22-24]. Kişinin diyetinde yeterli protein kaynağı bulunmaması da kas güçsüzlüğü, büyüme geriliği ve bağışıklık sisteminin zayıflaması gibi ciddi klinik sorunlara neden olabilmektedir. Ayrıca bebeklerde yetersiz miktarda arginin alımının meydana getirdiği gibi ciddi bir amino asit eksikliği bireyin ölümü ile sonuçlanabilmektedir [25]. Dünya nüfusunun giderek artması ve iklim krizi sebebiyle yeterli enerji ve protein içeriğine sahip ürünlere ulaşamayan kişi sayısının da giderek artacağı düşünülmektedir.

Sağlık ve çevresel etkilerinin yanı sıra hala etkisiz yitirmeyen Covid-19 pandemisi her ne kadar çiftlik hayvanları ile bir ilgisi bulunmasa da zoonotik viral enfeksiyonlar üzerine olan endişeleri giderek arttırmıştır. Son yıllarda, çoğunluğu virüslerle temsil edilen yeni insan patojenlerinin yaklaşık %75'inin hayvanlardan kaynaklandığı tahmin edilmektedir [26, 27, 28]. Domuzlar ile ilgili yapılan bir çalışmada, domuzlar için patojen olduğu bilinen altı koronavirüs belirlenmiştir. Bu korona virüslerinin bazılarının insan akciğeri ve bağırsak hücrelerine etkili bir şekilde bulaştığı ve insan serumu tarafından nötralize edilemediği tespit edilmiştir. Ayrıca bazı araştırmalarda, delta koronavirüs türlerinin kuşlardan memelilere geçme potansiyeli vurgulanmıştır [29-32]. Afrika Domuz Vebası salgını gibi modern hayvancılık endüstrisindeki sorunlar da alternatif proteinler için ek bir ivme sağlamaktadır. Diğer bir örnek ise ülkemizde de ortaya çıkan uluslararası kanatlı endüstrisi ve pazar paylarında kayıplara, arz kıtlığına, ticaret akışında aksamalara ve tüketici güveninin kaybolmasına neden olan kuş gribidir [33-35]. Sonuç olarak yalnızca vahşi hayvanlardan değil, aynı zamanda çiftlik hayvanlarından ortaya çıkabilecek herhangi bir zoonotik enfeksiyonun insan sağlığı için potansiyel risk oluşturduğu ve besi hayvanlarında öngörülemeyen salgınların küresel gıda güvenliğinde aksaklıklara neden olabileceği düşünülmektedir.

Artan nüfus ve çevre sorunları nedeniyle gıda krizi ve sağlıklı gıdaya ulaşma konularındaki endişeler alternatif protein kaynaklarından birisi olan tek hücre proteinini üretimi konusunda daha fazla çalışma yapılmasına neden olmuştur. Bu derlemede tek hücre proteinlerinden mikoproteinin besinsel özellikleri, mikoprotein üretimi ve fermentasyon koşulları, mikoproteinin çevre, sağlık ve güvenlik konuları üzerine etkisi ve mikoprotein



ürünlerinin duyuşal özellikleri ve tüketicilerce kabulü hakkında bilgi verilmiştir.

## ALTERNATİF PROTEİN KAYNAKLARI ve MİKOPROTEİN

Gıda endüstrisi son yıllarda gluten, soya proteini, bezelye proteini, bakla proteini, nohut proteini gibi özellikle bitkisel bazlı ürünler kullanılarak alternatif et ürünleri üzerine yapılan çalışmalara odaklanmıştır [36-39]. Ayrıca kültür eti ve üç boyutlu yazıcılar kullanılarak geliştirilen alternatif et ürünlerine de ilgi giderek artmaktadır [40-43]. Geleneksel et ürünlerinin diğer bir alternatifi olan tek hücre proteinleri ise; bakteri, maya, mantar veya mikroalglerin saf veya karışık kültüründen üretilen mikrobiyal kökenli bir protein olarak tanımlanabilmektedir [5]. Tek hücre proteininin kaynaklarından birisi de filamentli mikrofungustur. Mikrofungus kullanılarak üretilen proteinler mikoprotein olarak adlandırılmaktadır. Her ne kadar *Agaricus bisporus*, *Auricularia fuscusuccinea*, *Neurospora intermedia* ve *Pleurotus albidus* türleri de mikoprotein üretimi sağlasa da, *Fusarium venenatum* türü mikoprotein üretiminde en çok bilinen ve gıdalarda ticari olarak kullanılabilen fungustur [44-48]. *F. venenatum* büyük bir tahıl üreticisi ve Rank Hovis McDougall'ın (RHM) başkanı olan İngiliz sanayici Joseph Arthur Rank

ve Dr. Arnold Spicer'in çabalarıyla 1967'de Buckinghamshire kentinde keşfedilmiştir. Birleşik Krallık Gıda Standartları Komitesi'ni adını "mikoprotein" olarak adlandırdığı 1974 yılına kadar ürün, A3/5 olarak isimlendirilmiştir. 1983 yılında Birleşik Krallık Tarım, Balıkçılık ve Gıda Bakanlığı, mikoproteini ticari bir gıda bileşeni olarak kullanımını onaylamıştır. 2001 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), mikoproteini "genel olarak güvenli (GRAS)" olarak tanınan gıda sınıfına kabul etmiştir [44, 49, 50].

Mikoproteinin kimyasal özellikleri, geniş bir besin yelpazesini kapsadığını göstermektedir. Mikoprotein beslenme özellikleri üzerine bazı çalışmalar da literatürde mevcuttur [51-54]. Genel olarak değerlendirildiğinde, mikoprotein düşük yağ içeriği ve yüksek lif içeriği ile kalite bir protein kaynağıdır. Mikoprotein içeriğinde bulunan yağ, büyük ölçüde doymamış yağ asitlerinden ve ağırlıklı olarak sırasıyla omega-6, omega-3, linoleik ve linolenik asitlerden oluşmaktadır. Lif ise, diyet lifi olarak fizyolojik işlev gören ve mineral emilimi üzerine olumsuz etkisi olmayan kitin ve beta-glukanların karışımıdır. Mikoprotein iyi bir çinko ve selenyum kaynağı olmasına rağmen demir ve B12 vitamini seviyeleri kırmızı ete kıyasla düşüktür [55, 56, 57].

Tablo 1. Mikoprotein besin içeriği (100 g) [58]

*Table 1. Nutritional content of mycoprotein (100 g) [58]*

Besin İçeriği	Mikoprotein (Kuru Temelde)	Mikoprotein
Nem (g)	-	75.00
Protein (g)	45	11.25
Yağ (g)	13	3.25
Lif (g)	25	6.25
Karbonhidrat (g)	10	3.00
Enerji (kcal)	340	85
Kül (g)	3.4	0.85

Mikoproteinler genel olarak 100 g kuru temelde, 13 g yağ, 45 g protein, 10 g karbonhidrat, 25 g lif ve bazı vitamin ve mineralleri içermektedir (Tablo 1). Gönüllüler üzerinde yapılan araştırmalar, mikoproteinlerdeki proteinlerin biyolojik değerinin süt proteinlerine benzer olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca toksikoloji çalışmaları, mikoproteinlerin insan ve hayvan gelişimi üzerine olumsuz bir etki içermediğini doğrulamıştır. Mikoproteinlerin uzun veya kısa süreli tüketimi de genel sağlık sorunlarına yol açmamaktadır. Mikoproteinlerin, protein sindirilebilirliği düzeltilmiş amino asit skoru (PDCAAS) yaklaşık 1.0 olarak belirlenmiştir. Mikoproteinlerin içerdikleri lif miktarı da mineral emilimi üzerinde istenmeyen bir etki ortaya koymamaktadır. Bununla birlikte, insanların mikoproteinlere karşı intoleranslığına dair vaka raporları belgelenmiş ancak intolerans seviyesinin soya ve yumurtadan daha az olduğu tespit edilmiştir [58].

## MİKOPROTEİN ÜRETİMİ ve FERMANTASYON KOŞULLARI

Tek hücre proteinleri uygun koşullar altında mantarların, mayaların, bakterilerin ve alglerin fermantasyonu yoluyla üretilmektedir. Bu mantarlardan *F. venenatum*, yüksek

oranda protein biyokütlesine sahip ve ticari onayı bulunan bir mikoprotein kaynağıdır [59].

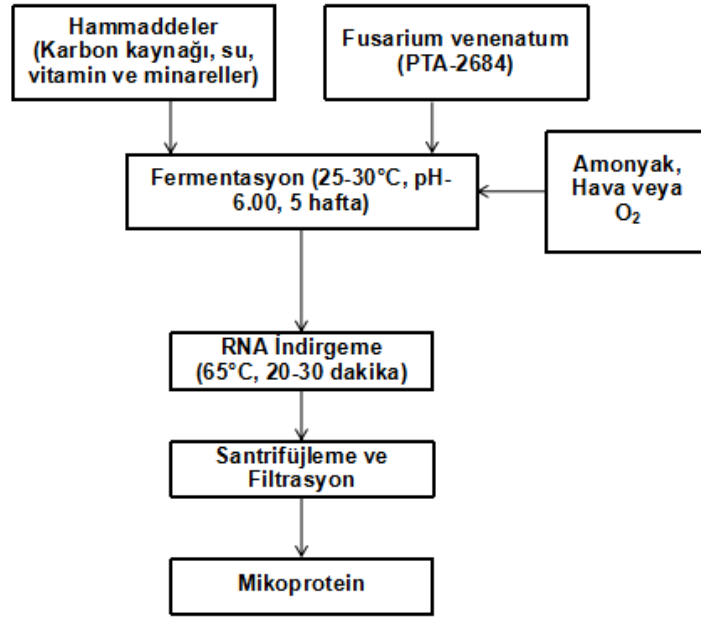
Tek hücre proteini üretim sürecinde çevre koşullarının korunması, maliyet ve güvenlik hususları en önemli faktörlerdir [60]. Fermantasyon ortamı, miselin büyümesi için gıda sınıfı karbonhidratları ve potasyum, magnezyum, fosfor, amonyum tuzları, iz elementler ve biyotin gibi diğer bileşenleri içermektedir [61]. Genellikle tek hücre proteinleri; katı, yarı katı veya yüzey kültürleri gibi tüm fermantasyon sistemlerinde üretilmektedir [60, 62, 63].

Mikoprotein fermantasyonun gerçekleşeceği besiyerinde karbon kaynağı olarak glikoz, azot kaynağı olarak amonyak veya amonyum kullanılabilir. Sıvı ve gazlar biyoreaktöre eklenmeden önce sterilize edilmektedir. Biyokütle konsantrasyonunu yansıtan CO<sub>2</sub> artış hızı, işlemin akış hızını belirlemektedir [64]. Fermantasyon işlemi boyunca hem sıcaklık (28–30°C) hem de pH (6.0) kontrol edilmektedir ve otomatik kontrollere sayesinde çevre koşulları sabit tutulabilmektedir. Mikoprotein üretimi aerobik bir işlemdir, bu nedenle hava veya herhangi bir ek oksijen kaynağı, biyoreaktör içinde çözünmüş oksijen seviyesine göre

ayarlanmaktadır. Optimum pH, sıcaklık, besin ve oksijen koşulları göz önüne alındığında, biyokütle her beş saatte iki katına çıkabilmektedir [50, 65]. Şekil 1'de mikoprotein üretim akış şeması görülmektedir.

Mikoprotein fermentasyonu sonucu elde edilen biyokütlenin nükleik asit içeriği, gerekli gıda güvenliği standartlarını karşılamak için azaltılmalıdır [51]. Nükleik asitler, yüksek büyüme hızına sahip mikrobiyal hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunma eğilimindedir ve gıdada fazla bulunmasıyla birlikte kandaki ürik asit değerinde yükselme meydana gelmektedir. Ürik asitteki fazlalık eklemlerde ve dokularda kristal kalıntılar halinde birikerek gut benzeri

belirtilere veya idrar yollarında taş oluşmasına neden olabilmektedir [66]. Biyokütlede bulunan nükleik asit miktarında azalma, ayrı bir reaktörde 64-65°C'de 20-30 dakika ısısal işleme tabi tutulmasıyla sağlanabilmektedir [67, 68]. Bu sıcaklıkta nükleik asitler, hücrelerin dışına difüze olabilen monomere indirgenmektedir. Hücrelerin nükleik asit içeriği azaltıldıktan sonra, biyokütlenin santrifüjleme ve ardından soğutma ile toplanması aşamaları bulunmaktadır. Santrifüjleme sırasında nükleik asit indirgeme işlemiyle salınan mononükleotitler uzaklaşmaktadır. Santrifüj veya filtreleme gibi ayırma işlemlerinden sonra tavuk göğsü dokusuna ve ekme hamuruna benzeyen macunumsu bir biyokütle elde edilmektedir [68].



Şekil 1. Mikoprotein üretim akış şeması

Figure 1. Mycoprotein production flow chart

Literatüre göre çeşitli mantar türleri mikoprotein üretiminde kullanılabilir. *F. venenatum* ise; amonyak, glikoz ve biyotin gibi bileşiklerini içeren ortamlarda yetiştirilebilmektedir [61, 69, 70]. Mikoproteinlerin toplam üretim maliyeti kullanılan substrallara bağlı olarak değişmektedir. Tarımsal sanayi yan ürünlerinin kaynak olarak kullanılması toplam maliyeti düşürebilmektedir [48, 71, 72]. Mikoprotein üretiminde bezelye işleme endüstrisinin yan ürünlerinin kaynak olarak kullanımı önerilmektedir. 1 ton bezelye işleme yan ürünlerinin kullanımının, sentetik ortamların kullanımından elde edilen mikobiyokütlelere kıyasla %38 daha fazla protein içeren 680 kg mikobiyokütle ile sonuçlanabileceği tahmin edilmektedir [73]. Bu nedenle söz konusu mikroorganizmalar; meyve atıkları, karbonhidratlar, nişastalar, melas ve meyve ve sebze atıkları dahil olmak üzere çeşitli substratlar kullanılarak çoğaltılabilmektedir [48, 74-76]. Substratların dört mevsim mevcudiyeti ve üretim tesislerine olan mesafesi, mikoprotein üretim süreçlerinin başarısını etkileyen iki ana faktördür. Melas; kolay erişilebilirliği, düşük fiyatı, toksik maddeler ve fermentasyon inhibitörleri içermemesi nedeniyle mikoprotein üretiminde kullanılan tarımsal sanayi yan ürünlerin iyi bir örneğidir [74]. Melas;

toplam %45-55 arasında karbonhidrat içermekte olup glikoz, fruktoz ve sukroz gibi karbonhidratlardan oluşmaktadır. Her 100 kg'lık öğütülmüş kamıştan yaklaşık 3.5-4.5 kg melas üretilmektedir. Melas, mikoprotein üretmek için uygun bir karbon kaynağı olmasına rağmen, mikoprotein üretimi sırasında fermentasyon ortamı, amonyum ve fosfor tuzları ile desteklenmelidir [77].

## MİKOPROTEİNİN BESİN İÇERİĞİ

Mikoproteinlerin besin değerlerini değerlendirmek için protein, yağ, karbonhidrat, vitamin içerikleri ve gastrointestinal etkileri değerlendirilmelidir. Araştırmalar, mikroorganizma ve substrat türleri, filtrasyon, santrifüj, kurutma ve işleme yöntemleri gibi faktörlerin, mikoproteinleri ve içeriklerindeki besin değerlerini etkileyebileceğini göstermiştir.

Tablo 2'de gösterilen amino asit profili, mikoprotein insan vücudunda sentezlenemeyen ve besinler yoluyla vücuda alınması gereken tüm esansiyel amino asitleri içerdiğini göstermektedir [64]. Farelerle yapılan bir çalışma sonucunda, mikoproteinlerin net protein

kullanımı (NPU) ve protein etkinliği oranının (PER) kazein için bildirilen değerlerin yaklaşık %85'i kadar olduğu rapor edilmiştir [78]. Massachusetts Teknoloji Enstitüsü'nde (MIT) gerçekleştirilen bir gönüllü insan çalışması, hayvan deneyleri sonuçlarının insanlar için de genelleştirilebileceğini doğrulamıştır [79]. Yağsız süt proteini ile mikoprotein karşılaştırıldığında, her iki ürünün de benzer biyolojik değerlere sahip olduğu ancak mikoprotein net protein kullanımının biraz daha düşük olduğu sonucu ortaya çıkmıştır.

Tablo 2. Mikoprotein amino asit profili

*Table 2. Amino acid profile of mycoprotein*

Amino asit	g/100g	Amino asit	g/100g
Lisin	8.3	Histidin	3.5
Metiyonin	2.1	Arginin	7.3
Sistin	0.8	Tirozin	4.0
Treonin	5.5	Aspartik asit	10.3
Triptofan	1.6	Serin	5.1
Valin	6.2	Glutamik asit	12.5
Lösin	8.6	Prolin	4.5
Izolösin	5.2	Glisin	4.5
Fenilalanin	4.9	Alanin	6.0

Mikoprotein tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri içeriği bakımından zengin bir üründür. Genellikle mikoproteinlerdeki yağın %40'ı çoklu doymamış yağ asitlerinden, %11'i tekli doymamış yağ asitlerinden ve %11'i doymuş yağ asitlerinden oluşmaktadır. 100 gr mikoprotein 1.0 gram linoleik asit, 0.4 gram linolenik asit içermektedir. Mikoprotein yağ asidi kompozisyonu Tablo 3'te verilmiştir [56].

Tablo 3. Mikoprotein yağ asidi kompozisyonu [56]

*Table 3. Fatty acid composition of mycoprotein [56]*

Yağ Asidi	g/100g
Palmitik	0.3
Stearik	0.1
Oleik	0.3
Linoleik	1.0
Linolenik	0.4

Kuru temelde mikoprotein 100 gramı, 25 gram lif içermektedir. Bu durum mikoprotein, sadece yağ oranı düşük olmakla kalmayıp aynı zamanda lif açısından da zengin bir protein kaynağı olduğunu göstermektedir. Mikoproteinde bulunan lifin üçte birini kitin, üçte ikisini ise beta-glukanlar oluşturmaktadır [57]. Ayrıca mikoproteinde bulunan diyet lifleri mineral emilimi üzerine istenmeyen etkileri içermemektedir. Mikoproteinler yeterli miktarda çinko ve selenyum bulundurmaktayken düşük miktarda sodyum içermektedir. Öte yandan mikoprotein içeriğinde bir dizi B vitamini bulundurmaktadır (Tablo 4) [53, 55].

Tablo 4. Mikoprotein vitamin içeriği [53]

*Table 4. Vitamin content of mycoprotein [53]*

Vitamin	100 g mikoprotein
Tiamin (mg)	0.01
Riboflavin (mg)	0.23
Niasin (mg)	0.36
Piridoksin (mg)	0.13
Pantotenik asit (mg)	0.26
Folik asit (µg)	16.00
Biyotin (µg)	10.00

Mikoprotein besin içeriği ile geleneksel protein kaynaklarının besin içeriği karşılaştırılmaları ise Tablo 5'te verilmiştir [80].

Tablo 5. Mikoprotein ve bazı geleneksel protein kaynaklarının besin içerikleri [80]

*Table 5. Nutritional contents of mycoprotein and traditional protein sources [80]*

Besin İçeriği	Mikoprotein	Süt	Yumurta	Dana eti	Domuz eti	Tavuk eti	Soya	Buğday
Protein	11.25	3.40	12.53	20.20	21.80	24.00	14.00	13.70
Yağ (g)	3.25	1.70	9.51	4.30	4.00	1.10	7.30	2.50
Lif (g)	6.25	İz miktarda	İz miktarda	İz miktarda	İz miktarda	İz miktarda	6.10	11.20
Karbonhidrat (g)	3	4.70	İz miktarda	0.06	İz miktarda	İz miktarda	5.10	71.10
Enerji (kcal)	85	46	151	172	123	106	141	339

## MİKOPROTEİNLERİN ET ÜRÜNLERİNDE UYGULANMASI VE TÜKETİCİ KABULÜ

Mikoprotein bazlı alternatif et ürünleri gıda sektörü piyasasında uzun zamandır bulunmaktadır. Mikoproteinler, etlerin tadı ve dokusunu taklit etmeye uygun ürünler olmasından dolayı, geleneksel hayvansal bazlı ürünlere alternatif olarak kullanılabilir. Marlow Foods Ltd. şirketinin geliştirmiş olduğu ve Quorn markasıyla piyasaya sunduğu vegan et üreticisi, mikoprotein bazlı et alternatifi ürününü ilk ticarileştirilen firmadır. Üretmiş olduğu mikoproteinlerden hazırladıkları et alternatifi ürünleri ile piyasada bulunan Quorn firmasının yıllık 25000 ton kurutulmuş mikoprotein üretimi olduğu tahmin edilmektedir. Küresel piyasa değeri yaklaşık 214 milyon Euro olan firmanın gelecek yıllarda %20 büyümesi öngörülmektedir [50, 81]. Quorn firması haricinde Eternal firması NASA ile birlikte işbirliği

yaparak astronatların uzay görevlerinde mikoprotein ile beslenmesine yönelik çalışmalara başlamıştır. Eternal firması geliştirmiş oldukları mikoprotein tüm esansiyel aminoasitleri içerdiğini belirtmiştir. Ayrıca bu mikoprotein protein sindirilebilirliği düzeltilmiş amino asit skorunun dana eti, soya ve buğday glutenine göre daha yüksek olduğu açıklanmıştır [83, 84]. Ayrıca son yıllarda İskoçya'da bulunan Enough Food ve İsveç'te bulunan Mycorena firmaları mikoprotein üretimine başlamışlardır [85, 86].

Quorn kıyma ve Quorn et parçalarının üretim süreçleri kesikli sistem olarak devam etmektedir. Her iki ürünün üretimi için de, az miktarda su ve yumurta akı kullanımı bulunmaktadır. Quorn kıymasında karışıma renklendirici olarak malt ekstraktı da dahil edilmektedir. Quorn et parçalarında ise karışıma karakteristik bir tat kazandıran doğal bir aroma eklenmektedir. Karıştırma işlemi

yaklaşık iki tonluk bir parti boyutunda düşük bir hızla gerçekleştirilmektedir. Ek olarak karışıma az miktarda kalsiyum eklenerek nihai üründe et benzeri doku geliştirilmektedir. Karıştırma işlemi bittikten sonra elde edilen ürün şekillendirme ekipmanına aktarılmaktadır. Şekillendirilmiş ürünler pişirme işleminde buhar kullanılarak ürün 85-90°C'ye çıkarılmaktadır ve protein denatürasyonu sağlanmaktadır. Ürün daha sonra -18°C'de 30 dakika boyunca dondurulmaktadır. Dondurma işlemi, buz kristallerinin kontrollü büyümesinin sağlanması ve uygun et tekstürü oluşması açısından önemli bir süreçtir. Bu kristaller, ipliksi hifleri verimli bir şekilde bağlayarak et benzeri olarak tanımlanabilecek dokuya sahip lifli demetler oluşturmaktadır [82].

Alternatif et ürünlerinin tüketici kabulü dikkate alınması gereken bir konudur. Et alternatifleri beslenme, görünüş, çözünürlük ve kullanım kolaylığı açısından geleneksel etlere benzer olmalıdır. Elzerman ve ark. [87] mikoprotein bazlı gıda ürünlerinin genel beğenisini diğer et alternatifleri ürünleriyle (Tofu kızartma parçaları, Tivall tavada kızartma parçaları, Goodbite tavuk, Vivera vegan tavada kızartma parçaları) karşılaştırmıştır. Sonuçlar, mikoprotein bazlı gıda ürünlerinin genel beğenisinin diğer et alternatiflerine göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Son ürünlerin duyu özellikleri (tat, doku ve genel görünüm) ürünlerin ticari olarak başarılı bir şekilde piyasada var olabilmesi için dikkate alınması gereken bir faktör olsa da günümüzde tüketiciler satın aldıkları ürünlerin sağlıklı beslenmeye ve çevresel sürdürülebilirliğe olan katkısını da incelemektedir. Apostolidis ve McLeay'in [88] yapmış olduğu çalışmada, Quorn ürünleri vejetaryenlerin, diyetlerinde et tüketimini azaltmaya çalışan fleksiteryenlerin ve diyetlerinde et tüketimi bulunan panelistlerin duyu değerlendirmesine sunulmuştur. Böylelikle et alternatifini üreticisi olan bir firmanın tüketicileri et alternatiflerine yönlendirmeyi nasıl motive edebileceğine dair tüketici algıları araştırılmıştır. Çalışma sonucunda tüketicilerinin %85'inin sağlıklı beslenme arzusu nedeniyle alternatif et ürünlerini satın aldığını ortaya konulmuştur. Tüketicilerin %65'i ise hazırlaması kolay ve yaşam tarzlarına uyan sağlıklı ve lezzetli et ikame ürünlerini tercih etmiştir. Çevresel sürdürülebilirlik ve hayvan refahı da tüketicilerin alternatif et ürünlerine tercih etmesine neden olmuştur ancak bu etkilerinin halihazırda diyetlerinde et tüketmeyen veya et miktarını azaltmaya çalışan kişilerde daha güçlü olduğu tespit edilmiştir. 2020 yılında yapılan bir çalışmada Hellwing ve ark. [47] üç farklı ürünün (*Fusarium venenatum*'dan elde edilen mikoprotein kullanılarak üretilen burger, *Neurospora intermedia*'dan elde edilen mikoprotein kullanılarak üretilen burger ve geleneksel burger) duyu değerlendirmesini gerçekleştirmiştir. Genel tat beğenisi olarak panelistlerin %51'i geleneksel burgeri, %26'si *N.intermedia*'dan elde edilen mikoproteinden üretilen burgeri, %22'si ise *F.venenatum*'dan elde edilen mikoprotein kullanılarak üretilen burgeri tercih etmişlerdir. Genel tekstürel beğeni

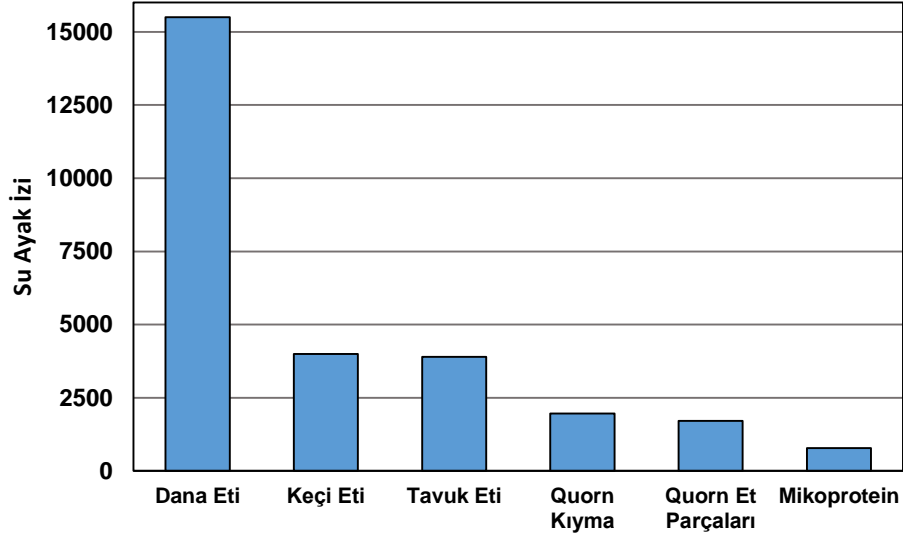
olarak ise panelistlerin %40'ı geleneksel burgeri, %36'sı *F.venenatum*'dan elde edilen mikoprotein kullanılarak üretilen burgeri, %24'ü ise *N.intermedia*'dan elde edilen mikoprotein kullanılarak üretilen burgeri tercih etmişlerdir.

## ÇEVRESEL ETKİ

Mevcut çevre sorunlarını çözmenin yollarından biri düşük çevresel etkilere sahip yeni ve sağlıklı protein kaynaklarının kullanılmasıdır. 2050 yılına kadar dünya nüfusunun günümüze göre %30 artacağı ve gıda üretiminin bu nüfus için %70 artması gerektiği tahmin edilmektedir. Bu, et üretiminde yaklaşık 200 milyon ton ve tahıl hasadında yaklaşık 1 milyar ton artış anlamına gelmektedir [89]. Son yıllardaki çözümlerden biri olarak tarımda gübre, böcek ilacı ve antibiyotiklerin (büyümeyi teşvik edici olarak) kullanımını gösterilmektedir [90]. Ancak, bu ürünlerin kullanımı doğada ve biyolojik çeşitlilikte dengesizliğe neden olmaktadır. Ek olarak antibiyotiğe dirençli bakterilerin, dünya çapında yeni ortaya çıkan pandemik hastalıklara neden olabileceği düşünülmektedir [91]. Geleneksel gıda işleme sektörü de, sera gazı emisyonlarını salınımlarıyla iklim değişikliğinin hızını arttırmakta, tatlı su kaynaklarını kirletmekte ve doğal biyoçeşitliliği olumsuz yönde etkileyebilmektedir [92, 93].

Küresel sera gazlarının yaklaşık %29'u tarım ve gıda üretimiyle bağlantılıdır. Bu değer yaklaşık yarısı ise hayvancılık üretiminden kaynaklanmaktadır. Mikoproteinlerin karbon ayak izi sığır etinden yaklaşık on kat, tavuk etinden ise yaklaşık dört kat daha azdır. Bu nedenle mikoprotein ürünleri gıda üretim sistemlerindeki sera gazı etkilerinin azaltılmasında önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir [94]. Eternal firması ise geliştirmiş oldukları mikoprotein dana etine göre %97, tavuk etine göre %82, soyaya göre %11 daha az çevresel etkisinin bulunduğunu beyan etmiştir. Firma mikoprotein kg başına 4 kg CO<sub>2</sub> salınımı yaptığını ancak bu miktarın dana eti için kg başına 69 kg, tavuk eti için 13.5 kg, soya için 1.5 kg olduğu belirtmiştir [84].

Tarım ve gıda üretimiyle ilgili faaliyetler toplam tatlı su kullanımının yaklaşık %92'sini kapsadığı tahmin edilmektedir. 1 kg tavuk eti üretmek için 3900 litre su, sığır eti üretmek için ise 15500 litre suya ihtiyaç duyulduğunu rapor edilmiştir. Ayrıca et üretiminde hayvan türü, yetiştirme yeri ve yöntemine göre kullanılan su miktarı değişiklik gösterebilmektedir. Bu nedenle mikoprotein üretiminin enerji ve suyu verimli bir şekilde kullanılmasında önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Lokasyona, hayvana ve üretim yöntemine göre değişmekle beraber, mevcut veriler sığır etinin su ayak izinin mikoprotein ürününe on kat daha fazla, tavuk etinin ise üç kat daha fazla olabileceğini belirtmektedir [15, 58].

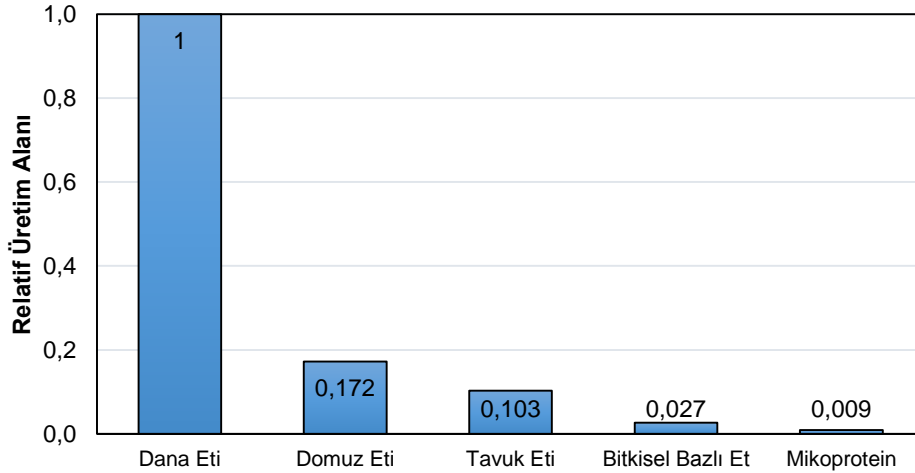


Şekil 2. Farklı ürün gruplarının su ayak izi [16, 39]

Figure 2. Water footprint of different product groups [16, 39]

Hayvancılık üretiminde tarım arazilerinin %70'inden fazlasını kullanmaktadır. Mikoprotein üretimi için gereken arazi gereksinimleri sığır eti ve tavuk eti üretimi için olanlarla karşılaştırmak için bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Sığır eti ve tavuk eti üretimi için kullanılan toprakların, mikoprotein üretimi için kullanılan

alanlardan çok daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 3) [95]. Eternal firmasının beyanına göre mikoprotein alan kullanımı 1.5 m<sup>2</sup>/kg iken dana etinin, tavuk etinin ve soyanın alan kullanımı sırasıyla 213.5 m<sup>2</sup>/kg, 14 m<sup>2</sup>/kg ve 3.5 m<sup>2</sup>/kg olduğu açıklanmıştır [84].



Şekil 3. Farklı ürünlerin üretiminde kullanılan alanlar [71]. Veriler, sığır eti üretiminin etkisine göre normalize edilmiştir.

Figure 3. Areas used in the production of different products [71]. Data are normalized for the effect of beef production.

Van Grinsven ve ark. [96] göre, tarımsal ürünlerin maliyet faydası yıllık 20-80 milyar Euro arasında değişmekteyken, toprak-bitki kaynaklı azot kirliliğinin maliyet zararı (insan sağlığı ve çevre etkisi açısından) yıllık 35-230 milyar Euro arasında değişmektedir. Mikrobiyal protein üretimi, tarım sistemlerinin yüksek nitrojen üretimini (gübreyle bağlı nitrojen) azaltabilmektedir ve dolayısıyla ekosistemler, ötrofik kaynaklar ve azot oksit (N<sub>2</sub>O) emisyonları üzerindeki olumsuz etkide önemli bir azalma sağlanabilmektedir. Öte yandan mikrobiyal protein üretiminde resmi mevzuatın oluşturulmasıyla birlikte, atık geri dönüşüm programlarının bir parçası olarak besin ve karbon

kaynağı geri kazanımlarıyla daha fazla fırsat yaratılabileceği düşünülmektedir.

## SAĞLIK ve GÜVENLİK

Mikoproteinlerle yapılan klinik çalışmalarda, mikoprotein toplam kolesterolü ve LDL kolesterolü azalttığı, HDL kolesterolünü ise arttırdığı belirlenmiştir. Mikoproteinler zengin protein kaynaklarıdır ve lif içeriği yüksektir. Ayrıca toplam yağ asitleri ve doymuş yağ asitleri içeriği açısından ise düşük bir üründür. Bu tür proteinleri tüketen kişilerin kardiyovasküler ve felç gibi hastalıklar açısından daha düşük risk içerisinde olduğu bilinmektedir.

Turnbull ve ark. [97] ve Burley ve ark. [98] tarafından yapılan çalışmalarda mikoprotein içeren diyetlerin, iştah düzenlemesi üzerine olumlu bir etkisinin olduğunu ve mikoprotein tokluğu artırarak iştahı azalttığı sonucuna varılmıştır. Williamson ve ark. [99] yapmış oldukları çalışmada, öğünlerden önce mikoprotein, tofu ve tavuk eti tüketiminin tokluk üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda, tavuk etine kıyasla mikoprotein tüketiminin tokluk hissini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. British Journal of Nutrition dergisinde yayınlanan bir çalışmada, mikoprotein içeren bir öğünün, tavuk içeren bir öğüne kıyasla kalori alımını yüzde 10 azalttığını belirtmiştir [56].

Mikoprotein öğünlere dahil edilmesiyle birlikte glisemik indeks kontrolünün sağlanabileceği düşünülmektedir. Mikoprotein insülin konsantrasyonu ve kan şekeri üzerine etki mekanizması tam olarak tanımlanamasa da sağlanan etkinin mikoprotein içeriğinde bulunan yüksek lif miktarı sayesinde olduğu düşünülmektedir. Çözünür lifler ince bağırsak duvarından glikoz difüzyonunu yavaşlatarak glisemik tepkileri iyileştirmektedir [100]. Ayrıca lifler, gastrointestinal sistemde besin akış hızını azaltarak glikozun emilim oranını düşürmektedir [101]. Mikoproteinler, düşük miktarlarda karbonhidrat içermektedir, bu nedenle glisemik tepkilerdeki gelişmelerin karbonhidratların parçalanması veya emilimiyle bağlantılı olmayacağı düşünülmektedir. American Journal of Clinical Nutrition'da yayınlanan bir çalışmada ise mikoprotein kan şekeri üzerinde etkilerini incelenmiş ve mikoprotein içeren bir milkshake tüketiminin kan şekerini, kontrol grubuna kıyasla %36'ya kadar azaltabildiğini tespit edilmiştir [102]. Mikoprotein kolesterol seviyesini kontrol altına tutmakta yardımcı olduğunu ve böylelikle kalp hastalığı riskini azalttığına dair bulgular da rapor edilmiştir. Londra Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada mikoprotein toplam kolestrol düzeyini ve LDL kolestrolü sırasıyla %13 ve %9 azalttığını, HDL kolestrolünü ise %12 oranında arttırdığını saptamıştır [103, 104].

Mikoproteinler, çeşitli gastrointestinal ve alerjik reaksiyonlara neden olabileceği belirtilmektedir. Kamu Yararına Bilim Merkezi (CSPI), 2002-2014 yılları arasında web sitesi aracılığıyla mikoproteine karşı gastrointestinal şikayetler ve alerjik reaksiyonlar hakkında raporlar toplamıştır. Bu raporlardan yola çıkarak Jacobson ve Deporter [105], mikoprotein içeren gıdaların etkilerini incelemiştir. 1.752 adet kişinin analizi, mikoprotein içeren ürünlerin alerjik ve gastrointestinal belirtileri ortaya çıkmasına neden olduğunu göstermiştir. Toplam 312 kişi 4 saat sonra anafilaksi ve ürtiker gibi alerjik reaksiyonlar göstermiştir. 188 kişide ise mikoprotein içeren et alternatifini birkaç kez kullandıktan sonra tekrar tekrar benzer tepkileri göstermiştir. Ayrıca 1.692 kişide mikoprotein içeren et alternatifinin tüketilmesinin 8. saatinde kusma ve ishal gibi gastrointestinal semptomlar meydana gelmiştir. Semptomların orta dereceli mide bulantısından şiddetli kusmaya kadar değiştiği rapor edilmiştir. 2015 yılında New York Sağlık Ekonomisi Konsorsiyumu ise mikoproteine karşı alerjik reaksiyonların sistematik bir incelemesini gerçekleştirmiştir. 30 deneysel çalışma arasında, araştırmacılar yalnızca 2 reaksiyonu

doğrulamıştır. Araştırmacılar mikoprotein içeren ürünlerin tüketimiyle meydana gelen alerjik reaksiyonların, yaygın alerjenik gıda maddelerine göre çok düşük olduğunu saptamışlardır. Mikoprotein içeren ürünlerin tüketimiyle meydana gelen alerjik reaksiyonların nadir olduğu ve bireylerin büyük çoğunluğu için güvenli bir gıda maddesi olduğu belirtilmiştir [106].

## SONUÇ

Artan dünya nüfusu ve besleyici gıdalara olan talep, mevcut et ve tahıl üretiminde artış meydana getirmektedir. Son yıllarda, et üretiminde ve tarımda gübre, böcek ilacı ve antibiyotik (büyüme destekleyici olarak) artan bu talepleri karşılamak için kullanılmıştır. Ancak bu ürünlerin kullanımı doğada dengesizliklere ve antibiyotiğe dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Ayrıca hayvancılık, sera gazı emisyonlarını ve iklim değişikliklerinin hızını arttırmakta, tatlı su kaynaklarını azaltmakta, arazi kullanımını arttırmakta ve dolayısıyla doğal biyoçeşitliliği olumsuz yönde etkilemektedir.

Alternatif et ürünleri pazarı, sağlık, etik veya dini nedenlerden dolayı et tüketimini azaltmak isteyen vejetaryenler ve vejetaryen olmayanları kapsamaktadır. Doku ve lezzet bakımından yüksek kaliteye sahip alternatif protein ikamelerine olan ilgi de son yıllarda giderek artmaktadır.

Mikroorganizmalara dayalı üretim modeli oluşturan mikoproteinler, ticari olarak piyasada kullanılan bir üründür. Genel olarak mikoproteinler, besin takviyeleri ve gıdalarda et ikamesi olarak önemli katkılar göstermektedir. Mikoproteinlerin ikame besin takviyesi olarak kullanılması, özellikle gelişmekte olan ülkelerin hızla büyüyen nüfusları için gıda kıtlığı sorunlarını azaltabileceği düşünülmektedir. Mevcut bulgular, mikoproteinlerin biyolojik değerlerinin ve temel amino asit içeriklerinin etlerle nispeten benzer olduğunu göstermiştir. Mikoprotein protein ve lif bakımından zengin bir kaynak olması insan sağlığını da bir çok olumlu yönde desteklemektedir. Ayrıca amino asit profilinde, tüm esansiyel amino asitleri içermesi mikoprotein en büyük avantajıdır. Öte yandan mikoprotein geleneksel et ürünlerine göre çevre dostu bir ürün olması gezegenimizin kaynaklarının sürdürülebilirliği açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Mikoprotein üretimi; bir firmanın ihtiyaç duyduğu protein kaynağını kendi bünyesinde üreterek dışardan herhangi bir tedarikçiye bağlı kalmamasını, herhangi bir iklimsel koşuldan veya hastalıklardan etkilenme olasılığını sıfırlanmasını ve karanlık bir üretim hattında üretim yapabilme yeteneğini kazandırmaktadır. Ancak yüksek nükleik asit içeriği ve olası alerjik etkiler, mikoprotein küresel olarak gıda olarak kullanımını sınırlayan faktörlerdir. Buna rağmen mikoproteinlerin alerjik ve toksik etkileri üzerine yapılan çalışmaların sayısı literatürde oldukça azdır. Ayrıca, bazı makaleler karşılaştırmalarda kullanmak için yeterli istatistiksel kaliteye sahip değildir. Bu nedenle, mikoproteinler için vurgulanan bu etkileri ortaya çıkarmak adına daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Gabriel, A., Victor, N., du Preez James, C. (2014). Cactus pear biomass, a potential lignocellulose raw material for single cell protein production (SCP): a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 3(7), 171-197.
- [2] United Nations Department of Economics and Social Affairs (2015). World population projected to reach 9.7 billion by 2050 <https://www.un.org/en/development/desa/news/population/2015-report.html> (Erişim tarihi:24.05.2021).
- [3] McKenzie, F.C., Williams, J. (2015). Sustainable food production: constraints, challenges and choices by 2050. *Food Security*, 7(2), 221-233.
- [4] Grafton, R.Q., Daugbjerg, C., Qureshi, M.E. (2015). Towards food security by 2050. *Food Security*, 7(2), 179-183.
- [5] Upadhyaya, S., Tiwari, K., Arora, N., Singh, D.P. (2016). Microbial protein: a valuable component for future food security. In *Microbes and Environmental Management*. Edited by J.S. Singh and D.P. Singh, Studium Press, New Delhi, 259-279.
- [6] Navarro, J.C.A., Prado, S.M.C., Cardenas, P.A., Santos, R.D., Caramelli, B. (2010). Pre-historic eating patterns in Latin America and protective effects of plant-based diets on cardiovascular risk factors. *Clinics*, 65(10), 1049-1054.
- [7] Schneider, U. A., Havlík, P., Schmid, E., Valin, H., Mosnier, A., Obersteiner, M., Böttcher H., Skalsky, R., Balkovid, J., Sauer, T., Fritz, S. (2011). Impacts of population growth, economic development, and technical change on global food production and consumption. *Agricultural Systems*, 104(2), 204-215.
- [8] Afshin, A., Sur, P. J., Fay, K. A., Cornaby, L., Ferrara, G., Salama, J. S., Murray, C. J. (2019). Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*, 393(10184), 1958-1972.
- [9] Stehfest, E., Bouwman, L., Van Vuuren, D.P., Den Elzen, M.G., Eickhout, B., Kabat, P. (2009). Climate benefits of changing diet. *Climatic Change*, 95(1), 83-102.
- [10] Bonny, S.P., Gardner, G.E., Pethick, D.W., Hocquette, J.F. (2015). What is artificial meat and what does it mean for the future of the meat industry? *Journal of Integrative Agriculture*, 14(2), 255-263.
- [11] Santesso, N., Akl, E.A., Bianchi, M., Mente, A., Mustafa, R., Heels-Ansdell, D., Schünemann, H.J. (2012). Effects of higher-versus lower-protein diets on health outcomes: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Clinical Nutrition*, 66(7), 780-788.
- [12] National Heart Foundation. 2019. Dietary Position Statement-Meat & Heart Healthy Eating; National Heart Foundation. Melbourne, Victoria, Australia.
- [13] Peters, G.M., Rowley, H.V., Wiedemann, S., Tucker, R., Short, M.D., Schulz, M. (2010). Red meat production in Australia: life cycle assessment and comparison with overseas studies. *Environmental Science and Technology*, 44(4), 1327-1332.
- [14] Kalhor, T., Rajabipour, A., Akram, A., Sharifi, M. (2016). Environmental impact assessment of chicken meat production using life cycle assessment. *Information Processing in Agriculture*, 3(4), 262-271.
- [15] Gruener, O. (2010). The water footprint: water in the supply chain. *The environmentalist*, 1(93), 12.
- [16] Pimentel, D., Pimentel, M. (2003). Sustainability of meat-based and plant-based diets and the environment. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(3), 660-663.
- [17] Tuomisto, H.L. (2019). The eco-friendly burger: could cultured meat improve the environmental sustainability of meat products? *EMBO Reports*, 20(1), e47395.
- [18] Poore, J., Nemecek, T. (2018). Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. *Science*, 360(6392), 987-992.
- [19] Meticulous Market Research. "Alternative Protein Market to Reach \$27.05 Billion by 2027- Market Size, Share, Forecasts, & Trends Analysis Report with COVID-19 Impact by Meticulous Research". <https://www.globenewswire.com/en/news-release/2021/09/13/2295883/0/en/Alternative-Protein-Market-to-Reach-27-05-Billion-by-2027-Market-Size-Share-Forecasts-Trends-Analysis-Report-with-COVID-19-Impact-by-Meticulous-Research.html> Son erişim tarihi: 12 Nisan 2022
- [20] Henchion, M., Hayes, M., Mullen, A. M., Fenelon, M., Tiwari, B. (2017). Future protein supply and demand: strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. *Foods*, 6(7), 53.
- [21] Israelidis, C.J. (1988). Nutrition-Single cell protein, twenty years later. *First Biointernational Conference Biopolitics International Organisation*, May 6-10 1987, Athens, Greece.
- [22] Godfray, H.C.J., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J.F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S.M., Toulmin, C. (2010). Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science*, 327(5967), 812-818.
- [23] Wu, G., Fanzo, J., Miller, D.D., Pingali, P., Post, M., Steiner, J.L., Thalacker-Mercer, A.E. (2014). Production and supply of high - quality food protein for human consumption: sustainability, challenges, and innovations. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1321(1), 1-19.
- [24] Michaelsen, K.F., Neufeld, L.M., Prentice, A.M. (2020). *Global Landscape of Nutrition Challenges in Infants and Children*. Karger Medical and Scientific Publishers, Basel, Switzerland.
- [25] Wu, G., Jaeger, L.A., Bazer, F.W., Rhoads, J.M. (2004). Arginine deficiency in preterm infants: biochemical mechanisms and nutritional implications. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 15(8), 442-451.
- [26] Taylor, L. H., Latham, S. M., Woolhouse, M. E. (2001). Risk factors for human disease emergence, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*. 356(1411), 983-989.
- [27] Woolhouse, M., Gaunt, E. (2007). Ecological origins of novel human pathogens. *Critical Reviews in Microbiology*. 33(4), 231-242.

- [28] Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J.L., Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451(7181), 990-993.
- [29] Lau, S.K., Wong, E.Y., Tsang, C.C., Ahmed, S.S., Au-Yeung, R.K., Yuen, K.Y., Wernery, U., Woo, P.C. (2018). Discovery and sequence analysis of four delta coronaviruses from birds in the Middle East reveal interspecies jumping with recombination as a potential mechanism for avian-to-avian and avian-to-mammalian transmission. *Journal of Virology*, 92(15), e00265-18.
- [30] Sun, H., Xiao, Y., Liu, J., Wang, D., Li, F., Wang, C., Liu, J. (2020). Prevalent Eurasian avian-like H1N1 swine influenza virus with 2009 pandemic viral genes facilitating human infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(29), 17204-17210.
- [31] Gong, Y., Ma, T.C., Xu, Y.Y., Yang, R., Gao, L.J., Wu, S.H., Li, J., Yue, M.I., Liang, H., He, X., Yun, T. (2020). Early research on COVID-19: a bibliometric analysis. *The Innovation*, 1(2), 100027.
- [32] Edwards, C. E., Yount, B. L., Graham, R. L., Leist, S. R., Hou, Y. J., Dinnon, K. H., Sims, A. C., Swanstrom, J., Gully, K., Scobey, T.D., Cooley, M.R., Currie, C.G., Randell, S.H., Baric, R.S. (2020). Swine acute diarrhea syndrome coronavirus replication in primary human cells reveals potential susceptibility to infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 117(43), 26915-26925.
- [33] Alders, R., Awuni, J.A., Bagnol, B., Farrell, P., de Haan, N. (2014). Impact of avian influenza on village poultry production globally. *Ecohealth*, 11(1), 63-72.
- [34] Pitts, N., Whitnall, T. (2019). Impact of African swine fever on global markets. *Agricultural Commodities*, 9(3), 52-54.
- [35] Scott, A., Hernandez-Jover, M., Groves, P., Toribio, J.A. (2020). An overview of avian influenza in the context of the Australian commercial poultry industry. *One Health*, 10, 100139.
- [36] Sharima-Abdullah, N., Hassan, C.Z., Arifin, N., Huda-Faujan, N. (2018). Physicochemical properties and consumer preference of imitation chicken nuggets produced from chickpea flour and textured vegetable protein. *International Food Research Journal*, 25(3), 1016-1025.
- [37] Schreuders, F.K., Dekkers, B.L., Bodnár, I., Erni, P., Boom, R.M., van der Goot, A.J. (2019). Comparing structuring potential of pea and soy protein with gluten for meat analogue preparation. *Journal of Food Engineering*, 261, 32-39.
- [38] Chiang, J.H., Loveday, S.M., Hardacre, A.K., Parker, M.E. (2019). Effects of soy protein to wheat gluten ratio on the physicochemical properties of extruded meat analogues. *Food Structure*, 19, 100-102.
- [39] Kim, T., Riaz, M.N., Awika, J., Teferra, T.F. (2021). The effect of cooling and rehydration methods in high moisture meat analogs with pulse proteins-peas, lentils, and faba beans. *Journal of Food Science*, 86(4), 1322-1334.
- [40] Dick, A., Bhandari, B., Prakash, S. (2019). 3D printing of meat. *Meat science*, 153, 35-44.
- [41] Bryant, C.J. (2020). Culture, meat, and cultured meat. *Journal of Animal Science*, 98(8), 172-179.
- [42] Fraeye, I., Kratka, M., Vandeburgh, H., Thorrez, L. (2020). Sensorial and nutritional aspects of cultured meat in comparison to traditional meat: much to be inferred. *Frontiers in Nutrition*, 7, 35.
- [43] Değeri, C. (2020). Processed Meat Production in 3 Dimensional (3D) Printing Technology. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(5), 1018-1026.
- [44] Trinci, A.P.J. (1991). Quorn mycoprotein. *Mycologist*, 5(3), 106-109.
- [45] Kim, K., Choi, B., Lee, I., Lee, H., Kwon, S., Oh, K., Kim, A.Y. (2011). Bioproduction of mushroom mycelium of *Agaricus bisporus* by commercial submerged fermentation for the production of meat analogue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(9), 1561-1568.
- [46] Stoffel, F., de Oliveira Santana, W., Gregolon, J.G.N., Kist, T.B.L., Fontana, R.C., Camassola, M. (2019). Production of edible mycoprotein using agroindustrial wastes: Influence on nutritional, chemical and biological properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 58, 102227.
- [47] Hellwig, C., Gmoser, R., Lundin, M., Taherzadeh, M. J., Roust, K. (2020). Fungi Burger from Stale Bread? A Case Study on Perceptions of a Novel Protein-Rich Food Product Made from an Edible Fungus. *Foods*, 9(8), 1112.
- [48] Stoffel, F., de Oliveira Santana, W., Fontana, R.C., Camassola, M. (2021). Use of *Pleurotus albidus* mycoprotein flour to produce cookies: Evaluation of nutritional enrichment and biological activity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 68, 102642.
- [49] FDA, (2002). Generally Recognized as Safe (GRAS) Notification Fermented Microbial Protein, <https://www.fda.gov/media/142277/download> (Erişim Tarihi:24.05.2021).
- [50] Wiebe, M.G. (2004). Quorn™ Myco-protein-Overview of a successful fungal product. *Mycologist*, 18(1), 17-20.
- [51] Edelman, J., Fewell, A., Solomons, G.L. (1983). Myco-protein-a new food. *Nutrition Abstract and Reviews in Clinical Nutrition*, 53, 471-480.
- [52] Edwards, D.G. (1993). The nutritional evaluation of myco-protein. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 44, 37-43.
- [53] Sadler, M. (1990). Myco-protein-a new food. *Nutrition Bulletin*, 15(3), 180-190.
- [54] Wheelock, V. (1993). Quorn: case study of a healthy food ingredient. *British Food Journal*, 95(5), 40-44.
- [55] Denny, A., Aisbitt, B., Lunn, J. (2008). Mycoprotein and health. *Nutrition bulletin*, 33(4), 298-310.
- [56] Bottin, J.H., Swann, J.R., Cropp, E., Chambers, E.S., Ford, H.E., Ghatei, M.A., Frost, G.S. (2016). Mycoprotein reduces energy intake and postprandial insulin release without altering glucagon-like peptide-1 and peptide tyrosine-tyrosine concentrations in healthy overweight and obese adults: a randomised-controlled trial. *British Journal of Nutrition*, 116(2), 360-374.
- [57] Harris, H.C., Edwards, C.A., Morrison, D.J. (2019). Short chain fatty acid production from mycoprotein



- and mycoprotein fibre in an in vitro fermentation model. *Nutrients*, 11(4), 800.
- [58] Finnigan, T., Needham, L., Abbott, C. (2017). Mycoprotein: a healthy new protein with a low environmental impact. In *Sustainable Protein Sources*, Edited by S.R. Nadathur, J.P.D. Wanasundara, L. Scanlin, Academic Press, London, United Kingdom, 305-325.
- [59] Chandrani-Wijeyaratne, S., Tayathilake, A.N. (2000). Characteristics of two yeast strain (*Candida tropicalis*) isolated from *Caryota urens* (Khitul) toddy for single cell protein production. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 28, 79-86.
- [60] Suman, G., Nupur, M., Anuradha, S., Pradeep, B. (2015). Single cell protein production: a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 4(9), 251-262.
- [61] Hosseini, S.M., Khosravi-Darani, K., Mohammadifar, M.A., Nikoopour, H. (2009). Production of mycoprotein by *Fusarium venenatum* growth on modified Vogel medium. *Asian Journal of Chemistry*, 21(5), 4017-4022.
- [62] Aggelopoulos, T., Katsieris, K., Bekatorou, A., Pandey, A., Banat, I.M., Koutinas, A.A. (2014). Solid state fermentation of food waste mixtures for single cell protein, aroma volatiles and fat production. *Food Chemistry*, 145, 710-716.
- [63] Liu, B., Li, Y., Song, J., Zhang, L., Dong, J., Yang, Q. (2014). Production of single-cell protein with two-step fermentation for treatment of potato starch processing waste. *Cellulose*, 21(5), 3637-3645.
- [64] Rodger, G. (2001). Mycoprotein-a meat alternative new to the US Production and properties of mycoprotein as a meat alternative. *Food Technology*, 55(7), 36-41.
- [65] Trinci, A.P. (1992). Myco-protein: A twenty-year overnight success story. *Mycological Research*, 96(1), 1-13.
- [66] Sinskey, A.J., Tannenbaum, S.R. (1975). Removal of nucleic acids in SCP. In *Single Cell Protein II* Edited by S. Tannenbaum, D.I.C Wang, MIT Press, Cambridge, 158.
- [67] Anderson, C., Solomons, G.L. (1982). Primary metabolism and biomass production from *Fusarium*. *Symposia of British Mycological Society*, 7, 231-250.
- [68] Wiebe, M. (2002). Myco-protein from *Fusarium venenatum*: a well-established product for human consumption. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58(4), 421-427.
- [69] Rudravaram, R., Chandel, A.K., Rao, L.V., Hui, Y.Z., Ravindra, P. (2009). Bio (Single Cell) protein: issues of production, toxins and commercialisation status. In *Agricultural wastes*, Edited by G.S. Ashworth and P. Azevedo, Nova Science Publishers, New York, 129-153.
- [70] Nasser, A.T., Rasoul-Amini, S., Morowvat, M.H., Ghasemi, Y. (2011). Single cell protein: production and process. *American Journal of Food Technology*, 6(2), 103-116.
- [71] Ravindra, P. (2000). Value-added food: Single cell protein. *Biotechnology Advances*, 18(6), 459-479.
- [72] Ukaegbu-Obi, K.M. (2016). Single cell protein: a resort to global protein challenge and waste management. *Journal of Microbiology and Microbial Technology*, 1(1), 5.
- [73] Souza Filho, P.F., Nair, R.B., Andersson, D., Lennartsson, P.R., Taherzadeh, M.J. (2018). Vegan-mycoprotein concentrate from pea-processing industry byproduct using edible filamentous fungi. *Fungal Biology and Biotechnology*, 5(1), 1-10.
- [74] Bekatorou, A., Psarianos, C., Koutinas, A.A. (2006). Production of food grade yeasts. *Food Technology and Biotechnology*, 44(3), 407-415.
- [75] Reihani, S.F.S., Khosravi-Darani, K. (2018). Mycoprotein production from date waste using *Fusarium venenatum* in a submerged culture. *Applied Food Biotechnology*, 5(4), 243-352.
- [76] Hashempour-Baltork, F., Hosseini, S.M., Assarehzadegan, M.A., Khosravi-Darani, K., Hosseini, H. (2020). Safety assays and nutritional values of mycoprotein produced by *Fusarium venenatum* IR372C from date waste as substrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(12), 4433-4441.
- [77] Ugalde, U.O., Castrillo, J.I. (2002). Single cell proteins from fungi and yeasts. In *Applied Mycology and Biotechnology Volume 2*, Edited by G.G. Khachatourians and D.K. Arora, Elsevier Science, Amsterdam, 123-149.
- [78] Miller, S.A., Dwyer, J.T. (2001). Evaluating the safety and nutritional value of mycoprotein. *Food Technology (Chicago)*, 55(7), 42-47.
- [79] Udall, J.N., Lo, C.W., Young, V.R., Scrimshaw, N.S. (1984). The tolerance and nutritional value of two microfungus foods in human subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 40(2), 285-292.
- [80] Ahmad, M. I., Farooq, S., Alhamoud, Y., Li, C., Zhang, H. (2022). A review on mycoprotein: History, nutritional composition, production methods, and health benefits. *Trends in Food Science & Technology*, 121, 14-29.
- [81] Matassa, S., Boon, N., Pikaar, I., Verstraete, W. (2016). Microbial protein: future sustainable food supply route with low environmental footprint. *Microbial Biotechnology*, 9(5), 568-575.
- [82] Finnigan, T.J.A. (2011). Mycoprotein: origins, production and properties. In *Handbook of Food Proteins*, Edited by G.O. Phillips and P.A. Williams, Woodhead Publishing Limited, New Delhi, 335-352.
- [83] Benjamin Ferrer. (2022). Alt-meat for astronauts: Eternal explores fungal-based space food from new facility at NASA Kennedy Space Center <https://www.foodingredientsfirst.com/news/alt-meat-for-astronauts-eternal-to-explore-space-applications-from-its-new-rd-facility-at-nasa-kennedy-space-center.html> (Erişim tarihi: 24.04.2022).
- [84] Eternal. (2022). <https://www.eternal.bio/> (Erişim tarihi:24.04.2022).
- [85] Mycorena. (2022). <https://mycorena.com/> (Erişim tarihi:24.04.2022).
- [86] Enough Food. (2022). <https://www.enough-food.com/> (Erişim tarihi:24.04.2022).
- [87] Elzerman, J.E., Hoek, A.C., Van Boekel, M.A., Luning, P.A. (2011). Consumer acceptance and appropriateness of meat substitutes in a meal

- context. *Food Quality and Preference*, 22(3), 233-240.
- [88] Apostolidis, C., McLeay, F. (2016). It's not vegetarian, it's meat-free! Meat eaters, meat reducers and vegetarians and the case of Quorn in the UK. *Social Business*, 6(3), 267-290.
- [89] FAO, 2009. How to Feed the World in 2050. *High-Level Expert Forum*, June, 2009 Rome, Italy.
- [90] Hashempour-Baltork, F., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., Torbati, M., Alizadeh, A.M., Alizadeh, M. (2019). Drug resistance and the prevention strategies in food borne bacteria: an update review. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 9(3), 335-347.
- [91] Lymbery, P. (2014). *Farmageddon: the True Cost of Cheap Meat*. Bloomsbury Publishing, London, England.
- [92] Tilman, D., Clark, M. (2014). Global diets link environmental sustainability and human health. *Nature*, 515(7528), 518-522.
- [93] Gerber, P.J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., Tempio, G. (2013). Tackling climate change through livestock: a global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy.
- [94] Hsu, K., Kazer, J., Cumberlege, T. (2018). *Quorn Footprint Comparison Report*. Carbon Trust, Carbon Trust Advisory Limited, London, England.
- [95] Rubio, N.R., Xiang, N., Kaplan, D.L. (2020). Plant-based and cell-based approaches to meat production. *Nature Communications*, 11(1), 1-11.
- [96] Van Grinsven, H.J., Holland, M., Jacobsen, B.H., Klimont, Z., Sutton, M.A., Jaap Willems, W. (2013). Costs and benefits of nitrogen for Europe and implications for mitigation. *Environmental Science and Technology*, 47(8), 3571-3579.
- [97] Turnbull, W.H., Walton, J., Leeds, A.R. (1993). Acute effects of mycoprotein on subsequent energy intake and appetite variables. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 58(4), 507-512.
- [98] Burley, V.J., Paul, A.W., Blundell, J.E. (1993). Influence of a high-fibre food (myco-protein\*) on appetite: effects on satiation (within meals) and satiety (following meals). *European Journal of Clinical Nutrition*, 47, 409-418.
- [99] Williamson, D.A., Geiselman, P.J., Lovejoy, J., Greenway, F., Volaufova, J., Martin, C.K., Arnett, C., Ortego, L. (2006). Effects of consuming mycoprotein, tofu or chicken upon subsequent eating behaviour, hunger and safety. *Appetite*, 46(1), 41-48.
- [100] Edwards, C.A., Johnson, I.T., Read, N.W. (1988). Do viscous polysaccharides slow absorption by inhibiting diffusion or convection? *European Journal of Clinical Nutrition*, 42(4), 307-312.
- [101] Leclere, C.J., Champ, M., Boillot, J., Guille, G., Lecannu, G., Molis, C., Bornet, F., Krempf, M., Delort-Laval, J. Galmiche, J.P. (1994). Role of viscous guar gums in lowering the glycemic response after a solid meal. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 59(4), 914-921.
- [102] Turnbull, W.H., Ward, T. (1995). Mycoprotein reduces glycemia and insulinemia when taken with an oral-glucose-tolerance test. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61(1), 135-140.
- [103] Turnbull, W.H., Leeds, A.R., Edwards, G.D. (1990). Effect of mycoprotein on blood lipids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 52(4), 646-650.
- [104] Turnbull, W.H., Leeds, A.R., Edwards, D.G. (1992). Mycoprotein reduces blood lipids in free-living subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 55(2), 415-419.
- [105] Jacobson, M.F., DePorter, J. (2018). Self-reported adverse reactions associated with mycoprotein (quorn-brand) containing foods. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, 120(6), 626-630.
- [106] Finnigan, T.J., Wall, B.T., Wilde, P.J., Stephens, F.B., Taylor, S.L., Freedman, M.R. (2019). Mycoprotein: the future of nutritious nonmeat protein, a symposium review. *Current Developments in Nutrition*, 3(6), 1-5.

## Üzümsü Meyvelerin Biyoaktif Bileşenleri ile İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Hatice Merve Bayram , Arda Öztürkcan  ✉

İstanbul Gelişim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İstanbul

Geliş Tarihi (Received): 06.07.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 12.12.2022

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [turkcana@hotmail.com](mailto:turkcana@hotmail.com) (A. Öztürkcan)

© 0 212 422 7000 📠 0 212 422 7401

### ÖZ

Üzümsü meyveler ve ürünleri günümüzde “fonksiyonel gıdalar” olarak bilinmekte ve gıda endüstrisinde artan bir ilgi görmektedir. Başta antosiyaninler olmak üzere diğer meyvelere göre daha yüksek antioksidan kapasitesine sahip üzümsü meyvelerin hastalıklara yakalanma riskleri ile hastalık semptomlarını azaltarak, sağlık üzerine koruyucu etkileri olduğu düşünülmektedir. Türkiye, 2021 Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre meyve üretiminde dünyada beşinci sırada yer almasına rağmen üzümsü meyvelerin üretim miktarı düşük olup bu meyvelerin önemi hala anlaşılammış durumdadır. Bu nedenle, sağlığı olumlu yönde etkilediği düşünülen üzümsü meyvelere olan ilginin ülkemizde artırılması, hem bilimsel açıdan hem de üretimini artırabilmek amacıyla ekonomik açıdan oldukça önemlidir. Bu derlemenin amacı üzümsü meyvelerin içerdiği biyoaktif bileşenler ile insan sağlığı üzerine etkilerini son on yılda yapılmış klinik çalışmalarla değerlendirmektir. Bu amaçla planlanan sistematik olmayan derlemede, Dergipark, PubMed, Elsevier ve Google Scholar veri tabanlarında yapılan literatür taraması sonucu toplam 32 uluslararası klinik çalışma derlemeye dahil edilmiştir. Türkiye’de insanlar üzerinde yapılmış bir klinik çalışmaya rastlanmamıştır. Sonuçlar, üzümsü meyvelerin sağlığı olumlu yönde etkileyerek antioksidan, anti-inflamatuar, anti-diyabet, kardiyovasküler sistemi koruyucu, lipid metabolizmasını iyileştirici, hipertansiyondan koruyucu, kolon kanseri semptomlarını azaltıcı etkisi ile mikrobiyotayı olumlu yönde etkileyebileceğini göstermektedir. Kesin mekanizmaları ve uzun dönem etkilerinin anlaşılabilmesi için daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Üzümsü meyveler, Fonksiyonel gıda, Biyoaktif bileşen, Antosiyanin, Sağlık etkisi

### Bioactive Components of Berry Fruits and Their Effects on Human Health

#### ABSTRACT

Berry fruits and their products are known as “functional foods” and have a growing interest in the food industry. Berries have high antioxidant capacity and anthocyanin contents in comparison to other fruits, and they are considered to have protective effects on human health by reducing the risks and symptoms of diseases. Although Turkey is in a prominent position with fruit production, having in the fifth place in the world according to the 2019 Turkey Statistical Institute (TUIK) data, the amount of berry fruit production is low, and its importance is still poorly understood. For this reason, it is very important to increase the interest in berry fruits, which are thought to have a positive effect on health, in our country, both scientifically and economically in order to increase their production. This review aims to evaluate the bioactive compounds of berry fruits and their health effects on human with clinical studies conducted in the last decade. To reach this goal, a literature search was conducted in DergiPark, PubMed, Elsevier and Google Scholar databases and a total of 32 international clinical studies were included in this non-systematic review. No clinical human study was found in Turkey. Results showed that berry fruits have anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-diabetes effect and protective effect on the cardiovascular system, effect of improved lipid metabolism, anti-hypertension effect, and reducing effect of colon cancer symptoms and beneficial effects on microbiota by positively affecting human health. More clinical studies are needed to understand the exact mechanisms and long-term effects.

**Keywords:** Berry fruits, Functional food, Bioactive compound, Anthocyanin, Health effect

## GİRİŞ

Meyve ve sebzeler vücuda başta lif, vitamin, mineral ve fitokimyasal sağlamadaki katkılarından dolayı sağlıklı bir diyetin vazgeçilmez bileşenleridir. Çeşitli epidemiyolojik ve klinik çalışmalar, meyve ve sebzelerin düzenli tüketiminin kanser, kardiyovasküler hastalık (KVH), diyabet (DM) ya da obezite gibi hastalıkları geliştirme riskini azalttığını, antioksidan ve anti-inflamatuar özellikler gösterdiğini saptamıştır [1, 2]. Bu koruyucu etkilerini içerdikleri antioksidan özelliklere sahip biyoaktif bileşenler, vitaminler ve minerallerle aracılığıyla gerçekleştirmektedir [3]. Ayrıca meyveler arasında üzümü meyveler, daha yüksek biyoaktif bileşen içermeleri nedeniyle özellikle ilgi çekicidir [4].

Botanik olarak, çilek ve ahududu hariç, tek bir yumurtalıktan üretilen etli meyveler olarak tanımlanan üzümü meyveler ve ürünleri (suyu, reçeli vb.) genellikle “fonksiyonel gıdalar” olarak bilinmektedir. Günümüzde, hastalıklara yakalanma risklerini ya da semptomlarını azaltma ve sağlığı koruma etkilerinden dolayı fonksiyonel gıdalar ve takviye edici gıdaların kullanılması gün geçtikçe gıda endüstrisinde artan ilgi görmektedir [4]. En yaygın üzümü meyveler yüksek boylu (highbush) yaban mersini (*Vaccinium corymbosum*), kısa boylu (lowbush) yaban mersini (*Vaccinium angustifolium*), yaban mersini (*Vaccinium myrtillus*), turna yemişi (*Vaccinium macrocarpon*), böğürtlen (*Rubus fruticosus*), siyah ahududu (*Rubus occidentalis*), kırmızı ahududu (*Rubus idaeus*), frenk üzümü (*Ribes nigrum*), çilek (*Fragaria ananassa*), kırmızı yaban mersini (*Vaccinium vitis-idaea*), cloudberry (çok soğuk bölgelerde yetişen bir meyve türü) (*Rubus chamaemorus*), kara mürver (*Sambucus nigra L.*) ve kuş kirazıdır (*Aronia melanocarpa*) [5].

Üzümsü meyvelerin sağlık üzerindeki etkisinin artan ilgisi ise esas olarak diğer meyvelere göre yüksek biyoaktif bileşen içeriklerinden kaynaklanmaktadır. Bu biyoaktif bileşenler özellikle fenolik asitler, antosiyaninler, flavonoidler, flavanoller veya tanenler gibi organik moleküllerdir [6]. Antosiyaninler meyveye kırmızı rengini veren, en güçlü antioksidan bileşenler olarak bilinir [7]. Üzümsü meyvelerin, içerdikleri biyoaktif bileşenler nedeniyle antioksidan kapasiteleri diğer meyvelere göre daha yüksek olup, KVH hastalıklara karşı koruyucu, anti-tümör ve anti-platelet aktivitelerin yanı sıra, bir dizi biyolojik aktiviteye sahip oldukları, yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda gösterilmiştir [8-16].

Türkiye meyve üretiminde 2021 Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre, dünyada beşinci sırada yer alarak önemli bir konumda iken üzümü meyvelerin üretim miktarı düşük olup, önemi hala anlaşılabilir durumdadır [17]. Bu nedenle sağlığı olumlu yönde etkilediği düşünülen üzümü meyvelere olan ilginin ülkemizde artırılması hem bilimsel açıdan hem de üretimini artırabilmek amacıyla ekonomik açıdan oldukça önemlidir [18]. Bu derlemenin amacı üzümü meyvelerin içerdiği biyoaktif bileşenler ile insan sağlığı üzerine etkilerini 2010-2020 yılları arasında yapılmış klinik çalışma verileri kullanılarak değerlendirmektir.

## METOT

Üzümsü meyvelerin biyoaktif bileşenleri ile insan sağlığı üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla DergiPark, PubMed, Elsevier ve Google Scholar veri tabanlarında literatür taraması yapılmıştır. Tarama sırasında kullanılan anahtar kelimeler: “berry fruits”, “strawberry”, “*Fragaria ananassa*”, “Raspberry”, “*Rubus idaeus*”, “blackberry”, “*Rubus fruticosus*”, “mulberry”, “*Morus nigra*”, “blueberry”, “*Vaccinium myrtillus*”, “*Vaccinium corymbosum*”, “cranberry”, “*Vaccinium macrocarpon*”, “black currant”, “*Ribes nigrum*”, “red currant”, “*Ribes rubrum*”, “elderberry”, “*Sambucus nigra*”, “grape”, “*Vitis vinifera*” ve “health effect”, “human study”, “human trial” olup; Türkçe makaleleri taramak için kullanılan anahtar kelimeler “üzümü meyveler”, “sağlık etkisi”, “klinik çalışmalar”dır. Tezler ve konferans özetleri derlemeye dahil edilmemiştir. Literatür araştırması esas olarak taze meyveleri, meyve suyunu, dondurularak kurutulmuş tozu veya fraksiyonları ve doğrudan üzümü meyvelerden ekstrakte edilen bileşikler kullanan çalışmalara odaklanmıştır. Bu doğrultuda çalışmaya dahil edilme kriterleri şunlardır: >18 yaş ve üzeri yetişkinlerde yapılan klinik çalışmalar, sağlıklı ya da herhangi bir hastalığı olan özellikli gruplarda üzümü meyvelerin etkinliğini değerlendiren çalışmalardır. *In vitro*, *in vivo* ya da çocuklar ve adölesanlar üzerinde yapılan çalışmalar derlemeye dahil edilmemiştir. Yapılan tarama sonucunda 2010-2020 yılları arasında yapılmış toplam 32 uluslararası klinik çalışma derlemeye dahil edilmiştir. Türkiye’de yapılmış bir klinik çalışmaya rastlanmamıştır.

## ÜZÜMSÜ MEYVELERİN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİ

Üzümsü meyveler, başta antosiyaninler olmak üzere, fenolik asitler, taninler, flavonoidler, flavanoller, stilbenler, vitaminler ve mineraller dahil olmak üzere yüksek seviyelerde biyoaktif bileşen içerirler [5].

Üzümsü meyvelerin toplam fenolik bileşen içerikleri, farklı meyve türleri, genetik çeşitlilikleri, yetiştirilme koşulları ve yerleri ile depolama, hasat öncesi ve sonrası koşullarına göre değişmektedir [14, 15, 19]. Yapılan çalışmalara göre kara dutun toplam fenolik bileşen değeri ortalama 1.87±0.006 ve 2.97±0.009 mg gallik asit eş değeri (GAE)/kg arasında [20]; çilekte ortalama 2.25 g/kg, ahudududa 1.26 g/kg, böğürtlende 2.48 g/kg, yaban mersininde 1.81–5.85 g/kg, mavi yemişte 5.25 g/kg, turna yemişinde 1.20–3.15 g/kg, siyah frenk üzümünde 560 mg/100 g [16], kırmızı frenk üzümünde 4.17 g/kg [21], kara mürverde 0.19-0.23 mg GAE/kg [22] ve üzümde 0.91 mg GAE/kg olarak saptanmıştır [23].

## Antosiyaninler

Üzümsü meyvelerdeki en önemli ve karakteristik fenolik bileşen grubu antosiyaninlerdir [24]. 500’den fazla antosiyanin tanımlanmış olmasına rağmen özellikle altı tanesi (pelargonidin, siyanidin, delphinidin, petunidin, peonidin ve malvidin) üzümü meyvelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Genellikle, antosiyanin içerikleri olgunlaşma sırasında artar ve siyah frenk üzümü, siyah

mürver, böğürtlen ve yaban mersininde daha yüksek miktarlarda (16 g/kg'a kadar), çilekte ise daha düşük miktarlarda bulunmaktadır (0.6-0.8 g/kg arası) [25].

### Fenolik Asitler

Üzümü meyvelerde baskın olan fenolik asitler gallik asit (GA) ve klorojenik asitler (CGA) olup; yaban mersini (özellikle CGA 2 g/kg'a kadar) ve böğürtlen (yaklaşık 0.3 g/kg) arasında miktarca daha yüksekken, çileklerde konsantrasyonları daha düşüktür (yaklaşık 0.09 g/kg) [26]. Baskın olan fenolik asitlerin dışında üzümü meyveler, kafeik ve ferulik asitler, *p*-hidroksibenzoik, gallik, salisilik, vanilik ve ellajik asitleri de bulundurmaktadır [4].

### Tanenler

Üzümü meyveler önemli tanen kaynaklarıdır. Hem proantosiyaniinler olarak bilinen yoğunlaştırılmış hidrolize edilemeyen tanenler, hem de gallik asit ve ellajik asit esterleri gibi hidrolize edilebilir tanenleri içermektedirler [3, 26-28]. Hidrolize edilebilen tanenler kuş kiraz, çilek, ahududu ve böğürtlen'de yüksek miktarda bulunmaktadır [3, 14].

### Flavonoidler

Üzümü meyvelerde baskın olarak bulunan flavonoidler mirisetin, kuersetin ve kaempferoldur [24]. Kuersetin yaban mersininde baskın olup (0.017-0.02 g/kg), mirisetin frenk üzümünde (0.089-0.20 g/kg) baskın flavonoid olarak bulunmuştur [29].

### Flavanoller

Üzümü meyvelerde baskın olan flavanol prosiyaniin olup; yaban mersini ve çilekte daha yüksek miktarlarda bulunurken (1.5 ile 6.6 g/kg arasında), böğürtlen ve ahudududa daha düşük miktarlardadır (yaklaşık 0.3 g/kg) [16].

### Diğer Biyoaktif Bileşenler

Üzümü meyveler antioksidan kapasiteye katkıda bulunan C vitamini, provitamin A karotenoidleri, E ve B vitaminleri içerirler [13]. C vitamini değerleri çilekte 0.65±0.006-0.11±0.005 g/kg [30], ahudududa 0.015±0.0005-0.024±0.001 g/kg [31], böğürtlen'de 0.035-0.044 g/kg [32], dutta 0.19±0.0001-0.031±0.0002 g/kg [20], yaban mersininde 0.060±0.002 g/kg [33], mavi yemişte 186 g/kg [34], turna yemişinde 0.010±0.0002-0.02.74±0.0002 g/kg [35], siyah frenk üzümünde 6.2–14.04 g/kg [36], kırmızı frenk üzümünde 0.023±0.0005 g/kg [37], kara mürverde 0.116±0.004 g/kg [33] ve üzümde 0.011±0.0001-0.035±0.0003 g/kg arasında bulunmuştur [38].

Üzümü meyveler ayrıca mineraller açısından zengindirler. Bakır, demir, çinko, manganez ve selenyum gibi üzümü meyvelerde bulunan bazı mineraller, antioksidan enzim sistemlerinin (örneğin süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz vb.) önemli kofaktörleri ve bileşenleridir. Bu nedenle antioksidan

kapasiteye katkıda bulunurlar [5]. Çileklerde bulunan başlıca mineraller fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, manganez, bakır, sodyum ve alüminyumdur [14, 39]. Frenk üzümü, çilek, ahududu, böğürtlen ve yaban mersini diğer meyvelerle karşılaştırıldığında daha fazla kalsiyum (0.15-0.35 g/kg), potasyum (0.5–3.2 g/kg) ve manganez (0.012-0.039 g/kg) içerir [13, 14, 25].

Üzümü meyvelerin enerji, lif ve makro besin ögeleri ile toplam fenolik bileşen, antosiyaniin ve C vitamini değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

## SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

### Antioksidan ve Anti-inflamatuar Etkisi

Sağlıklı bir organizmada, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi antioksidan sistem ile dengelenir. Artan ROS üretimi veya azalmış antioksidan savunma, kanser, KVH ve nörodejeneratif bozukluklar da dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların gelişimine katkıda bulunan oksidatif stres olarak adlandırılır [16]. Oksidatif stres, genellikle lokal bir olaydır, malondialdehit (MDA), konjuge diener veya F2-izoprostanlar, karbonlu proteinler dahil olmak üzere protein modifikasyonu belirteçleri, tiol gruplarının oksidasyonu, protein parçalanması ve nitratlanmış proteinler veya nükleik asitlerin oksidatif hasar belirteçleri bu olaylarda sorumludur. Bu biyobelirteçler sadece hastalıklarda teşhis değerine sahip olmakla kalmaz, aynı zamanda ihtiyaç duyulan antioksidan takviyenin yararlı göstergeleri de olabilirler [44]. Üzümü meyvelerin yüksek fenolik bileşen ve diğer biyoaktif bileşenleri içermesi nedeniyle oksidatif stresle ilişkili hastalıklarda koruyucu olabilecekleri düşünülmektedir.

Sağlıklı yetişkinlerde 16 gün 500 g taze çilek takviyesi, serum toplam antioksidan seviyelerinde artışa yol açmıştır [45]. Başka bir çalışmada, sağlıklı yetişkinlere 2 hafta 500 g çilek takviyesi sonucu lipid oksidasyonundan önceki gecikme fazında önemli bir artışla birlikte, açlık plazma antioksidan kapasitesi ve C vitamini ilımlı bir artış gözlemişlerdir [46]. Sağlıklı erkeklerde, 4 hafta 30 g liyofilize ahududu takviyesi, kan lipidleri ve açlık plazma glukoz konsantrasyonları üzerinde hiçbir etki göstermemiş, ancak alkalen fosfataz (ALP) aktivitesini azaltmış, glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitelerini artırmıştır [47]. Sağlıklı kadınlara 2 hafta 220 mL yaban mersini ve kırmızı üzüm suyu içeren smothie takviyesi sonucu, plazma süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz enzim aktiviteleri ile antioksidan kapasitede artış; idrar ve serum MDA seviyelerinde azalma meydana gelmiştir. Ayrıca 8-OH<sub>2</sub> deoksiguanozin, interlökin-2 (IL-2), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8), interlökin-10 (IL-10), C reaktif protein (CRP) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-α) seviyelerinde fark gözlenmemiştir [48]. Metabolik Sendromlu (MetS) kadınlara 8 hafta 480 mL kara mürver suyu takviyesi sonucu da serum toplam antioksidan kapasitesinde artış; okside lipoprotein lipaz (LDL) ve MDA seviyelerinde azalma meydana gelmiştir [49]. MetS'li yetişkinlere 60 gün 700 mL kara mürver suyu takviyesi ise; adiponektinde artış, homosisteinde, lipoperoksidasyonda, ileri oksidasyon protein ürünlerinde azalmaya yol açmış, TNF-α, interlökin-1 (IL-1) ve IL-6 seviyelerini etkilememiştir [50].

Tablo 1. Üzüksü meyvelerin enerji, lif ve makro besin ögeleri ile toplam fenolik bileşen, antosiyanin ve C vitamini değerleri

	Enerji (kcal/100 g)	Protein (g/100 g)	Karbonhidrat (g/100 g)	Yağ (g/ 100 g)	Lif (g/ 100 g)	Toplam fenolik bileşen	Toplam antosiyanin	C vitamini
Çilek ( <i>Fragaria ananasa</i> )	32	0.68	7.74	0.3	2.02	225 mg/100 g [16]	60–80 g/100 g [16]	65±6-112±5 mg/100 g [30]
Ahududu ( <i>Rubus idaeus</i> )	56	1.2	12.39	0.1	6.5	126 mg/100 g [16]	2.1±0.1-325.5±6.9 mg/100 g [31]	15.6±0.5-24.4±1.2 mg/100 g [31]
Böğürtlen ( <i>Rubus fruticosus</i> )	31	1.26	2.83	1.05	6.93	248 mg/100 g [16]	949.4 mg/100 g [16]	35.20-44.00 mg/100g [32]
Dut ( <i>Morus nigra</i> )	44	1.3	8.1	0.39	1.5	1874.35±6.00 - 2977.30±9.53 mg GAE/g [20]	674-787 µg Cy-3-glu/g [40]	19.73±0.10-31.34±0.16 mg/100 g [20]
Yaban mersini ( <i>Vaccinium myrtillus</i> )	44	0.46	8.49	0.46	2.73	181–585 mg/100 g [16]	6102-7465 mg/100g [41]	60.11±2.62 mg/100 g [33]
Mavi yemiş ( <i>Vaccinium corymbosum</i> )	44	0.46	8.49	0.46	2.73	525 mg/100 g [16]	1570-2762 mg/100g [41]	18.6 g/100g [34]
Tuma yemişi ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> )	44	0.46	8.49	0.46	2.73	120–315 mg/100 g [16]	0.398 mg/g [42]	10.07±0.20-20.74±0.24 mg/100 g [35]
Siyah frenk üzümü ( <i>Ribes nigrum</i> )	56	1.4	13.8	0.2	4.3	560 mg/100 g [16]	1741.6 mg/100 g [16]	6.2–14.04 g/kg [36]
Kırmızı frenk üzümü ( <i>Ribes rubrum</i> )	56	1.4	13.8	0.2	4.3	417.9±72.6 mg/100 g [21]	26.4±6.6 mg/100 g [21]	23.23±0.56 mg/100 g [37]
Kara müver ( <i>Sambucus nigra</i> )	48	2.5	7.4	0.5	4	19.81-23.90 mg GAE/g [22]	813±156 mg/100 g [43]	116.70±4.22 mg/100 g [33]
Üzüm ( <i>Vitis vinifera</i> )	69	0.72	18.1	0.16	0.9	91.35 mg GAE/g [23]	3.9±0.52 mg Cy-3-G/g [23]	11.21±0.10-35.74±0.33 mg/100 g [38]

\*Enerji ve besin ögesi değerleri BeBİS bilgisayar programı ile hesaplanmıştır. GAE: galkik asit eşdeğeri, Cy 3-glu: siyanidin 3-glukoz, mg: miligram, g: gram, kg: kilogram, kkal: kilokalori

Görüldüğü üzere, ROS'ları süpürme aktiviteleri nedeniyle üzüksü meyvelerin oksidatif strese karşı koruyucu olabileceği hem sağlıklı yetişkinlerde hem de MetS'li hastalarda gösterilmiştir [45-50]. Bu etkilerini toplam antioksidan kapasiteyi [45, 46] ya da antioksidan enzim seviyelerini artırarak gerçekleştirmektedir [47-50]. Çalışmalar sınırlı olduğu için başka kronik hastalıklar üzerinde ve uzun dönemdeki kesin mekanizmalarının aydınlatılması gerekmektedir.

### Diyabet Üzerine Etkisi

Diyabet (DM) pankreasta insülin eksikliği, insülin direnci veya her ikisinin birlikteliği sonucu kanda glukoz seviyesinin yükselmesine bağlı olarak gelişen ve kronik ya da akut komplikasyonlara neden olabilen bir hastalıktır [51]. Günümüzde DM prevalansı gün geçtikçe artmaktadır ve Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun raporuna göre dünyada her 11 kişiden biri DM'dir [52]. DM'nin seyrinin önlenmesinde beslenme en önemli unsurdur [53]. Üzüksü meyveler içerdiği yüksek antioksidan kapasite sayesinde kan glukoz regülasyonunda iyileşmelere yol açabilir.

Sağlıklı yetişkinlere tek doz 150 g İsveç kirazı (lingonberry), frenk üzümü püresi ya da 300 mL nektarının 35 g sükröz ile birlikte takviyesinin; her iki meyve alımdan sonraki ilk 30 dk boyunca sükröz kaynaklı postprandiyal glukoz ve insülin konsantrasyonlarını önemli ölçüde azalttığı ve iki saat boyunca daha yavaş bir düşüş ve önemli ölçüde geliştirilmiş glisemik profil sergilediği gösterilmiştir. Böylece sükrözün indüklediği geç postprandiyal hipoglisemik yanıt önlenmiştir [54]. Hafif şişman yetişkinlere tek doz 10 g liyofilize çilek takviyesi, yüksek karbonhidrat ve yağlı öğün tüketim sonrası postprandiyal insülin yanıtı, IL-6 ve CRP seviyelerini azaltmıştır [55]. Hafif şişman ya da obez erkeklerde yapılan başka bir çalışmada da 7 gün 600 g böğürtlen takviyesi insülini azaltarak, insülin direnci homeostatik model değerlendirmesi (HOMA-IR) seviyelerinde azalma sağlamıştır [56]. Obez ve insülin direnci olan hastalara 6 hafta günde 2 kez 22.5 g toz liyofilize yaban mersini takviyesinin insülin seviyelerini artırarak insülin duyarlılığını iyileştirdiği görülmüştür [57]. Benzer olarak, obez ve insülin direnci olan hastalara 3 ile 14 gün süre

ile 10, 20 ve 40 g liyofilize çilek tozu takviyesi sonrası öğünle ilişkili postprandiyal glisemiye önlemede 40 g dozunun en etkili olduğu saptanmıştır [58]. T2DM'li hastalara 24 hafta günde 2 kez 160 mg antosiyanin içeren yaban mersini ya da frenk üzümü takviyesi, antioksidan kapasitede artışa, 8-izoprostaglandin F2a, 13-hidroksioktadekadienoik asit ve karbonillenmiş protein konsantrasyonlarında ve açlık kan glukozu ile HOMA-IR seviyelerinde azalmaya yol açmış, insülin duyarlılığı ve serum adiponektinlerini artırmıştır [59].

Üzüksü meyvelerin insülin seviyelerini artırarak, kan glukozunu azaltarak insülin duyarlılığını artırdığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [54-59]. Bu olumlu etkileri tek doz alımda da sağlanmış olup, çalışmalar bunlarla sınırlıdır. Üzüksü meyvelerin fenolik bileşenlerinin anti-diyabetik aktivitesi, antioksidan, anti-inflamatuar, karbonhidrat sindirici enzim inhibisyonu ve gastrointestinal sistem, hücrel reseptör agonisti veya antagonist aktivitesindeki emiliminden veya henüz açıklanmamış yeni mekanizmalardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir [51].

### Kardiyovasküler Hastalıklar Üzerine Etkisi

Dünyada ölümler arasında ilk sırada yer alan KVH'lar özellikle Türkiye gibi gelişmekte olan ülkeleri etkilemektedir [60]. KVH; DM, obezite, bozulmuş lipid metabolizması, HT gibi birçok hastalık sonucu meydana gelebilmektedir. Üzüksü meyvelerin antioksidan kapasitesinin yüksek olmasından kaynaklı KVH üzerinde olumlu etkileri gösterilmiştir.

Sağlıklı erkeklere tek doz 300 g yaban mersini takviyesi tüketimden 1 saat sonra kontrolle karşılaştırıldığında hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kaynaklı DNA hasarını %18 oranında azaltmıştır. Yaban mersini takviyesinden sonra endojen DNA hasarı, periferik arter fonksiyonu ve nitrik oksit (NO) seviyeleri için önemli bir fark gözlenmemiştir [61]. Koroner arter hastalarına 4 hafta 480 mL turna yemişi suyu takviyesi, merkezi aort sertliğinin bir ölçüsü olan ortalama karotis-femoral nabız dalga hızını azaltmıştır. Brakiyal arter akım aracılı dilatasyon, dijital nabız genlik tonometrisi, kan basıncı ve karotis-radyal nabız dalga hızı ise değişmemiştir [62]. Periferik endotel

disfonksiyonu olan hastalara tek doz 230 mL turna yemişi suyu takviyesinin, periferik endotelial fonksiyon ve dolaşımdaki endotel progenital hücreler (EPC) sayıları üzerindeki etki göstermesi de plasebo ile karşılaştırıldığında, osteokalsin eksprese eden EPC fraksiyonunda bir azalmaya neden olmuştur. Ayrıca adezyon belirteci hücre içi adezyon molekülünün (ICAM) sistemik seviyeleri osteokalsin eksprese eden EPC sayıları ile anlamlı bir korelasyon göstermiştir [63].

Üzümsü meyvelerin koroner arter ve periferik endotel disfonksiyonu olan hastalar KVH semptomlarını azaltacağı turna yemişi suyu takviyesi sonrası gösterilmiştir [62, 63]. Ayrıca sağlıklı yetişkinlerde de DNA hasarını azaltarak KVH yakalanma riskini azaltabileceği düşünülmektedir [61]. Sonuçların genelleşebilmesi adına farklı meyve takviyelerinin farklı KVH gruplarında değerlendirilmesi gerekmektedir.

### Lipid Metabolizması Üzerine Etkisi

Lipid metabolizmasında meydana gelen bozukluklar direkt olarak KVH riski ile ilişkilidir. Türk toplumunun kalp sağlığını inceleyen TEKHARF çalışmasına göre, ülkemizde 1990 yılından bu yana trigliserit (TG) yüksekliği erkeklerde ortalama 25 mg/dL ve kadınlarda 20 mg/dL ile en fazla değişim sergileyen parametre olmuştur. Bu durum her iki cinsiyette de KVH riskini 1.4 kat artırmaktadır. Yine total kolesterol (TC) 12 milyon bireyde 200 mg/dL üzerindedir [60]. Üzümsü meyvelerin lipid profili üzerine etkileri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Sağlıklı yetişkinlere 4 hafta 150 g yaban mersini takviyesinin egzersizle birlikte insülin ve TG seviyelerinde azalma ile yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyelerinde artışa yol açmıştır [64]. Yine sağlıklı yetişkinlere 30 gün 200 mL kara mürver suyu takviyesi TG'leri %14.92, TC'ü %15.04, LDL'yi %24.67 oranında azalmış; HDL/LDL oranını %42.77 arttırmış ve serum antioksidan kapasitesinde artışa yol açmıştır [65]. Hafif şişman ya da obez yetişkinlere 12 hafta 25 ya da 50 g liyofilize çilek takviyesi sonucu doza bağımlı olarak LDL seviyelerinde önemli bir azalma meydana geldiği rapor edilmiştir. Her 2 dozda MDA seviyelerinde benzer azalmaya yol açmıştır ve kan basıncı, HDL, kan glukozu, TG ve TC üzerinde bir etki gösterilmemiştir [66].

Lipid metabolizması üzerine etkisi gösterilmeyen çalışmalarda mevcuttur. Örneğin, MetS'li hastalara 12 hafta 300 mL ahududu, çilek püresi ve cloudberry (çok soğuk bölgelerde yetişen üzüksü bir meyve türü) takviyesi sonucu kan basıncı, TC, TG, LDL, HDL ve oksidatif stres parametrelerinde bir fark gözlenmemiştir [67]. Benzer olarak, dislipidemik hastalara 8 hafta 300 mL böğürtlen suyu takviyesi kan lipidlerini etkilememiştir [68].

Üzümsü meyvelerin lipid metabolizması üzerine etkileri ilişkilidir. Yapılan bazı çalışmalarda TG, TC, LDL'yi azaltıcı etki gösterse de [64-66], herhangi bir etkisi olmadığını gösteren çalışmalarda mevcuttur [67, 68]. Etkileri gösterilmeyen çalışmalar meyvenin suyunu takviye olarak vermesinden kaynaklı antosiyanin ve

diğer antioksidan biyoaktif bileşenlerde kayıplar meydana gelmiş olabilir.

### Hipertansiyon Üzerine Etkisi

En sık görülen kronik hastalıklardan biri olan hipertansiyon (HT), önlenemez ve tedavi edilebilir bir hastalıktır. HT artan kan basıncıyla karakterizedir ve KVH'ların gelişmesinde etkili olan bir diğer kronik hastalıktır [59]. 2019 Türk Hipertansiyon Uzlaş Raporuna göre bu hastaların kesin olarak sağlıklı beslenmeye yönelmeleri, sebze ve meyve tüketimlerini artırmaları önerilmektedir [69].

HT seviyesi 1 olan menopoz sonrası kadınlara 8 hafta 22 g liyofilize yaban mersini takviyesi, sistolik kan basıncı (SBP), diyastolik kan basıncı (DBP) ve brakial ayak bileği nabız dalga hızını azaltmış, NO ve SOD seviyelerini yükseltmiştir [70]. MetS'li hastalara 6 hafta 680 mL yaban mersini suyu takviyesi, reaktif hiperemi indeksi (RHI)'ni değiştirmiş ve endotelin disfonksiyonunda iyileşme göstermiştir [71]. Dislipidemik hastalara 8 hafta 300 mL böğürtlen suyu takviyesinin apolipoprotein A-1 (Apo A-1), HDL, apolipoprotein- B (apo B)/apo A-1 oranı değiştirmemiş fakat 8 hafta sonra CRP seviyeleri ve SBP seviyeleri azalmıştır [68].

Lipid metabolizmasında olduğu gibi, HT üzerine üzüksü meyvelerin etkisi olmadığını gösteren çalışmalarda mevcuttur. Örneğin, kronik sigara içen erkeklere 6 hafta 250 mL yaban mersini suyu takviyesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen DNA hasarını azaltmış fakat kan basınçları, serum antioksidan enzimleri, serum lipid parametreleri ile glukozda bir değişikliğe yol açmamıştır [72]. Obez erkeklere 4 hafta 500 mL turna yemişi suyu takviyesi, SBP'de bir değişiklik göstermemiştir [73].

HT üzerine üzüksü meyvelerin etkinliğini değerlendiren çalışmalar yaban mersini ile böğürtlenin kan basınçlarını azaltarak, antioksidan enzim seviyelerini artırabileceğini göstermiştir [68, 70, 71] fakat etkisi olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [72, 73]. Etkisi gösterilmeyen çalışmayan obez ve kronik sigara içen erkeklerde gerçekleştirilmiş olup, HT hastalarındaki etkilerinin daha detaylı bir şekilde açıklanabilmesi adına klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

### Kanser Üzerine Etkisi

Önlenemez kanser türleri arasında ilk sırada yer alan kolon kanseri özellikle beslenme ile direkt olarak ilişkilidir. Sağlıklı beslenme koşullarının sağlanması, diyetle sebze ve meyve tüketiminin artırılmasının koruyucu etki gösterdiği kanıtlanmıştır [74]. Meyveler arasında antioksidan kapasitesinin yüksek olması nedeniyle üzüksü meyvelerin takviyelerinin hastalık semptomlarını azaltıcı etkileri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Tablo 2. Üzümü meyvelerin sağlık üzerine etkilerini değerlendiren klinik çalışmaların özetleri

Üzümü meyve türü	Doz	Takviye süresi	Örneklem	Sonuçlar	Kaynak
<b>Antioksidan ve Anti-inflamatuar Etkisi</b>					
Taze çilek	500 g	16 gün	12 sağlıklı yetişkin	Toplam antioksidan kapasitesinde artış	Tulipani ve ark. [45]
Liyofilize ahududu	30 g	4 hafta	15 sağlıklı erkek yetişkin	ALP aktivitesinde azalma, GPx aktivitesinde artış	Lee ve ark. [47]
Kara mürver suyu	480 mL	8 hafta	31 MetS'li kadın	Toplam antioksidan kapasitede artış; okside LDL ve MDA seviyelerinde azalma	Basu ve ark. [49]
Kara mürver suyu	700 mL	60 gün	56 MetS'li yetişkin	Adiponektinde artış, homosisteinde ve lipoproteinsidasyonda, ileri oksidasyon protein ürünlerinde azalma	Simao ve ark. [50]
Taze çilek	500 g	2 hafta	18 sağlıklı yetişkin	Lipid oksidasyonundan önceki gecikme fazında önemli bir artış, açık plazma antioksidan kapasitesi ve C vitamini düzeylerinde artış	Tulipani ve ark. [46]
%20 yaban mersini (bilberry) ve %80 kırmızı üzüm suyu içeren smoothie	330 mL	2 hafta	30 sağlıklı kadın yetişkin	Plazma SOD, katalaz enzim aktivitelerinde ve antioksidan kapasitesinde artış; plazma ve serum MDA seviyelerinde azalma	Kuntz ve ark. [48]
<b>Diyabet Üzerine Etkisi</b>					
Liyofilize yaban mersini tozu	22.5 g	6 hafta, günde 2 kez	32 obez ve insülin direnci olan yetişkin	Insülin seviyelerini artırarak insülin duyarlılığında iyileşme	Stull ve ark. [57]
Liyofilize çilek tozu	0 ve 10 g	Tek doz	24 hafif kilolu yetişkin	Postprandiyal insülin yanıtı, IL-6 ve CRP seviyeleri azalma	Edirisinghe ve ark. [55]
İsveç kirazı (lingonberry) ve Frenk üzümü püresi ya da nektarı	150 g püre ya da 300 mL nektar +35 g sukroz	Tek doz	20 sağlıklı yetişkin	Her iki meyve, alımdan sonraki ilk 30 dk. boyunca sukroz kaynaklı postprandiyal glukoz ve insülin konsantrasyonlarını önemli ölçüde azalttı; 2 saat boyunca kan glukozunda daha yavaş bir düşüş	Törrönen ve ark. [54]
Yaban mersini ve frenk üzümü	160 mg antosiyanin	24 hafta günde 2	58 T2DM'li hasta	Antioksidan kapasitede, insülin duyarlılığının ve serum adiponektinlerinde artış, 8-izoprostaglandin F2a, 13-hidroksioktadekadekanoik asit ve karbonillenmiş protein konsantrasyonlarının ve açlık kan glukozu ile HOMA-IR seviyelerinde azalma	Zhang ve ark. [59]
Liyofilize çilek	0, 10, 20, 40 g	Minimum 3, maksimum 14 gün	21 obez ve insülin direnci olan yetişkin	40 g dozu için, öğün ilişkili postprandiyal glisemiyi yönetmek için insülin ihtiyacını önemli ölçüde azalttı	Park ve ark. [58]
Boğurtlen	600 g	7 gün	27 hafif kilolu ya da obez erkek	Insülin seviyesinde ve HOMA-IR seviyelerinde azalma, yağ oksidasyonunda artış	Solverson ve ark. [56]
<b>Kardiyovasküler Hastalıklar Üzerine Etkisi</b>					
Turna yemişi suyu	480 mL	4 hafta	44 koroner arter hastası	Ortalama karotis-femoral nabız dalga hızında azalma	Dohadwala ve ark. [62]
Turna yemişi suyu	230 mL	Tek doz	59 periferik endotel disfonksiyonu olan hasta	EPC fraksiyonunda azalma ve ICAM'in sistemik seviyeleri ve EPC sayısı ile anlamlı bir korelasyon	Flammer ve ark. [63]
Taze yaban mersini	300 g	Tek doz	10 sağlıklı erkek yetişkin	1 saat sonra H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> kaynaklı DNA hasarında azalma	Del Bo ve ark. [72]
MDA: malondialdehit, TNF- $\alpha$ : tümör nekrozis faktörü alfa, IL-1: interleükin-1, IL-6: interleükin-6, IL-2: interleükin-2, IL-8: interleükin-8, IL-10: interleükin-10, SOD: süperoksit dismutaz, CRP: C reaktif protein, HOMA-IR: insülin direnci homeostatik model değerlendirilmesi, EPC: endotel progenital hücre, ICAM: hücre içi adhezyon molekülü-1, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : hidrojen peroksit, TG: total trigliserit, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein, TC: total kolesterol, LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein, Apo A-1: apolipoprotein A-1, Apo B: apolipoprotein B, SBP: sistolik kan basıncı, DBP: diyastolik kan basıncı, NO: nitrik oksit, ALP: alkalen fosfataz, GPx: glutatyon peroksidaz					



Tablo 2. Üzümsü meyvelerin sağlık üzerine etkilerini değerlendiren klinik çalışmaların özetleri (Devam)

Üzümsü meyve türü	Doz	Takviye süresi	Ömeklem	Sonuçlar	Kaynak
<b>Lipid Metabolizması Üzerine Etkisi</b>					
Taze yaban mersini	150 g	4 hafta	26 sağlıklı yetişkin	İnsülin ve TG seviyelerinde azalma; HDL seviyelerinde artış	Nyberg ve ark. [64]
Ahududu, çilek püresi ve cloudberry	300 g	12 hafta	32 MetS'li yetişkin	Kan basınçları, TC, TG, LDL, HDL ve oksidatif stres parametrelerinde bir fark gözlenmemiş	Puupponen-Pimia ve ark. [67]
Kara münver suyu	200 mL	30 gün	21 sağlıklı yetişkin	TG, TC ve LDL azalma; HDL/LDL oranı ve serum antioksidan kapasitesinde artış	Ivanova ve ark. [65]
Liyofilize çilek	25 ve 50 g	12 hafta	60 hafif şişman ya da şişman yetişkin	Doza bağımlı olarak LDL seviyelerinde önemli bir azalma; her 2 dozda MDA seviyelerinde benzer düzeyde azalma	Basu ve ark. [66]
<b>Hipertansiyon Üzerine Etkisi</b>					
Yaban mersini suyu	250 mL	6 hafta	18 kronik sigara içen erkek	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> kaynaklı DNA hasarında azalma	Riso ve ark. [72]
Turna yemişi suyu	500 mL	4 hafta	35 obez erkek yetişkin	SBP'de bir değişiklik meydana gelmemiş	Ruel ve ark. [73]
Boğurtlen suyu	300 mL	8 hafta	72 dislipidemik yetişkin	Apo A-1, HDL, Apo B/Apo A-1 oranı değişmemiş fakat 8 hafta sonra CRP ve SBP seviyeleri azalma	Aghababae ve ark. [68]
Liyofilize yaban mersini	22 g	8 hafta	48 HT seviyesi 1 olan menopoz sonrası kadın	SBP, DBP ve brakriyal ayak bileği nabız dalga hızında azalma, NO ve SOD seviyelerinde artış	Johnson ve ark. [70]
Yaban mersini suyu	680 mL	6 hafta	44 MetS'li yetişkin	Endotelin distonksiyonunda iyileşme	Stull ve ark. [71]
<b>Kanser Üzerine Etkisi</b>					
Liyofilize ahududu tozu	60 g	1-9 hafta	20 kolon kanseri hastası	Wnt yolğunun inhibitörleri olan SFRP2, SFRP5 ve WIF1 metilasyonunun modülasyonu (en az 4 haftalık tedavi) ve DNMT1 ekspresyonunda azalma	Wang ve ark. [75]
Liyofilize ahududu tozu	20 g	1-9 hafta	24 kolon kanseri hastası	Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör ve IL-8, TNF- $\alpha$ ve interferon- $\gamma$ 10 gün sonra başlayan azalma ile apoptozis ve anjiyogenesiste azalma	Mentor-Marcel ve ark. [76]
Liyofilize ahududu tozu	60 g	1-9 hafta	28 kolon kanseri hastası	Apoptoziste azalma	Pan ve ark. [77]
<b>Mikrobiyota Üzerine Etkisi</b>					
Liyofilize yaban mersini	250 mL (%10 kuru tozu)	6 hafta	20 sağlıklı erkek yetişkin	<i>Bifidobacterium</i> spp., ve <i>Lactobacillus acidophilus</i> popülasyonlarında artış	Vendrame ve ark. [80]
Liyofilize yaban mersini	250 mL (%10 kuru tozu)	6 hafta	15 sağlıklı yetişkin	<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i> seviyelerinde artış	Guglielmetti ve ark. [81]
Liyofilize frenk üzümü tozu	672 g	2 hafta	30 sağlıklı yetişkin	<i>Lactobacillus</i> spp. ve <i>Bifidobacterium</i> spp.'de artış; <i>Clostridium</i> spp. ve <i>Bacteroides</i> spp.'de azalma	Molan ve ark. [82]
Yabanmersini, frenk üzümü ve prebiyotik karışımı	215 mg antosiyanin	8 hafta	46 obez yetişkin	<i>Firmicutes</i> , <i>Actinobacteria</i> seviyeleri <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> oranında azalma; dışkı kalprotektininde anlamlı olmayan bir azalma	Hester ve ark. [83]

MDA: malondialdehit, TNF- $\alpha$ : tümör nekrozis faktör alfa, IL-1: interlekin-1, IL-6: interlekin-6, IL-2: interlekin-2, IL-8: interlekin-8, IL-10: interlekin-10, SOD: süperoksit dismutaz, CRP: C reaktif protein, HOMA-IR: insülin direnci homeostatik model değerlendirilmesi, EPC: endotel progenital hücre, ICAM: hücre içi adhezyon molekülü-1, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: hidrojen peroksit, TG: total trigliserit, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein, TC: total kolesterol, LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein, Apo A-1: apolipoprotein A-1, Apo B: apolipoprotein B, SBP: sistolik kan basıncı, DBP: diyastolik kan basıncı, NO: nitrik oksit, ALP: alkalen fosfat, GPx: glutatyon peroksidaz

Kolon kanseri hastalara 9 hafta 60 g liyofilize ahududu tozu takviyesi, 4 hafta sonra Wnt yolağı inhibitörleri olan SFRP2, SFRP5 ve WIF1'in metilasyonunun modülasyonunu ve DNMT1 ekspresyonunu azaltmıştır. Böylece, Wnt yolağı, hücre proliferasyon, apoptoz ve anjiyogenezi ile ilişkili genlerinin ekspresyonlarını koruyucu yönde modüle edilmiştir [75]. Başka bir çalışmada, 9 hafta 20 g liyofilize ahududu tozu takviyesi sonrası granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör, IL-8, TNF- $\alpha$  ve interferon- $\gamma$  10 gün sonra değişmeye başlayarak azalmış; apoptozis ve anjiyogenesistede azalma meydana gelmiştir [76]. Benzer olarak, 9 hafta 60 g liyofilize ahududu tozu takviyesi, metabolik yollar üzerine etki ederek apoptosistede azalma sağlamıştır [77].

Çalışmaların sonucu olarak, üzüm meyvelerinin takviyesinin kanserli hücre proliferasyonunu apoptozisi ve anjiyogenezi metabolik yollarla ve genlerin ekspresyonları üzerine etki ederek azaltabileceği gösterilmiştir [75-77]. Bu olumlu etkiler ahududu takviyesi ile gerçekleştirilmiş olup; farklı üzüm meyvelerinin etkileri yapılacak klinik çalışmalarla değerlendirilmelidir.

### Mikrobiyota Üzerine Etkisi

Mikrobiyota yaklaşık 1000 farklı türü ve 150'den fazla geni içerisinde bulundurur sağlığa ve hastalıklara katkıda bulunur [78]. Beslenme mikrobiyotayı direkt olarak etkileyebilme yeteneğine sahiptir ve böylece bakterilere gerekli besinleri sağlayabilir, bakterilerin kompozisyonu ile fonksiyonlarını düzenleyebilir [79]. Özellikle antosiyaninlerin ve bunlardan zengin besinlerin mikrobiyotayı olumlu yönde etkileyebileceği düşünülmektedir.

Sağlıklı erkeklere 6 hafta 250 mL yaban mersini suyu takviyesi, *Bifidobacterium* spp., ve *Lactobacillus acidophilus* popülasyonunda artışa yol açmış ve *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Enterococcus* spp., ile *Clostridium coccooides* popülasyonlarını değiştirmemiştir [80]. Sağlıklı yetişkilere 6 hafta 250 mL yaban mersini suyu takviyesi sonucu, *Bifidobacterium longum subsp. Infantis* popülasyonunda artış meydana getirirken; *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum subsp. longum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum* popülasyonlarını etkilememiştir [81]. Başka bir çalışmada, sağlıklı yetişkinlere 2 hafta 672 g liyofilize frenk üzümü tozu takviyesinin, *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. seviyelerini arttırdığı; *Clostridium* spp. ve *Bacterioides* spp. seviyelerini azalttığı gösterilmiştir [82]. Obez yetişkinlere 8 hafta 215 mg antosiyanin içeren yaban mersini ve frenk üzümü ile prebiyotik takviyesinin *Firmicutes*, *Actinobacteria* seviyelerinde ve *Firmicutes/Bacterioidetes* oranında azalmaya; *Bacterioidetes* popülasyonunda artışa yol açtığı rapor edilmiştir. Son olarak, inflamatuvar bir belirteç olan dışkı kalprotektininde anlamlı olmayan bir azalma görülmüştür [83].

Üzüm meyvelerinin sahip olduğu yüksek antioksidan ve anti-inflamatuvar etkilerden dolayı mikrobiyotayı olumlu yönde etkileyerek, sağlığı geliştirici bakterilerden

*Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Bacterioidetes* popülasyonlarını artırıcı etki göstermiştir [80-83]. Çalışmalara göre düzenli üzüm meyve tüketiminin mikrobiyotayı olumlu yönde etkileyerek, sağlığa katkıda bulunabileceği söylenebilir.

### SONUÇ

Son yıllarda önleyici tıbbın giderek daha önemli hale gelmesiyle ve artan yaşlı nüfus ve obezite prevalansı nedeniyle sağlıklı yaşam tarzına ve beslenmeye olan ilgi dünyada gün geçtikçe popüler hale gelmektedir [12]. Türkiye Avrupa ülkeleri arasında %32.1'lik obezite prevalansı ile birinci sırada yer almaktadır [84]. Obezite beraberinde DM, HT, KVVH ve kanser gibi birçok hastalığı beraberinde getirmektedir ve bu nedenle önleyici tedbirler bir an önce alınmalıdır. Sağlıklı beslenmenin önemli bir parçası olan meyvelerin, bulaşıcı olmayan hastalıkların küresel oranlarını azaltmak için üçüncü en önemli değiştirilebilir faktör olduğu gösterilmiştir [12]. Bunların arasında yer alan üzüm meyvelerinin, içerdikleri yüksek antosiyanin miktarları ile ve diğer biyoaktif bileşenleri sayesinde meyveler arasında en güçlü antioksidan kaynaklarıdır. Bu derlemede üzüm meyvelerinin antioksidan, anti-inflamatuvar [45-50], anti-DM [54-59], KVVH'lardan koruyucu [61-63], lipid metabolizmasını iyileştirici [64, 65, 66], HT'den koruyucu [68, 70, 71], kolon kanseri semptomlarını azaltıcı [75-77] etkileri ile mikrobiyota üzerine olumlu sonuçları olduğunu gösterilmiştir [80-83].

Sonuç olarak, özellikle antosiyanin başta olmak üzere antioksidan kapasiteyi artırıcı birçok biyoaktif bileşen içeren üzüm meyvelerinin sağlığı olumlu yönde etkileyerek, hastalıklara yakalanma riskleri ile semptomlarını azalttıkları gösterilse de kesin mekanizmaları ve uzun dönem etkilerinin saptanabilmesi için daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca incelenen çalışmalar arasında Türkiye'de yapılmış bir klinik çalışmaya rastlanmamış olup, ülkemizin meyve üretiminde dünyada önde gelen ülkelerden biri olarak beşinci sırada yer almasına rağmen üzüm meyvelerinin üretim miktarı düşüktür. Bu konuya olan ilginin artırılması hem bilimsel hem de üretimlerini artırmak amacıyla ekonomik açıdan oldukça önemlidir.

### KAYNAKLAR

- [1] Van Duyn, M.A., Pivonka, E. (2000). Overview of the health benefits of fruit and vegetable consumption for the dietetics professional: selected literature. *Journal of the American Dietetic Association*, 100(12), 1511-1521.
- [2] Slavin, J.L., Lloyd, B. (2012). Health benefits of fruits and vegetables. *Advances in Nutrition*, 3(4), 506-516.
- [3] Çağlar, M., Demirci, M. (2018). Üzüm meyvelerinde bulunan fenolik bileşikler ve beslenmedeki önemi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(11), 18-26.
- [4] Lavefve, L., Howard, L.R., Carbonero, F. (2020). Berry polyphenols metabolism and impact on human gut microbiota and health. *Food & Function*,

- 11(1), 45-65.
- [5] Del Bo, C., Martini, D., Porrini, M., Klimis-Zacas, D., Riso, P. (2015). Berries and oxidative stress markers: an overview of human intervention studies. *Food & Function*, 6(9), 2890-2917.
- [6] Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M.L., Vigna-Pérez, M., Hernández-Pérez, T. (2010). Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life-a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3), 299-308.
- [7] Hidalgo, G.I., Almajano, M.P. (2017). Red fruits: extraction of antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: a review. *Antioxidants*, 6(1), 7.
- [8] Olas, B. (2017). The multifunctionality of berries toward blood platelets and the role of berry phenolics in cardiovascular disorders. *Platelets*, 28(6), 540-549.
- [9] Olas, B. (2016). Sea buckthorn as a source of important bioactive compounds in cardiovascular diseases. *Food and Chemical Toxicology*, 97, 199-204.
- [10] Kristo, A.S., Klimis-Zacas, D., Sikalidis, A.K. (2016). Protective role of dietary berries in cancer. *Antioxidants*, 5(4), 37.
- [11] Wightman, J.D., Heuberger, R.A. (2015). Effect of grape and other berries on cardiovascular health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(8), 1584-1597.
- [12] Cassidy, A. (2018). Berry anthocyanin intake and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine*, 61, 76-82.
- [13] Giampieri, F., Forbes-Hernandez, T.Y., Gasparri, M., Alvarez-Suarez, J.M., Afrin, S., Bompadre, S., Quiles, J.L., Mezzetti, B., Battino, M. (2015). Strawberry as a health promoter: an evidence based review. *Food & Function*, 6(5), 1386-1398.
- [14] Nile, S.H., Park, S.W. (2014). Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30(2), 134-144.
- [15] Chrubasik, C., Li, G., Chrubasik, S. (2010). The clinical effectiveness of chokeberry: a systematic review. *Phytotherapy Research*, 24(8), 1107-1114.
- [16] Olas, B. (2018). Berry phenolic antioxidants—implications for human health? *Frontiers in Pharmacology*, 9, 78.
- [17] Türkiye İstatistik Kurumu, (2021). Meyve üretim miktarı. Erişim adresi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2021-37249> (Erişim tarihi: 26.11.2022).
- [18] Bayram, H.M., Öztürkcan, A. (2020). Antosiyanince zengin kiraz grubu meyvelerin insan sağlığı üzerine etkilerini inceleyen klinik çalışmalara bir bakış. *İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 11(4), 230–254.
- [19] Manganaris, G.A., Goulas, V., Vicente, A.R., Terry, L.A. (2014). Berry antioxidants: small fruits providing large benefits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(5), 825-833.
- [20] Okatan, V. (2018). Phenolic compounds and phytochemicals in fruits of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from the Aegean region in Turkey. *Folia Horticulturae*, 30(1), 93-101.
- [21] 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), FCT164-FCT169.
- [22] Viapiana, A., Wesolowski, M. (2017). The phenolic contents and antioxidant activities of infusions of *Sambucus nigra* L. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72(1), 82-87.
- [23] Doshi, P., Adsule, P., Banerjee, K. (2006). Phenolic composition and antioxidant activity in grapevine parts and berries (*Vitis vinifera* L.) cv. Kishmish Chorny (Sharad Seedless) during maturation. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(s1), 1-9.
- [24] Del Rio, D., Borges, G., Crozier, A. (2010). Berry flavonoids and phenolics: bioavailability and evidence of protective effects. *British Journal of Nutrition*, 104(S3), S67-S90.
- [25] Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J.M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., Battino, M. (2012). The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, 28(1), 9-19.
- [26] Zanutti, I., Dall'Asta, M., Mena, P., Mele, L., Bruni, R., Ray, S., Del Rio, D. (2015). Atheroprotective effects of (poly) phenols: a focus on cell cholesterol metabolism. *Food & Function*, 6(1), 13-31.
- [27] Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Alakomi, H.L., Oksman-Caldentey, K.M. (2005). Bioactive berry compounds—novel tools against human pathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67(1), 8-18.
- [28] Szajdek, A., Borowska, E.J. (2008). Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(4), 147-156.
- [29] Mullen, W., McGinn, J., Lean, M.E., MacLean, M.R., Gardner, P., Duthie, G.G., Yokota, T., Crozier, A. (2002). Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5191-5196.
- [30] da Silva Pinto, M., Lajolo, F.M., Genovese, M.I. (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chemistry*, 107(4), 1629-1635.
- [31] Bobinaitė, R., Viškelis, P., Venskutonis, P.R. (2012). Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars. *Food Chemistry*, 132(3), 1495-1501.
- [32] Zia-UI-Haq, M., Riaz, M., De Feo, V., Jaafar, H.Z., Moga, M. (2014). *Rubus fruticosus* L.: constituents, biological activities and health related uses. *Molecules*, 19(8), 10998-11029.
- [33] Zalewska-Korona, M., Kalbarczyk, J. (2009). Antioxidant capacity, ascorbic acid and phenolics content in wild edible fruits. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 17(2), 115-120.
- [34] Skupień, K. (2006). Evaluation of chemical composition of fresh and frozen blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L.). *Acta Scientiarum*

- Polonorum Hortorum Cultus*, 5(1), 19-25.
- [35] Oszmiański, J., Kolniak-Ostek, J., Lachowicz, S., Gorzelany, J., Matłok, N. (2017). Phytochemical compounds and antioxidant activity in different cultivars of Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* L.). *Journal of Food Science*, 82(11), 2569-2575.
- [36] Orsavová, J., Hlaváčková, I., Mlček, J., Snopek, L., Mišurcová, L. (2019). Contribution of phenolic compounds, ascorbic acid and vitamin E to antioxidant activity of currant (*Ribes* L.) and gooseberry (*Ribes uva-crispa* L.) fruits. *Food Chemistry*, 284, 323-333.
- [37] Nour, V., Trandafir, I., Ionica, M.E. (2011). Ascorbic acid, anthocyanins, organic acids and mineral content of some black and red currant cultivars. *Fruits*, 66(5), 353-362.
- [38] Eyduran, S.P., Akin, M., Ercisli, S., Eyduran, E., Maghradze, D. (2015). Sugars, organic acids, and phenolic compounds of ancient grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) from Igdir province of Eastern Turkey. *Biological Research*, 48(1), 2.
- [39] Özcan, M.M., Haciseferoğulları, H. (2007). The strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: chemical composition, physical properties and mineral contents. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1022-1028.
- [40] Ercisli, S., Tosun, M., Duralija, B., Voća, S., Sengul, M., Turan, M. (2010). Phytochemical content of some black (*Morus nigra* L.) and purple (*Morus rubra* L.) mulberry genotypes. *Food Technology and Biotechnology*, 48(1), 102-106.
- [41] Müller, D., Schantz, M., Richling, E. (2012). High performance liquid chromatography analysis of anthocyanins in bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.), blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.), and corresponding juices. *Journal of Food Science*, 77(4), C340-C345.
- [42] Cásedas, G., Les, F., Gómez-Serranillos, M.P., Smith, C., López, V. (2017). Anthocyanin profile, antioxidant activity and enzyme inhibiting properties of blueberry and cranberry juices: A comparative study. *Food & Function*, 8(11), 4187-4193.
- [43] Silva, P., Ferreira, S., Nunes, F.M. (2017). Elderberry (*Sambucus nigra* L.) by-products a source of anthocyanins and antioxidant polyphenols. *Industrial Crops and Products*, 95, 227-234.
- [44] Dusi, N., Cecchetto, F., Brambilla, P. (2015). Studies on Psychiatric Disorders. Magnetic Resonance spectroscopy studies in bipolar disorders patients: focus on the potential role of oxidative stress. Edited by Muszalska, A., Chauhan, V., & Grignon, S., Springer Science and Business Media New York, England, 172p.
- [45] Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J.M., Busco, F., Bompadre, S., Quiles, J.L., Mezzetti, B., Battino, M. (2011). Strawberry consumption improves plasma antioxidant status and erythrocyte resistance to oxidative haemolysis in humans. *Food Chemistry*, 128(1), 180-186.
- [46] Tulipani, S., Armeni, T., Giampieri, F., Alvarez-Suarez, J. M., Gonzalez-Paramás, A. M., Santos-Buelga, C., Busco, F., Principato, G., Bompadre, S., Quiles, J.L., Mezzetti, B., Battino, M. (2014). Strawberry intake increases blood fluid, erythrocyte and mononuclear cell defenses against oxidative challenge. *Food Chemistry*, 156, 87-93.
- [47] Lee, J.E., Park, E., Lee, J.E., Auh, J.H., Choi, H.K., Lee, J., Cho, S., Kim, J.H. (2011). Effects of a *Rubus coreanus* Miquel supplement on plasma antioxidant capacity in healthy Korean men. *Nutrition Research and Practice*, 5(5), 429-434.
- [48] Kuntz, S., Kunz, C., Herrmann, J., Borsch, C.H., Abel, G., Fröhling, B., Fröhling, B., Dietrich, H., Rudloff, S. (2014). Anthocyanins from fruit juices improve the antioxidant status of healthy young female volunteers without affecting anti-inflammatory parameters: results from the randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over ANTHONIA (ANTHOCyanins in Nutrition Investigation Alliance) study. *British Journal of Nutrition*, 112(6), 925-936.
- [49] Basu, A., Betts, N.M., Ortiz, J., Simmons, B., Wu, M., Lyons, T.J. (2011). Low-energy cranberry juice decreases lipid oxidation and increases plasma antioxidant capacity in women with metabolic syndrome. *Nutrition Research*, 31(3), 190-196.
- [50] Simão, T.N.C., Lozovoy, M.A.B., Simão, A.N.C., Oliveira, S.R., Venturini, D., Morimoto, H.K., Miglioranza, L.H.S., Dichi, I. (2013). Reduced-energy cranberry juice increases folic acid and adiponectin and reduces homocysteine and oxidative stress in patients with the metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition*, 110(10), 1885-1894.
- [51] Edirisinghe, I., Burton-Freeman, B. (2016). Anti-diabetic actions of Berry polyphenols—Review on proposed mechanisms of action. *Journal of Berry Research*, 6(2), 237-250.
- [52] International Diabetes Federation, (2019). International Diabetes Federation Atlas. Erişim adresi: <https://www.diabetesatlas.org/en/>. (Erişim tarihi: 12.15.2020).
- [53] T. C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, (2015). Türkiye Diyabet Programı 2015-2020. Erişim adresi: [https://extranet.who.int/ncdccs/Data/TUR\\_D1\\_T%C3%BCrkiye%20Diyabet%20Program%C4%B1%202015-2020.pdf](https://extranet.who.int/ncdccs/Data/TUR_D1_T%C3%BCrkiye%20Diyabet%20Program%C4%B1%202015-2020.pdf) (Erişim tarihi: 01.01.2021).
- [54] Törrönen, R., Kolehmainen, M., Sarkkinen, E., Mykkänen, H., Niskanen, L. (2012). Postprandial glucose, insulin, and free fatty acid responses to sucrose consumed with blackcurrants and lingonberries in healthy women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96(3), 527-533.
- [55] Edirisinghe, I., Banaszewski, K., Cappozzo, J., Sandhya, K., Ellis, C.L., Tadapaneni, R., Kappagoda, C.T., Burton-Freeman, B.M. (2011). Strawberry anthocyanin and its association with postprandial inflammation and insulin. *British Journal of Nutrition*, 106(6), 913-922.
- [56] Solverson, P.M., Rumpler, W.V., Leger, J.L., Redan, B.W., Ferruzzi, M.G., Baer, D.J., Castonguay, T.W., Novotny, J.A. (2018). Blackberry feeding increases fat oxidation and improves insulin sensitivity in overweight and obese males. *Nutrients*, 10(8), 1048.

- [57] Stull, A.J., Cash, K.C., Johnson, W.D., Champagne, C.M., Cefalu, W.T. (2010). Bioactives in blueberries improve insulin sensitivity in obese, insulin-resistant men and women. *The Journal of Nutrition*, 140(10), 1764-1768.
- [58] Park, E., Edirisinghe, I., Wei, H., Vijayakumar, L.P., Banaszewski, K., Cappozzo, J.C., Burton-Freeman, B. (2016). A dose-response evaluation of freeze-dried strawberries independent of fiber content on metabolic indices in abdominally obese individuals with insulin resistance in a randomized, single-blinded, diet-controlled crossover trial. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(5), 1099-1109.
- [59] Li, D., Zhang, Y., Liu, Y., Sun, R., Xia, M. (2015). Purified anthocyanin supplementation reduces dyslipidemia, enhances antioxidant capacity, and prevents insulin resistance in diabetic patients. *The Journal of Nutrition*, 145(4), 742-748.
- [60] Onat, A., Can, G., Yüksel, H., Ademoğlu, E., Enginel-Ünaltuna, N., Kaya, A., Altay, S. (2017). TEKHARF 2017: Tıp Dünyasının Kronik Hastalıklara Yaklaşımına Öncülük. Logos Yayıncılık Tic. A.Ş., Gayrettepe, İstanbul.
- [61] Del Bó, C., Riso, P., Campolo, J., Møller, P., Loft, S., Klimis-Zacas, D., Brambilla, A., Rizzolo, A., Porrini, M. (2013). A single portion of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L) improves protection against DNA damage but not vascular function in healthy male volunteers. *Nutrition Research*, 33(3), 220-227.
- [62] Dohadwala, M.M., Holbrook, M., Hamburg, N.M., Shenouda, S.M., Chung, W.B., Titas, M., Kluge, M.A., Wang, N., Palmisano, J., Milbury, P.E., Blumberg, J.B., Vita, J.A. (2011). Effects of cranberry juice consumption on vascular function in patients with coronary artery disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 93(5), 934-940.
- [63] Flammer, A.J., Martin, E.A., Gössl, M., Widmer, R.J., Lennon, R.J., Sexton, J.A., Loeffler, D., Khosla, S., Lerman, L.O., Lerman, A. (2013). Polyphenol-rich cranberry juice has a neutral effect on endothelial function but decreases the fraction of osteocalcin-expressing endothelial progenitor cells. *European Journal of Nutrition*, 52(1), 289-296.
- [64] Nyberg, S., Gerring, E., Gjellan, S., Vergara, M., Lindström, T., Nystrom, F.H. (2013). Effects of exercise with or without blueberries in the diet on cardio-metabolic risk factors: An exploratory pilot study in healthy subjects. *Uppsala Journal of Medical Sciences*, 118(4), 247-255.
- [65] Ivanova, D., Tasinov, O., Kiselova-Kaneva, Y. (2014). Improved lipid profile and increased serum antioxidant capacity in healthy volunteers after *Sambucus ebulus* L. fruit infusion consumption. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(6), 740-744.
- [66] Basu, A., Betts, N.M., Nguyen, A., Newman, E.D., Fu, D., Lyons, T.J. (2014). Freeze-dried strawberries lower serum cholesterol and lipid peroxidation in adults with abdominal adiposity and elevated serum lipids. *The Journal of Nutrition*, 144(6), 830-837.
- [67] Puupponen-Pimiä, R., Seppänen-Laakso, T., Kankainen, M., Maukonen, J., Törrönen, R., Kolehmäinen, M., Leppänen, T., Moilanen, E., Nohynek, L., Aura, A.M., Poutanen, K., Tomás-Barberán, F.A., Espín, J.C., Oksman-Caldentey, K.M. (2013). Effects of ellagitannin-rich berries on blood lipids, gut microbiota, and urolithin production in human subjects with symptoms of metabolic syndrome. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(12), 2258-2263.
- [68] Aghababae, S.K., Vafa, M., Shidfar, F., Tahavorgar, A., Gohari, M., Katebi, D., Mohammadi, V. (2015). Effects of blackberry (*Morus nigra* L.) consumption on serum concentration of lipoproteins, apo AI, apo B, and high-sensitivity-C-reactive protein and blood pressure in dyslipidemic patients. *Journal of Research in Medical Sciences*, 20(7), 684-691.
- [69] Aydoğdu, S., Güler, K., Bayram, F., Altun, B., Derici, Ü., Abacı, A., Tükek, T., Sabuncu, T., Arıcı, M., Erdem Y. (2019). 2019 Turkish Hypertension Consensus Report. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 47(6), 535-546.
- [70] Johnson, S.A., Figueroa, A., Navaei, N., Wong, A., Kalfon, R., Ormsbee, L.T., Feresin, R.G., Elam, M.L., Hooshmand, S., Payton, M.E., Arjmandi, B.H. (2015). Daily blueberry consumption improves blood pressure and arterial stiffness in postmenopausal women with pre-and stage 1-hypertension: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(3), 369-377.
- [71] Stull, A.J., Cash, K.C., Champagne, C.M., Gupta, A.K., Boston, R., Beyl, R.A., Johnson, W.D., Cefalu, W.T. (2015). Blueberries improve endothelial function, but not blood pressure, in adults with metabolic syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Nutrients*, 7(6), 4107-4123.
- [72] Riso, P., Klimis-Zacas, D., Del Bo, C., Martini, D., Campolo, J., Vendrame, S., Møller, P., Loft, S., De Maria, R., Porrini, M. (2013). Effect of a wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) drink intervention on markers of oxidative stress, inflammation and endothelial function in humans with cardiovascular risk factors. *European Journal of Nutrition*, 52(3), 949-961.
- [73] Ruel, G., Lapointe, A., Pomerleau, S., Couture, P., Lemieux, S., Lamarche, B., Couillard, C. (2013). Evidence that cranberry juice may improve augmentation index in overweight men. *Nutrition Research*, 33(1), 41-49.
- [74] Thanikachalam, K., Khan, G. (2019). Colorectal cancer and nutrition. *Nutrients*, 11(1), 164.
- [75] Wang, L.S., Arnold, M., Huang, Y.W., Sardo, C., Seguin, C., Martin, E., Huang, T.H.M., Riedl, K., Schwartz, S., Frankel, W., Pearl, D., Xu, Y., Winston, J.-3rd., Yang, G.Y., Stoner, G. (2011). Modulation of genetic and epigenetic biomarkers of colorectal cancer in humans by black raspberries: a phase I pilot study. *Clinical Cancer Research*, 17(3), 598-610.
- [76] Mentor-Marcel, R.A., Bobe, G., Sardo, C., Wang,

- L.S., Kuo, C.T., Stoner, G., Colburn, N.H. (2012). Plasma cytokines as potential response indicators to dietary freeze-dried black raspberries in colorectal cancer patients. *Nutrition and Cancer*, 64(6), 820-825.
- [77] Pan, P., Skaer, C.W., Stirdivant, S.M., Young, M R., Stoner, G.D., Lechner, J.F., Huang, Y.W., Wang, L.S. (2015). Beneficial regulation of metabolic profiles by black raspberries in human colorectal cancer patients. *Cancer Prevention Research*, 8(8), 743-750.
- [78] Wang, B., Yao, M., Lv, L., Ling, Z., Li, L. (2017). The human microbiota in health and disease. *Engineering*, 3(1), 71-82.
- [79] Bayram, H.M., Öztürkcan, A. (2020). Gıda katkı maddelerinin mikrobiyota üzerine etkisi. *Gıda*, 45(5), 1030-1046.
- [80] Vendrame, S., Guglielmetti, S., Riso, P., Arioli, S., Klimis-Zacas, D., Porrini, M. (2011). Six-week consumption of a wild blueberry powder drink increases bifidobacteria in the human gut. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(24), 12815-12820.
- [81] Guglielmetti, S., Fracassetti, D., Taverniti, V., Del Bo', C., Vendrame, S., Klimis-Zacas, D., Arioli, S., Riso, P., Porrini, M. (2013). Differential modulation of human intestinal bifidobacterium populations after consumption of a wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) drink. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(34), 8134-8140.
- [82] Molan, A.L., Liu, Z., Plimmer, G. (2014). Evaluation of the effect of blackcurrant products on gut microbiota and on markers of risk for colon cancer in humans. *Phytotherapy Research*, 28(3), 416-422.
- [83] Hester, S.N., Mastaloudis, A., Gray, R., Antony, J.M., Evans, M., Wood, S.M. (2018). Efficacy of an anthocyanin and prebiotic blend on intestinal environment in obese male and female subjects. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2018, 7497260.
- [84] World Health Organization, (2020). Obesity rate. Erişim adresi: <https://www.indexmundi.com/g/g.aspx?c=tu&v=2228> (Erişim tarihi: 23.03.2020).
-

## Elektronik Burun Metal Oksit Yarı İletken Sensörlerin Gıda Analizlerinde Kullanımı

Yasemin İncegül<sup>1</sup>  ✉, Gülcan Özkan<sup>2</sup> , Ali Can İncegül<sup>3</sup> , Kubilay Taşdelen<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Aksaray Üniversitesi, Güzelyurt Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Güzelyurt, Aksaray

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

<sup>3</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü, Isparta

Geliş Tarihi (Received): 07.07.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 20.10.2022

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [yaseminincegul@aksaray.edu.tr](mailto:yaseminincegul@aksaray.edu.tr) (Y. İncegül)

☎ 0 382 288 38 70 📠 0 382 288 38 99

### ÖZ

Son yıllarda gıdaların kalite özelliklerinin belirlenmesinde hızlı ve ekonomik teknikler geliştirilmesine yönelik çalışmalara artan ilgi nedeniyle, elektronik burun sistemlerine olan talep artmış ve bu sistemler hızlı teknikler arasında yerini almıştır. İnsan koku alma mekanizmasını taklit eden elektronik burun sistemlerinde farklı teknolojiler için farklı tiplerde tasarlanmış gaz sensörleri bulunmaktadır. Bu sensörlerden iletkenlik ölçümüne dayalı metal oksit yarı iletken gaz sensörleri (MOS) hızlı tepki vermesi, ucuz, sağlam ve portatif olmaları nedeniyle tıp, kimya, ziraat ile gıda sektöründe geniş kullanım alanı bulmuştur. Gıdaların kalitesi, raf ömrü, depolanması, mikrobiyal kontaminasyonu, bozulması, taşıması ve sınıflandırılması elektronik burun teknolojisi yoluyla yürütülen çalışmalar arasındadır. Elektronik burun metal oksit yarı iletken gaz sensörleri, mevcut gıda analizlerine bir alternatif oluşturmuş ve sonuçları doğrulama olanağı sağlamıştır. Bu derlemede elektronik burun metal oksit yarı iletken sensörleri ve özellikle gıda analizlerinde bu sensörlerin yardımıyla gerçekleştirilen bilimsel çalışmaların özetlenmesi amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Metal oksit, Sensör, Elektronik burun, Gıda

### Use of Electronic Nose Metal Oxide Semiconductor Sensors in Food Analysis

#### ABSTRACT

In recent years, demand for electronic nose systems has increased and has taken its place among the fast techniques due to increasing interest in the studies for developing fast and economic techniques in determining the quality properties of foods. Electronic nose systems that mimic the human olfactory mechanism have gas sensors designed for different technologies in different types. Metal oxide semiconductor gas sensors (MOS) based on conductivity measurement from these gas sensors has found wide usage in medicine, chemistry, agriculture, and food sector due to its rapid response, cheapness, robustness, and portability. Food quality, shelf life, storage, microbial contamination, degradation, adulteration, and classification are among the studies carried out by means of electronic nose technology. The use of electronic nose metal oxide semiconductor gas sensors can be an alternative to existing food analyses and provide an opportunity to verify their results. In this review, it is aimed to summarize electronic nose metal oxide semiconductor sensors and especially scientific studies carried out by these sensors in food analyses.

**Keywords:** Metal oxide, Sensor, Electronic nose, Food

## ELEKTRONİK BURUN ve METAL OKSİT YARI İLETKEN SENSÖRLER

Sensör, Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) tarafından, "kimyasal bir bileşiğe karşı verilen biyolojik yanıtı optik, termal ya da elektriksel sinyallere dönüştüren cihaz" olarak tanımlanmaktadır [1].

Birçok alanda nicel ve nitel araştırmalarda kullanılan sensörler kullanıcıya büyük avantaj sağlayan elektronik burun sisteminin temellerini atmıştır. Elektronik burun terimi 1980'li yıllarda kullanılsa da bu konu ile ilgili çalışmalar 1960'lı yıllara dayanmaktadır [2]. Ticari olarak üretime ise 1994'te başlanmıştır. İlk zamanlar basit bir model olarak ortaya çıkan elektronik burun zamanla artan ihtiyaçlara ve araştırmalara bağlı olarak daha kompleks bir hal almıştır [3].

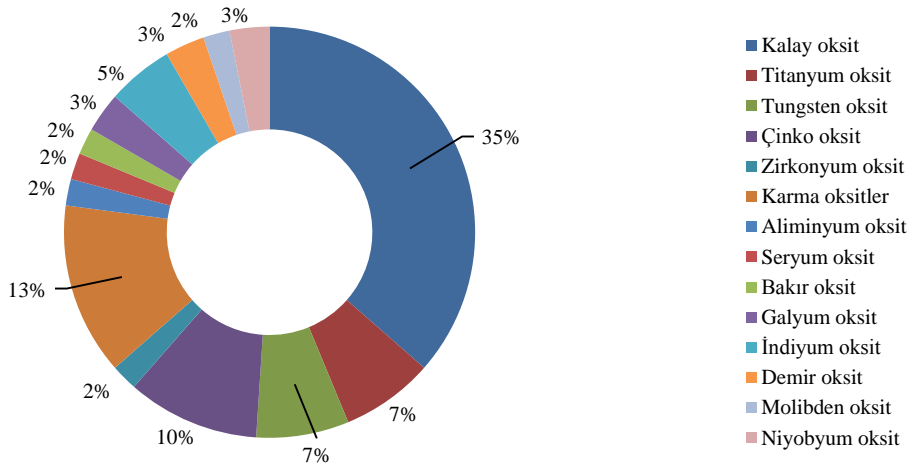
Sensör teknolojisi, elektronik, biyokimya ve yapay zeka alanındaki gelişmeler, uygulamalar için kaynaklardan salınan uçucu bileşenleri ölçüp, karakterize edebilen cihazlar gelişmesine imkan sağlamıştır. Elektronik burun (E-burun) olarak bilinen bu cihazlar, memeli koku alma sistemini taklit ederek tasarlanmıştır [4]. Elektronik burunda bulunan kimyasal reseptörler insan burnundaki koku reseptörlerine, yapay sinir ağları ise koku soğancığın denklemlerine gelmektedir. Elektronik burunun zararlı ve kötü gaz tespitinde kullanılmasının yanı sıra, operatör yorgunluğunu ortadan kaldırarak, aroma karışımlarının tanımlanmasında ve sınıflandırılmasında tekrarlanabilir ölçümler vermesi insan burnuna yönelik avantajlarıdır [5]. Elektronik burun sistemi, uçucu aromatik molekülleri kaynaktan sensör dizi sistemine aktaran aroma dağıtım sistemi, sensör dizisinin bulunduğu bir oda, kimyasal sinyal elektrik sinyaline dönüştüren ve güçlendiren elektronik transistör, elektrik sinyalini dijital sinyale dönüştüren dijital dönüştürücü, dijital sinyali okuyan, çıktıyı görüntüleyen bir bilgisayar mikro işlemcisi ve referans kitaplıktan oluşmaktadır [6,7]. Sensörler molekül farklılığına göre seçicilik gösterirler.

Sensörde meydana gelen tepkiler iletkenlik veya akım gibi bazı fiziksel parametrelerin değişimine sebep olarak sayısal veriler ortaya koyarlar [8].

Gaz sensörleri yanıcı ve toksik gazların tespiti yanı sıra, enerji tasarrufu, çevre, endüstri, tıp ve gıda alanı olmak üzere birçok alanda kullanım açığına sahiptir [9]. Gaz sensörlerinin ucuz, güvenilir, portatif olması ve az enerji tüketmesi geniş kullanım alanı bulmasına ve yenilikçi çalışmalar ile geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Yürütülen çalışmalar ile gerekli yüzey ve yığın özelliklerine sahip daha uygun malzeme araştırması yapılarak, daha yüksek seçiciliğe ve hassasiyete sahip gaz sensörleri geliştirilmektedir [10].

Farklı teknolojilerde farklı amaçlarla üretilmiş gaz sensörleri bulunmaktadır. Bunlardan bazıları, metal oksit yarı iletken sensörler (MOS), katalitik yanma gaz sensörleri, elektro kimyasal gaz sensörleri, termal iletkenlik gaz sensörleri ve kızılötesi absorpsiyon gaz sensörleridir [11]. Bu sensörler hassaslık, doğruluk, maliyet, belirleme hızı ve stabilite bakımından karşılaştırıldığında metal oksit yarı iletkenlerin çoğu özellik bakımından iyi durumda olduğu görülmektedir [12]. Metal oksit yarı iletken sensörlerin yüksek hassasiyeti, düşük maliyeti, basitliği, üretim esnekliği ve modern elektronik cihazlarla uyumlu oluşu bu ürünlerin kullanım alanını genişletmiştir ve bu sensörler gaz sensör pazarının önemli bir bölümünü oluşturmaktadır [13].

Metal oksit yarı iletken sensörlerin üretimi belirli bir substratın üzeri metal oksit yarı iletken film ile kaplanarak gerçekleştirilir [16]. Kalay oksit, çinko oksit, titanyum oksit, tungsten oksit ve ikili, üçlü kombine metaller kullanılan başlıca kaplama materyalleridir. Kaplama materyalinin hassas olduğu belirli gazlar ve bu gazları belirleme sıcaklıkları vardır. Gaz sensör uygulamalarında kullanılan metal oksit yarı iletkenleri ve belirlenen gazlar sırası ile Şekil 1 ve 2'de verilmiştir.

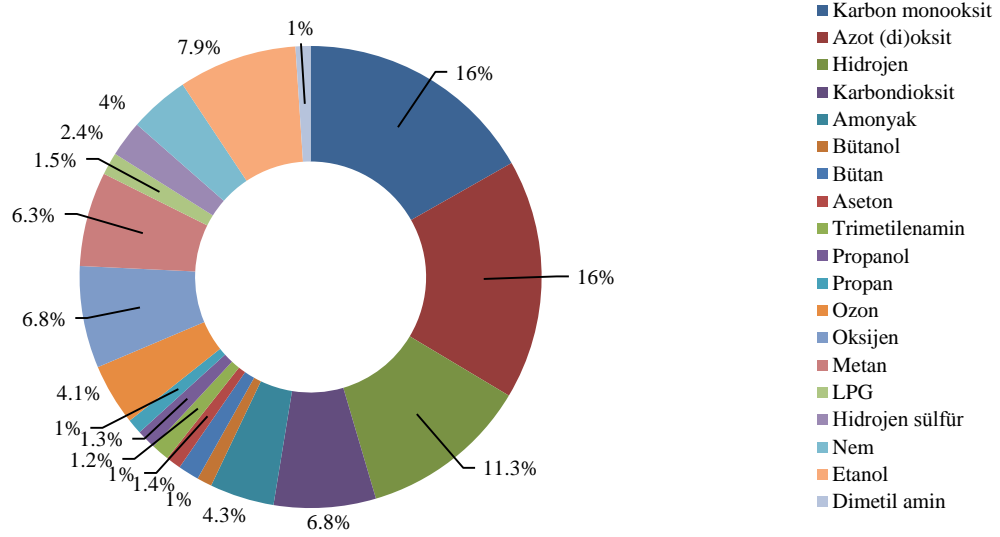


Şekil 1. Gaz sensör uygulamalarında kullanılan metal oksit yüzdeleri [10]  
Figure 1. Percentages of metal oxide uses in gas sensor applications [10]



Metal oksit gaz sensörü üretiminde en çok kullanılan metal, kalay oksittir ( $\text{SnO}_2$ ). Kalay oksitin yüksek hassasiyetli ve düşük fiyatlı oluşu birçok araştırma yapılmasına olanak sağlamış ve böylece en fazla çalışılan gaz sensör materyali olmuştur [10]. Kalay, kalay oksit ( $\text{SnO}_2$ ) ve kalay dioksit ( $\text{SnO}$ ) oluşumları şeklinde kullanılmaktadır. Materyalin cinsine, sıcaklığa ve çevrelenen gaza göre tespit limiti değişmektedir. Çoğu gaz ppb ve ppm seviyelerinde belirlenebilmektedir. Kalay oksitin farklı gazlara olan ilgisi ve belirleme sıcaklık aralığı  $\text{H}_2$  (25-650°C),  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (25-500°C),  $\text{CO}$  (131-570°C),  $\text{NO}_x$  (131-525°C),  $\text{CH}_4$  (200-320°C),  $\text{SO}_2$  (200-500°C),  $\text{H}_2\text{S}$  (300-450°C), ve  $\text{CO}_2$  için (450-500°C) şeklinde sıralanabilir [10].

Sensörlerin gaz algılama özellikleri kadmiyum (Cd), bizmut oksit ( $\text{Bi}_2\text{O}_3$ ) gibi asil metal veya metal oksit ilavesi ile değiştirilebilmektedir. İlave edilen maddeler sayesinde diğer gazlara olan seçicilik azaltılarak hedef gaza olan hassasiyet artırılabilir ve çalışma sıcaklığı düşürülebilir [14]. Paladyum ve platin gibi katalitik metalikler kalay oksit sensörlerin seçicilik ve tepkisini artırmak için sıklıkla kullanılmaktadır [15]. Metallerin birbiri üzerinde sinerjistik etkisi olmasından dolayı metal kompozisyonları en çok kullanılan ikinci sınıfı oluşturmaktadır. Kalay oksitin 5 ppm etanole duyarlılığı %30'larda iken indiyum oksit ile kompozisyonunda bu oran %60 civarında bulunmuştur [16].



Şekil 2. Metal oksit sensörler kullanılarak belirlenen gaz yüzdeleri  
Figure 2. Gas percentages determined by using metal oxide sensors

Şekil 2 incelendiğinde, gaz sensörü karbon monoksit, azot oksit ve türevleri gibi kirletici gazların tespitinde yüksek oranda kullanılırken, nitrit ( $\text{NO}$ ), nitrit dioksit ( $\text{NO}_2$ ), karbon monoksit ( $\text{CO}$ ), karbon dioksit ( $\text{CO}_2$ ), hidrojen sülfür ( $\text{H}_2\text{S}$ ), kükürt dioksit ( $\text{S}_2\text{O}$ ), ozon ( $\text{O}_3$ ), amonyak ( $\text{NH}_3$ ), metan ( $\text{CH}_4$ ) ve propan ( $\text{C}_3\text{H}_8$ ) gaz sensörleri ile belirlenen gazlar arasındadır [10].

Metal oksit dedektörler ile gazların yanında kalay oksit ( $\text{SnO}_2$ ) filmi kullanılarak farklı hidrokarbonların ayrımının gerçekleştirildiği çalışmalar da mevcuttur. Metal oksit yarı iletken sensör kullanılarak metil, etil, izopropil ve bütil alkol tayini de gerçekleştirilmektedir. Kalay oksidin, metanol, etanol, bütanol ve asetona tepki verdiği belirlenmiştir [17]. Uçucu bileşenler eser miktarda bulunduğu için MOS ile belirlenmesi yüksek oranda bulunan bileşenlere göre nispeten daha zordur [18].

Sıcaklık, metal oksit gaz sensörlerinin çalışmasını etkileyen önemli bir faktördür. Metal oksit yarı iletken gaz sensörleri düşük ve yüksek sıcaklıkta çalışma mekanizmasına göre iki sınıfa ayrılmaktadır. Düşük sıcaklıklarda (<100°C), su moleküllerinin düşük buhar basıncı oksidatif kimyasal reaksiyonları inhibe ettiği için

oksit yüzeyindeki reaksiyon yavaşlamaktadır [19]. Kalay oksit ( $\text{SnO}_2$ ) ve çinko oksit ( $\text{ZnO}$ ) düşük sıcaklıkta (400°C-600°C) çalışırken, titanyum dioksit ( $\text{TiO}_2$ ), seryum dioksit ( $\text{CeO}_2$ ) ve niyobyum pentoksit ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) yüksek sıcaklıkta (>700°C) çalışan metal oksitlerdir [20]. Sıcaklık değişimine göre gaz tepkisi incelendiğinde, belli bir sıcaklığa kadar artarak maksimuma ulaştığı ve sıcaklık artışı devam etmesi durumunda tekrar azaldığı belirlenmiştir [21].

Elektriksel direnç yanıtlarına göre metal oksit yarı iletken sensörler n-tipi ve p-tipi olmak üzere temelde iki farklı gruba ayrılır [22]. N-tipi metal oksit yarı iletkenler en yaygın kullanılan sensörlerdir. Prensipten dolayı, gaz tipine göre, n-tipi ve p-tipi sensörlerde farklı cevaplar meydana gelmektedir. Hidrojen, karbon monoksit ve etanol gibi indirgeyici gazlar n-tipi sensörlerde ( $\text{SnO}_2$ ) rezistansın düşüşüne sebep olurken, p-tipi sensörlerde ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) artışa sebep olurlar. Oksijen ve kükürt dioksit gibi okside edici gazlar ise indirgeyicilerin aksine n-tipinde artışa, p-tipinde azalışa sebep olarak metal oksitlerin yüzeyine bağlanırlar [23]. Sensör tiplerinin ilgili gaza olan direnç değişimi Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Gaz tipine göre sensörlerdeki direnç değişimi  
*Table 1. Changes in resistance of sensors according to gas type*

Gaz türü	N-tip yarı iletken sensör (ZnO, SnO <sub>2</sub> , TiO <sub>2</sub> , WO <sub>3</sub> , In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	P-tip yarı iletken sensör (Cu <sub>2</sub> O, Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , Mn <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , NiO)
İndirgeyici gaz (H <sub>2</sub> , CO, CH <sub>4</sub> , etanol, aseton)	Azalır	Artar
Okside edici gaz (O <sub>2</sub> , O <sub>3</sub> , NO <sub>x</sub> , SO <sub>2</sub> )	Artar	Azalır

Metal oksit gaz sensörleri serigrafi ve spin kaplama gibi çeşitli baskılama yöntemleri kullanılarak ince film ve kalın film olarak iki şekilde üretilmektedir. İnce filmlerde film kalınlığı 6-1,000 nm iken, kalın filmlerde 10-300 µm aralığındadır [3]. Gaz sensörlerinin hassaslığı kullanılan filmin kalınlığına, sensörün çalışma sıcaklığına ve tanelerin iriliğine göre değişmektedir. İnce filmlerin hassasiyeti daha yüksektir ve tanıma işlemini daha kısa sürede gerçekleştirirler [10]. Tane boyutunun değişmesi sensörün hassasiyetini önemli ölçüde etkilemektedir. Küçük taneler sensör seçiciliğini artırmakta, fakat çok küçük taneli yapıda, yapısal olarak deformasyonlar meydana geleceğinden dolayı sensörün raf ömrü etkilenmektedir [24].

Metal oksit sensör, yarı iletken parçacıkların yüzeylerindeki kimyasal maddeyi tanıyan reseptör ve yarı iletken yüzey üzerindeki kimyasal sinyali algılayan, iletken malzemenin mikro yapısı boyunca iletken dönüştürücü olmak üzere iki fonksiyondan oluşmaktadır [10]. Sensörlerin çalışma mekanizması incelendiğinde sensörün tepki vermesinin temelinde yatan etkenin sensör direncindeki değişim olduğu görülmektedir. Ölçüm esnasında, uçucu moleküller, yarı iletkenin yüzeyine tutunarak, oksijen türleri ile etkileşime girer ve sensör direncinde değişim meydana getirirler [25]. Bu aşamada büyüklüğü hedef gazın konsantrasyonuna bağlı olan bir sensör sinyali oluşmaktadır. Oluşan sensör sinyali sinyal işleme ve desen tanıma biriminde işlenerek materyal sınıflandırılması gerçekleştirilir [26].

Son yıllardaki pratik sensör uygulamaları analitik uygulamalar ile karşılaştırıldığında sensörlerin daha küçük boyutlu, uygun fiyatlı ve yüksek oranda hassasiyete sahip alternatif ölçüm olanağı sunduğu görülmektedir.

## GIDA ANALİZLERİNDE KULLANIMI

Teknolojinin gelişmesi ile tüketicilerin sağlıklı ve güvenilir gıdaya olan talebi artmaktadır. Tüketici talebi ile üretim hızlanmakta ve gerekli gıda kontrollerinin sisteme ayak uydurabilmesi için daha hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Gıdanın bünyesinde bulunan birçok uçucu bileşenden dolayı analiz işlemleri uzun zaman almaktadır. Gıda kalitesinin izlenmesinde pH, renk ve spektrofotometrik (FTIR, NIR, UV-Vis) yöntemler kullanılırken uçucu bileşen analizlerinde gaz kromatografisi (GC, GC-MS) kullanılmaktadır [27]. Bu analiz yöntemleri gıda bileşenlerinin detayı hakkında bilgi verip, yeni formülasyonların geliştirilmesi için önemli bir yere sahipken, çok zaman alması ve pahalı olması dezavantajlarıdır. Uzun süren analiz yöntemlerinin bazı gıda hatlarında göz ardı edilmesi ürün kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle hassasiyeti yüksek,

maliyeti düşük ve kısa sürede gerçekleştirilecek yeni gıda kontrol analiz yöntemlerinin karakterize edilmesi gerekmektedir. Elektronik burun gıda sektöründe bu açığı kapatabilecek hızlı analiz yöntemlerinden bir tanesidir [28]. Elektronik burun çoğu gıdada tespit ve sınıflandırma amacı ile kullanılmıştır.

Sensör dizisinden elde edilen sonuçlar karmaşık bir veri kümesi sunmaktadır. Materyaller arasındaki fark çok küçük olabileceğinden sensör yanıtındaki analitik sinyaller de birbirine çok yakın olabilmektedir. Bu nedenle elde edilen sinyallerin doğru bir şekilde işlenip yorumlanabilmesi için veri analizi gerekmektedir [29]. Veri analizi verileri sınıflandırarak veri kümesindeki benzerlik ve farklılıkların daha iyi ayırt edilmesine olanak sağlamaktadır. Principal Component Analysis (PCA), Linear Discriminant Analysis (LDA), Support Vector Machines (SVM), Artificial Neural Networks (ANN), Cluster Analysis (CA), Discriminant Partial Least-Squares Regression (DPLSR), Partial Least Squares Analysis (PLS), Partial Least Squares-Linear Discriminant Analysis (PLS-LDA), Discriminant Factor Analysis (DFA), The Back Propagation Neural Network (BPNN), Generalized Regression Neural Network (GRNN), Canonical Discriminant Analysis (CDA), Back-Propagation Artificial Neural Network (BP-ANN), Fisher Linear Discriminant Analysis (FLDA), Multilayer Perceptron Neural Networks Analysis (MLPN), Quadratic Discriminant Analysis (QDA), Hierarchical Clustering Analysis (HCA), Canonical Discriminant Analysis (CANDISC) ve Discriminant Analysis and Classification (DISCRIM) kullanılan başlıca veri işleme analiz yöntemleridir [30].

## Süt ve Süt Ürünleri Teknolojisi

Elektronik burun metal oksit sensörleri süt ve süt ürünlerinde kalite belirleme, mikrobiyal yük, kötü koku, olgunlaşma, raf ömrü, mastitis, UHT ve pastörize süt ayrımı, tereyağı ayrımı ve farklı peynirlerin sınıflandırılmasında kullanılmıştır. Yürütülen çalışmalar Tablo 2'de verilmiştir.

Ketozisli ineklerin teşhisinde metan, dimetil sülfür, bütan-2-1 ve propanon (aseton) gazları referans alınmıştır. Hastalık teşhisinde daha maliyetli olan Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) kimyasal yöntemleri kullanılabilir. Hastalık süt ve kanın laboratuvar testleri sonucunda da belirlenebilmektedir fakat sensöre dayalı yöntemlere göre, daha fazla zaman gerekirken, işlem kısmı zor ve hayvana bizzat müdahale olduğu için otomatik olarak uygulanması sınırlıdır [31].

Tablo 2. Süt ve süt ürünlerinde metal oksit yarı iletken gaz sensörlerin kullanımı

**Table 2. Use of metal oxide semiconductor gas sensors in milk and dairy products**

Materyal	Amaç	Sensör adedi	Veri işleme	Referans
İnek nefesi	Ketozisli inekleri ayırma	6	PCA, CA	[31]
Süt	Kalite belirlenmesi	4	PCA	[32]
Süt	Raf ömrü	18	PCA	[33]
Süt	Mastitis ayırımı	12	DPLSR, ANN	[34]
Süt	UHT-Pastörize ayırımı	4	PCA	[35]
Süt	Ransidite seviyesi	5	PCA	[36]
Süt	UHT ayırma	10	PCA, LDA	[37]
Süt	Ayırma	7	PCA, SVM	[38]
Süt-Yoğurt	Ayırma	-	CA	[39]
Süt	Ayırma	18	PCA	[40]
Tereyağı	Ayırma	10	PLS-LDA	[41]
Süt	Ayırma	6	DFA	[42]
Peynir	Olgunluk	12	PCA	[43]
Peynir	Sınıflandırma	8	PCA	[44]
Peynir	Sınıflandırma	6	ANN	[45]
Peynir	Ayırma	6	CA	[46]

Sütün raf ömrünün araştırıldığı çalışmada süt örnekleri oda sıcaklığı ve 5°C'de depolanmış ve elektronik burnun mikrobiyal artış ile paralel şekilde sütte ki bozulmayı belirleyebildiği ifade edilmiştir [33]. Yürütülen diğer bir çalışmada mastitisli sütün teşhisinde karbondioksit gaz sensörü ile kombin edilmiş elektronik burun sistemi kullanılmıştır. Çalışmada elektronik burnun ayırım mekanizmasının anlaşılabilmesi için GC-MS ile var olan uçucu bileşenler tespit edilmiştir. Mastitis ile süt içeriğinin ve canlı sayısının önemli oranda değişmesi elektronik burnun da algılayabildiği olası kimyasallarda değişikliğe sebep olduğu, böylece hızlı şekilde sağlıklı ve mastitisli sütün ayrılabilceği yorumlanmıştır [34].

Süte uygulanan farklı sıcaklık uygulamalarının ayırımında elektronik burun kullanımı diğer bir alandır. Süte uygulanan sıcaklık derecesi ve süresine bağlı olarak sütün aroması ve kokusu değişmektedir, bu değişiklikler baz alınarak ayrımlar başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir [38,40].

### Et Teknolojisi

Et sektöründe de elektronik burun kullanımı güvenilir ve yaygın bir analiz yöntemidir. Son 20 yılda elektronik burun ile et üzerine yapılan çalışmalar artış göstermiştir ve daha çok tazelik, sınıflandırılma, mikrobiyoloji, kalite ve lezzet çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen çalışmalar Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Et ve et ürünlerinde metal oksit yarı iletken gaz sensörlerin kullanımı

**Table 3. Use of metal oxide semiconductor gas sensors in meat and meat products**

Materyal	Amaç	Sensör adedi	Veri işleme	Referans
Balık	Tazelik	4	PCA, SVM, PLS	[47]
Ahtapot	Formaldehit tespiti	6	DFA	[48]
Domuz eti	Tazelik	-	LDA	[49]
Sığır eti	Tazelik	12	BPNN, GRNN	[50]
Domuz eti	Bakteriyel yük	18	PLS-SVM	[51]
Domuz eti	Hile	10	CDA, BDA	[52]
Domuz eti	Tazelik	11	BPNN	[53]
Tavuk eti	Bakteriyel yük	8	PCA, BPNN	[54]
Kuru domuz eti	Okratoksin tespiti	12	DFA	[55]
Sığır eti		10	RMLA	[56]
Koyun eti/Ördek eti	Tağışış	10	MLPN, FLDA, PLS, LDA	[57]
Domuz kaburgası	Aroma, E-burun etkinliği	10	PCA	[58]
Sığır eti, tavuk eti	Tazelik	4	PCA, SVM, PLS	[59]
Balık	Uçucu bileşen / kurutma yöntemi	10	CA	[60]

Et sektöründe elektronik burun genellikle etlerin tazeliğinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Tablo 3). Bu çalışmalarda balık, domuz ve sığır eti gibi farklı et kaynakları kullanılmıştır. Hızlı mikrobiyal artış ve lipid oksidasyonu sonucu etin tadı ve aroması değişmektedir. Yürütülen çalışmalar ile bozulmayla paralel şekilde elektronik bir ayırım yapılabildiği ifade edilmektedir. Altın pompano filetosuna farklı kurutma işlemleri uygulanarak etkileri elektronik burun ve elektronik dil ile kombine edilen eşzamanlı damıtma ekstraksiyonu ve GC-MS ile irdelenmiştir. Kurutulmuş filetolara 86 adet uçucu

bileşen olduğu ve elektronik cihazların bu bileşenleri ayırt edebildiği sonucu çıkarılmıştır [60]. Araştırmalar genel olarak incelendiğinde et tazelik, sınıflandırılma, mikrobiyoloji, kalite ve lezzet analizlerinde elektronik burun ve elektronik dil kullanımı ve GC-MS gibi nispeten zahmetli fakat güvenli bir teknikle alınan bu sonuçların doğrulanması ile başarılı sonuçlar alındığı saptanmıştır. Ancak, çalışmalarda dezavantaj olarak ortam sıcaklığı ve nemi gibi dış faktörlerin sensör hassasiyetini azalttığı ve tekrarlanabilirliği düşürdüğü bildirilmiştir. Eğer sensör hassasiyetini azaltan dış faktörler kontrol altında

tutulabilirse, özellikle hızlı bir teknik olan elektronik burnun et sektöründe pratik ve güvenli bir yöntem olarak kullanılabilirliği görülmektedir.

### Bitkisel Yağ Teknolojisi

Bitkisel yağ kalitesi meyvenin durumu, yetiştirme koşulları, hasat zamanı, depolanması, ekstraksiyon koşulları ve işlenmesi ile yakından ilişkilidir. Yağ bileşiminde aromadan sorumlu birçok uçucu bileşen bulunmaktadır. Yağın aroma tayini duyu analizi ve gaz kromatografisi ile gerçekleştirilebilirken 1990'larda alternatif ve hızlı bir yöntem olan elektronik burun tayin metodlarına dahil

olmuştur. Elektronik burun kullanılarak yağda aroma, taşıma, kalite, oksidasyon ve sınıflandırma çalışmaları gerçekleştirilmiştir ve bu çalışmalar Tablo 4'te verilmiştir.

Kemometrik teknikler gıda alanında ve analitik kimyada gittikçe yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Gıdaların tazeliği, kalitesi, orijini, sınıflandırılması, hilelerin belirlenmesi ve aromasının belirlenmesi bu uygulamalardan bazılarıdır. Elektronik burnun yağ teknolojisi üzerine yürütülen çalışmaları incelendiğinde çoğunlukla hile, oksidasyon ile coğrafi orijin analizleri göze çarpmaktadır (Tablo 4).

Tablo 4. Bitkisel yağlarda metal oksit yarı iletken gaz sensörlerin kullanımı

*Table 4. Use of metal oxide semiconductor gas sensors in vegetable oil*

Materyal	Amaç	Sensör adedi	Veri işleme	Referans
Zeytinyağı	Oksidasyon	6	LDA	[61]
Zeytinyağı	Oksidasyon	22	LDA	[62]
Zeytinyağı	Oksidasyon	22	PCA	[63]
Kolza	Oksidasyon	6	PCA, PLS	[64]
Çoklu bitkisel yağ	Oksidasyon	10	PCA, LDA, CA	[65]
Ayçiçek	Oksidasyon	18	PCA	[66]
Ayçiçek	Oksidasyon	18	PCA	[67]
Zeytinyağı	Orijin	22	PCA, CP-ANN	[68]
Zeytinyağı	Orijin/Sınıflandırma	15	PCA	[69]
Susam yağı	Sınıflandırma	6	PCA	[70]
Zeytinyağı	Orijin	25	PCA, CA, SVM	[71]
Zeytinyağı	Orijin	6	PCA, LDA	[72]
Zeytinyağı	Hile	12	LDA, QDA, ANN	[73]
Zeytinyağı/Fındık yağı	Hile	6	PCA	[74]
Kanola Yağı/Ayçiçek yağı	Hile	6	PCA, PLS	[75]
Argan yağı	Hile	25	PCA, DFA, SVM	[76]
Kamelya tohum yağı/Susam yağı/Mısır yağı	Hile	10	PCA, LDA, ANN	[77]
Zeytinyağı	Kusur	6	LDA, ANN	[78]
Hindistan cevizi yağı	Ransidite	8	PCA	[79]

Zeytinyağlarında oksidasyonun belirlendiği çalışmada, taze ve olgunlaştırılmıştır sızma zeytinyağı farklı depolama şartları ve periyotlarında tutularak elektronik burun ve elektronik dil ile analiz edilmiş ve linear discriminant analysis (LDA) ile sınıflandırma yapılmıştır. Klasik yöntemler ve elektronik dil sonuçları LDA ile açık bir şekilde yorumlanamaz iken elektronik burun çalışma sonuçlarının net bir şekilde yorumlanabildiği ve oksidasyon derecesini ayırabildiği, aynı zamanda klasik yöntemlere göre daha hızlı, kolay ve ekonomik sonuç verdiği ifade edilmiştir [62].

Zeytinyağlarının coğrafi orijini üzerine yapılan diğer çalışmalarda ise farklı merkezlerden hammaddeler temin edilen zeytinyağlarının elektronik dil ve elektronik burun kombin edilerek ölçümleri alınmıştır ve başarılı bir ayırım gerçekleştirilmiştir. Ancak, daha sağlıklı güvenilir sonuçlar alınabilmesi için çalışmalar esnasında yağın koku ve aromasını etkileyen dış faktörler ve ortam şartları gibi parametrelerin sabit tutulması gerekmektedir [71, 72].

Yağlarda yapılan hilelerin tespiti için elektronik burun kullanımı ise diğer bir uygulamadır. Bu araştırmalarda elektronik urun sinyallerinin her yağda farklı olduğu böylece yağa ilave edilen farklı yağların sinyallerde değişime sebep olarak tespit olanağı bulunduğu belirlenmiştir [77]. Aynı zamanda, yapılan çalışmalarda

farklı algoritmalarla farklı yüzdesel sonuçlar elde edilebileceği hatta kimi materyalde sonuç alınırken kimisinde ayırım yapılamadığı bildirilmiştir. Örneğin yapay sinir ağları ile yorumlanan bir çalışmada elektronik burun susam yağında hileyi belirlerken kamelya tohumu yağındaki hile yüzdesini belirleyemediği bulunmuştur. Yağ hile analizlerinde, elektronik burnun güvenilir bir şekilde kullanılabilmesi için daha fazla algoritma çalışması yapılmalı ve hile analizleri için yağlara göre doğru algoritmaların seçilmesi gerekmektedir.

Diğer bir çalışmada elektronik burun yağdaki kötü, çamurlu, küflü, ransit ve şarapsı kusurları belirlemede kullanılmış ve E-burun yanı sıra duyu analizi değerlendirilmelerde gerçekleştirilmiştir. Elektronik burnun yağlarda bu yaygın defektleri özellikle kaçınarak başarılı bir şekilde belirleyebildiği ve ilerisi için E-burun ile kombineli panelistlerin kullanılabilirliği böylece değerlendirilmelerde insan etkisinin minimum seviyeye düşürülerek doğrulanmış bir analiz sonucunun elde edilebileceği ifade edilmiştir [78].

### Tahıl ve Unlu Mamuller Teknolojisi

Un ve mamulleri toplumun çoğu tarafından tüketilen temel besin öğesidir ve bozulmaya oldukça elverişlidir, bu sebeple tahılların sınıflandırılması, depolanması,

mikrobiyolojik kalitesi ve ekmeğe işlenmesi hem üretici hem tüketici açısından önem arz etmektedir. Tahıl analizlerinde elektronik burun hızlı cevap veren yeni bir

yöntem olarak yerini almıştır ve bu amaçlar doğrultusunda yürütülen çalışmalar Tablo 5'te derlenmiştir.

Tablo 5. Unlu mamul ve tahıllarda metal oksit yarı iletken gaz sensörlerin kullanımı

*Table 5. Use of metal oxide semiconductor gas sensors in bakery products and cereals*

Materyal	Amaç	Sensör adedi	Veri işleme	Referans
Ekmek	Ayırma	10	HCA	[80]
Ekmek	Ayırma	12	CANDISC, DISCRIM	[81]
Bisküvi	Ayırma	10	PCA	[82]
Bebek tahıl ürünleri	Ayırma	16	PCA, SQC	[83]
Bisküvi	Pişirme Derecesi	10	PCA	[84]
Ekmek	Pişirme Derecesi	4	PCA	[85]
Buğday unu	Aroma	-	PCA	[86]
Buğday	Depolama	15	PCA, MLP	[87]
Buğday	Maya incelemesi	6	PCA	[88]
Çeltik-Mısır	Mikroorganizma belirleme	8	PCA	[89]
Makarnalık buğday	Mikotoksin belirleme	12	-	[90]
Mısır	Mikotoksin belirleme	6	PCA, PLS	[91]
Mısır	Mikotoksin belirleme	10	PCA	[92]
Makarnalık buğday	Mikotoksin belirleme	12	DFA	[93]
Yulaf ezmesi	Lipit oksidasyonu	-	PCA, SIMCA	[94]
Pirinç	Zararlı incelemesi	10	PCA, LDA, PNN, BPNN	[95]
Kakao çekirdeği	Kalite	6	PCA, BPNN	[96]
Pirinç	Kontaminasyon	10	PCA, SVM, k-NN, BPNN	[97]

Tablo 5 değerlendirildiği zaman, elektronik burnun genellikle ekmeğin sınıflandırılmasına, aromasına ve diğer tahılların farklı analizlerine yönelik çalışmalarda kullanıldığı görülmektedir. Ekmekte duyu kalite çoğunlukla tanımlayıcı testler, tüketici testleri ve kütle spektrometrisi ile belirlenmektedir. Yapılan çalışmalar enstrümental analiz teknikleri gibi pahalı ve fazla zaman gerektiren testler yerine ekmeğin teknolojisinde de daha hızlı, ucuz ve tahribatsız olan elektronik burnun, görüntüleme teknikleri ve doku analiz yöntemleri ile başarılı bir şekilde kullanılabilirliğini göstermiştir.

Bisküvinin pişirme derecesinin belirlenmesi üzerine yapılan bir diğer çalışmada ise farklı sürelerde pişirme işlemi uygulanmış bisküviler E-burun ile çiğ, az pişmiş, iyi pişmiş ve fazla pişmiş olarak başarılı bir şekilde ayrılabilmiş ve bu ayrımların geleneksel fiziko-kimyasal pişirme indeksleri ile benzer olduğu ve tamamlandığı rapor edilmiştir [84].

Tahıl depolanmasına yönelik çalışmaların ilkinde, %16 ve %20 başlangıç nem içeriklerine sahip buğdaylar 20 hafta boyunca depolanarak elektronik burun ile mikotoksin içeriği ve kalite parametreleri değişimi değerlendirilmiştir. Çalışmada 12 farklı MOS kullanılmış ve 9'unun iki farkı neme sahip buğdaylardaki kokuları %20 oranında ayırabildiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda, sensör cevapları klasik bir ölçüm ile doğrulanarak sensörlerden alınan sinyallerin ise okratoksin ve sitrinin oluşumu ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir [90].

Bir diğer muhafaza çalışmasında ise mısır tanelerinde fumonisinin belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda elektronik burnunun eşik değerine göre fumasin miktarını tahmin edebildiği ve hızlı bir şekilde sonuç alınabildiği böylelikle E-burun uygulamasının mikotoksin belirleme için kullanılabilirliği ifade edilmiştir [92].

Tahıllardaki oksidasyonun belirlenmesi üzerine yulaf ezmesinde de ile çalışma yürütülmüş ve E-burun kullanılmıştır. Antioksidan içerikli filmin oksidasyon üzerine etkisi araştırılarak kemometrik ölçümler ile başarılı bir şekilde oksidasyon ölçümü gerçekleştirilmiştir [94].

Gelişmekte olan ve gelişmiş ülkeler de toplumun çoğunun tahıl ağırlıklı beslendiği göz önüne alınırsa tahıl ve ürünlerinin kalitesinin değerlendirilmesi ve güvenliğinin sağlanması son derece önem arz eden bir konudur. Bu sebeple gıdaların analizinde hızlı ve ekonomik yöntemlerin gün geçtikçe önemi artmaktadır ve yapılan çalışmalar özellikle tahıl ve unlu mamuller teknolojilerinde elektronik burnun diğer yöntemlere alternatif olarak kalite, sınıflandırma, oksidasyon ve mikotoksin analizlerinde kullanılabilirliğini göstermektedir.

### Meyve–Sebze Teknolojisi

Meyve sebzelerin aroması, tazeliği ve olgunluğu tüketici tercihlerini önemli derecede etkilemektedir ve bu konularda meyve sebze alanında gerçekleştirilen çalışmalar Tablo 6'da verilmiştir. Elektronik burun meyve sebzelerin aroma, tazelik, olgunluk gibi kalite parametrelerinin değerlendirilmesinde klasik, uzun süren ve maliyetli yöntemlere hızlı, uygun fiyatlı ve portatif bir alternatif tayin yöntemi olarak ortaya çıkmaktadır (Tablo 6). Özellikle bu yöntem uygulamada en çok meyve ve sebzelerin olgunluk değerinin belirlenmesinde ve hasat zamanının tespitinde kullanılmıştır. Elma, kayısı, böğürtlen, muz, çilek, şeftali, mango ve domates gibi çoğu meyve sebzede olgunluk çalışması gerçekleştirilmiştir. Meyve tohumdan olgun duruma gelene kadar olgun olamayan, yarı olgun ve olgun olmak üzere üç evrede değişime uğramakta ve bu evrelerin her birinde gaz salınımı olmaktadır. E-burun kullanılarak bu gazların ölçümüyle tarım sektöründe

özellikle lojistik süresini etkileyip, maddi kayıplara zamanı belirlenebilmektedir (Tablo 6).  
sebebiyet verebilen olgunluk seviyesi ve doğru hasat

Tablo 6. Meyve sebzelerde metal oksit yarı iletken gaz sensörlerin kullanımı

*Table 6. Use of metal oxide semiconductor gas sensors in fruits and vegetables*

Materyal	Amaç	Sensör adedi	Veri işleme	Referans
Gala elma	Kalite, raf ömrü	18	SAS, PROC, CANDISC	[98]
Elma	Olgunluk	12	PCA	[99]
Elma	Olgunluk	21	PCA	[100]
Elma	Olgunluk	23	PCA	[101]
Elma	Depolama	8	PCA	[102]
Elma	Sınıflandırma	18	PCA, DFA, SQC	[103]
Elma	Olgunluk	18	PCA, DFA	[104]
Kayısı	Aroma/Olgunluk	6	PCA	[105]
Kayısı	Çeşit/Sınıflandırma	10	ANN	[106]
Kayısı	Ayırma	18	PCA, FDA	[107]
Bergamot	Uçucu yağ	12	DFA	[108]
Böğürtlen	Olgunluk	10	PCA	[109]
Salatalık	Tipe göre aroma	18	PCA	[110]
Hurma	Ayırma	18	PCA	[111]
Fındık	Ayırma	16	PCA, CA	[112]
Mandalina	Depolama	10	PCA, CA, LDA	[113]
Mango	Uçucu bileşen	18	DFA	[114]
Mango	Olgunluk	18	DFA, LSD	[115]
Kırmızı soğan	Aroma	12	DFA	[116]
Armut	Kalite	8	MLR, PLS, PCR	[117]
Şeftali	Raf ömrü/Olgunluk	10	LDA, PCA, CART	[118]
Nektarin	Kalite	6	PCA, MLR	[119]
Şeftali	Olgunluk/Kalite	10	PCA	[120]
Şeftali	Olgunluk	18	DFA	[121]
Karabiber	Kalite	6	PCA	[122]
Ananas	Raf ömrü	10	PCA	[123]
Çilek	Olgunluk	18	PCA	[124]
Çilek	Ayırma/işlem farkı	10	LDA, PLSR, RF, SVM	[125]
Domates fidesi	Mekanik Bozulma Etkisi	10	PCA, LDA, BPNN, SVM	[126]
Domates	Depolama/Raf ömrü	10	PCA, LDA	[127]
Domates	Olgunluk/Raf ömrü	10	PCA, LDA, PLS	[128]
Muz	Kalite	6	MLR, PLS, SVR	[129]
Şeftali	Tazelik	8	PCA, SR	[130]
Şeftali	Tazelik/Bozulma	18	SVM, PLSR, MFRG	[131]
Şeftali	Kontaminasyon	10	PCA, PLSR	[132]
Şeftali	Büyüme	13	PCA, LDA	[133]
Şeker kamışı	Aroma	10	PCA, LDA	[134]
Muz	Hasat/Aroma	18	PCA, LDA	[135]
Üzüm	Okratoksin	10	PLS-DA, PLSR	[136]
Biber	Tazelik	14	PCA, HCA	[137]
Brokoli	Tazelik	14	PCA, HCA, CDA	[138]
Zeytin	Kalite	10	PCA, LDA, PLS-DA, MLP	[139]

Üzümdeki okratoksin oluşumu üzerine yürütülen çalışmada GC-MS ile E-burun sonuçları kısmi en küçük kareler-ayrıt edici analiz (PLS-DA) ile değerlendirilmiştir ve bu analize göre GC-MS sonuçlarında düşük ve orta seviyede bir ayırım yapılabilirken E-burunda bütün seviyelerde ayırım gözlemlendiği ifade edilmiştir [136].

Diğer çalışmalarda ise meyve ve sebzelerin tazelik analizlerinde elektronik burun kullanım olanakları araştırılmıştır. Biber örneğinde tazelik belirlemeye yönelik yapılan çalışmada biberler 0 ile 9 gün arası depolanarak fiziko-kimyasal analizler ve E-burun sonuçları karşılaştırılmıştır. E-burunun, taze (0, 1, 3 ve 5. Günler) ve bozulmuş (7. ve 9. Günler) biberlerde tazeliği fizikokimyasal analizler kadar başarılı bir şekilde ayırabildiği ifade edilmiştir [137]. Bir diğer tazelik belirlemeye yönelik çalışmada ise, taze dilimlenmiş

brokoli örnekleri farklı günlerde depolanmış, sülfürlü bileşikleri belirlemeye yönelik E-burun ile GC-MS sonuçları karşılaştırılmıştır. Brokolide depolama süresi arttıkça dimetil disülfid arttığı, depolanan brokoliilerin orta taze ve bozulmuş olarak E-burun ile başarılı bir şekilde sınıflandırılabilceği tespit edilmiştir [138].

Araştırma sonuçları değerlendirildiğinde; E-burun hasattan meyve ve sebzelerin kalitesine kadar çoğu alanda kullanılabileceğini, meyve ve sebze teknolojisi alanında önemli bir yer bulduğunu göstermektedir. Bunda en büyük etken ise şüphesiz ekonomik, hızlı sonuç veriyor ve analiz esnasında materyale fiziksel zarar vermiyor olmasıdır.

## Çay Teknolojisi

Çayın dünya çapında özellikle de Türkiye’de en çok tercih edilen içecekler arasında yer alması tüketicilerin yanı sıra araştırmacıları da çay analizlerinde hızlı analiz

yöntemleri geliştirilmesine yönlendirmiştir. Elektronik burun sensörleri bu hızlı tayin yöntemlerden birisidir ve çayda aroma belirleme, fermantasyon süre tahmini, kalite, raf ömrü, depolama ve sınıflandırma çalışmalarında detaylı olarak kullanılmıştır (Tablo 7).

Tablo 7. Çay analizlerinde metal oksit yarı iletken gaz sensörlerin kullanımı

*Table 7. Use of metal oxide semiconductor gas sensors in tea analysis*

Materyal	Amaç	Sensör adedi	Veri işleme	Referans
Siyah Çay	Aroma ayrımı	4	PCA, FCM, SOM, MLP, LVQ, RBF, PNN	[140]
Siyah çay	Karakterizasyon ve sınıflandırma	4	PCA, MLP, RBF, LVQ	[141]
Yeşil çay	Sınıflandırma	10	BP-MLP, PCA, LDA	[142]
Siyah çay	Fermantasyon süresinin tahmini	8	MDM	[143]
Siyah çay	Uçucu bileşen, fermantasyon süresinin tahmini	8	PCA, SVD	[144]
Siyah çay	Fermantasyonda koku tahmini	8	SOM, TDNN	[145]
Yeşil çay	Sınıflandırma	10	PCA, LDA	[146]
Siyah çay	Çay kalitesi üzerine sensör seçimi	8	PCA, BP-MLP, PNN, RBF	[147]
Siyah çay	E-burun performansı	8	BP-MLP, PNN	[148]
Siyah çay	Kalite	5	RBF	[149]
Siyah çay	Kalite	5	Fuzzy Logic	[150]
Yeşil çay	Depolama	10	PCA, LDA, BP-MLP	[151]
Yeşil çay	Ayırma, aroma	10	PCA, CA	[152]
Yeşil çay	Kalite	10	PCA, LDA, BP-MLP	[153]
Sri Lanka siyah çay	E-burun performansı	10	PCA, LDA, PLS, SOM	[154]
Siyah çay	Optimizasyon	10	CA	[155]
Yeşil çay	Ayırma	8	PCA, k-NN, ANN, SVM	[156]
Siyah çay	Optimizasyon	10	SITO, PCA, SVM	[157]
Yeşil ve siyah çay	Optimizasyon	18	PLS	[158]
Yeşil çay	Depolama, kalite	6	PCA, LDA	[159]
Farklı çay karışımı	Sınıflandırma	10	PCA	[160]
Siyah çay	Sınıflandırma	8	SVM, LDA, k-NN	[161]
Oolong çay		18	SD	[162]
Longjing çayı	Kalite	10	PCA, SVM, k-NN, MLR	[163]
Siyah çay	Sınıflandırma	5	k-NN, PCA, PLS-DA	[164]
Longjing çayı	Kalite	10	PLSR, SVM, RF	[165]
Yeşil çay	Aroma	15	CA	[166]

Çay üretimi hasat, soldurma, kıvrıma ve fermantasyona kadar farklı aşamalar içermektedir. Fermantasyon aşaması, çay kalite sınıflandırılmasında çay kalitesini etkileyen en önemli aşama olarak değerlendirilmektedir. Çay kalitesi panelistler tarafından organoleptik olarak gerçekleştirilebilirken, elektronik burunda bu alanda yerini almış bulunmaktadır. Çayın fermantasyonu, depolama, ekolojik yetiştirme ve hasat zamanının değerlendirilmesine yönelik yapılan E-burun çalışmalarında, çayın koku, tat ve aromasını etkileyen bazı kimyasal bileşenlerin E-burun ile hızlı ve ekonomik olarak tespit edilebileceği ve sonuçların diğer duyuşal,

kimyasal ve enstrümental (GC-MS) analizler ile karşılaştırıldığında başarılı ve güvenilir bir şekilde çay depolama ile kalite sınıflandırılmasında kullanılabileceği rapor edilmiştir (Tablo 7).

## Kahve Teknolojisi

Elektronik burun sistemleri kahve sektöründe de aroma ayrımı, sınıflandırma, kavrulma derecesi ve hilelerin belirlenmesi amacı ile yoğun olarak kullanılmaktadır. Yürütülen çalışmalar Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Kahvede metal oksit yarı iletken gaz sensörlerin kullanımı

*Table 8. Use of metal oxide semiconductor gas sensors in coffee*

Materyal	Amaç	Sensör adedi	Veri işleme	Referans
Kahve	Kavrulma derecesine göre sınıflandırma	10	ANN	[167]
Arabica	Kavrulma derecesine göre sınıflandırma	12	DFA	[168]
Arabica	Olgunluk	6	PCA, k-NN	[169]
Arabica, Robusta	Aroma	12	PCA, LDA	[170]
Türk kahvesi, Kolombiya, Arabica	Karşılaştırma	32	PCA	[171]
Espresso	Sınıflandırma	5	PCA, ANN	[172]
Arabica, Robusta	Hile	12	SVM	[173]
Kolombiya	Kusur belirleme	8	PCA	[174]
Robusta	Ayırma	6	PCA, KNN, PLS-DA, BPNN	[175]
Robusta	Uçucu bileşen, tat	6	PCA, HCA	[176]

Kahvenin kalitesine, asitliğine ve kafein oranına göre fiyatı değişmektedir. Bazı türler zor şartlarda yetişirken bazısı çoğu bölgede yetişi iklime kolay uyum sağlayabilmektedir bu durumlarda kahvenin maliyetini etkilemektedir. Kahve aromasını ve dolayısı ile kalitesini etkileyen en önemli faktörler; yetiştiği iklim, yağış alma durumu, kahve ağacının yetiştirildiği bölgedeki bitki örtüsü, hasat zamanı, hasat sonrası işlemler, kavurma işlemi ve derecesi, depolama koşullarıdır. Tüm bu faktörlere bağlı olarak, kahve çekirdeklerinde farklı uçucu aroma bileşenleri açığa çıkmaktadır. Kahve tercihlerinde kavurma derecesi önemli bir prostestir. Az kavurulmuş, orta ve dark olarak nitelendirilen çok kavurulmuş kahveye kadar farklı kavurma dereceleri mevcuttur ve her firmanın kendine öz bir kavurma sıcaklığı ve süresi mevcuttur ki bu da kahve aromasını ve kalitesini belirleyen en önemli noktalardan birisidir. Araştırmacılar ise farklı derecelerde kavurdıkları kahvelerin kalitelerini değerlendirdikleri çalışmalarda E-burun ile enstrümental analizler kadar başarılı bir ayırım ve kalite sınıflandırması yapabileceğini bildirmişlerdir [167, 168].

Tablo 8 incelendiğinde, E-burunun olgunluk, kusur ve hile belirleme amaçlı olarak da kullanılabilceği görülmektedir. Kahve piyasasında yapılan en büyük hile Robusta türü gibi ucuz olan kahvelerin Arabica gibi pahalı ve değerli türler ile karıştırılmasıdır. Elektronik burnun hileleri belirlemek amacı ile kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek için yapılan çalışmalarda; farklı kahveler ve oransal karışımlarının aromaları ölçülmüş ve sınıflandırma algoritmaları ile ne oranda ayırım yapılabildiği değerlendirilmiştir. Çeşitli çalışmalar sonucunda yapılan hile yüzdesine ve sensör hassasiyetine göre sınıflandırmaların farklı oranlarda ve ilgili algoritmaya bağımlı olarak değiştiği fakat yüzdeler düşükte olsa ayırım yapılabildiği sonuçları çıkarılmıştır.

### Baharat Teknolojisi

Baharatlar, çoğu yemekte tat, görünüş ve koku kalitesini artırmanın yanı sıra birçok tıbbi yarara sahip ürünlerdir. Baharatlar üzerine yürütülen MOS çalışmalarının çoğu orijin belirleme ve ayırma/sınıflandırma amaçları için gerçekleştirilmiştir ve bu çalışmalar Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Baharatta metal oksit yarı iletken gaz sensörlerin kullanımı

*Table 9. Use of metal oxide semiconductor gas sensors in spices*

Materyal	Amaç	Sensör adedi	Veri işleme	Referans
Biber	Orijin belirleme	12	PCA	[177]
Safran	Orijin belirleme	27	PCA	[178]
Safran	Orijin belirleme	5	PA, SVM	[179]
Kimyon	Orijin belirleme	5	PA, PCA, SVM	[180]
Kişniş	Orijin belirleme	12	PCA	[181]
Kimyon	Ayırma	12	PCA	[180]
Sarımsak	Ayırma	6	PA	[182]
Karabiber	Ayırma	12	PCA	[177]
Biber	Öğütme etkisi	6	PCA	[183]
Kırmızı biber tozu	Gama ışını etkisi	12	PCA	[184]

Elektronik burnun baharat teknolojisinde kullanılabilirliğine yönelik yürütülen araştırmalar incelendiğinde biber, karabiber, safran ve kimyon dikkat çekmektedir (Tablo 9). Burada da çoğunlukla orijin belirleme ve ayırma, sınıflandırma çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Biber acılık değerine, orijinine göre ve çeşitli özelliklerine göre E-burun, GC-MS ve duyuşal testler ile değerlendirilmiş ve sonuçların birbiri le uyumlu olduğu ifade edilmiştir [177]. Farklı bölgelerden temin edilen kimyon ise yine duyuşal, GC-MS ve E-burun ile analiz edilmiş ve yoğun olan aroma bileşenleri belirlenerek elektronik ölçümün faydalı şekilde bu alanda da kullanılabilceği ifade edilmiştir [180].

### Şarap Teknolojisi

Şarap su ve etanol olmak üzere iki temel bileşenden ve şarap aroması su ve etanole ilaveten yirmiden fazla bileşen tarafından oluşmaktadır [185]. Şarap aroması, olgunluğu ve kalitesi duyuşal analiz yöntemi ile belirlenebilmektedir fakat bu yöntem panelistin durumuna göre değişkenlik gösterebileceği için hatalara sebebiyet verebilmektedir. Kantitatif olarak enstrümental bir diğer değerlendirme yöntemi GC-MS analizleridir. Bu yöntem ise diğerlerine göre hem göre pahalı ve zaman alan bir yöntemdir ve bu sebeple şarap analizlerinde

elektronik burnun kullanımı önemli bir alternatif olmuştur. Şarap üzerine gerçekleştirilen çalışmalar Tablo 10'da verilmiştir.

Şarabın duyuşal özellikleri üzüm tipine, yetiştirme koşullarına, toprağın bileşimine, fermantasyon ve olgunlaştırma işlemlerine göre farklılık göstermektedir. Her alanda olduğu gibi şarap teknolojisi de hızlı ve güvenli tekniklere muhtaçtır. Şarabın aroma bileşenleri diğer gıdalarda olduğu gibi GC-MS ile belirlenmektedir fakat örnek hazırlamanın zahmetli oluşu, uygulama esnasında eğitimli kişilere ihtiyaç duyulması ve analizin fazla zaman alması tekniğin zorluğunu göstermekte ve daha portatif ve hızlı tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır.

E-burunun şarap alanındaki uygulamaları üzüm çeşidinden şaraptaki aroma tahminine kadar farklı örnekler içermektedir (Tablo 10). E-burun; şarapların sınıflandırılması [199-202], olgunlaştırma işlemlerin şarap kalitesine etkilerinin ve şarap orijinlerinin belirlenmesinde [205-207] alternatif kullanılabilirliğinin değerlendirildiği bu çalışmalarda doğrulama amacı ile GC-MS veya panelistler kullanılmıştır. Beyaz ve kırmızı şarapların incelendiği çalışmada 25 adet eğitimli panelisten oluşan bir grup kurulmuş ve cevaplar E-burun sonuçları ile karşılaştırılmıştır. E-burun daha



hassas sonuç vererek panelistler tarafından bazı algılanamayan bileşenleri de sınıflayabildiği ifade edilmiştir [203]. Yürütülen çalışmalara genel olarak

bakıldığında E-burunun şarap teknolojisinde güvenle kullanılabileceği görülmektedir.

Tablo 10. Şarapta metal oksit yarı iletken gaz sensörlerin kullanımı

*Table 10. Use of metal oxide semiconductor gas sensors in wine*

Materyal	Amaç	Sensör adedi	Veri işleme	Referans
Şarap	Fenolik seviyesi belirleme	14	PLS, DA	[186]
	Bileşik tayini	2	PCA	[187]
	Olgunluk	10	PCA, LDA, CA	[188]
	Olgunluk	9	PCA, Tucker3	[189]
	Olgunluk	4	PLS-DA	[190]
	Olgunluk	16	PCA, RBFNN	[191]
	Asetik asit	10	PCA, MLP	[192]
	Asetik asit	4	PCA, RBFNN	[193]
	Şarap kalitesine ambalaj kapağı etkisi	15	PCA, PLS-DA	[194]
	Bozulma	12	PCA, CLA	[195]
	Bozulma	18	PCA, DFA	[196]
	Bozulma	12	PLS	[197]
	Ayırma	18	PCA	[196]
	Alkol fermantasyonu	10	PCA	[198]
	Sınıflandırma	16	PCA, PNN	[199]
	Sınıflandırma	12	PCA	[200]
	Sınıflandırma	4	PCA, PLS, RSR	[201]
	Sınıflandırma	8-10	KIII ANN	[202]
	Aroma bileşiği eşik değeri belirleme	16	PCA, PNN	[203]
	Aroma bileşiği eşik değeri belirleme	16	PCA, PNN	[204]
	Orijin belirleme	12	LDA	[205]
	Orijin belirleme	10	PCA, LDA	[206]
	Orijin belirleme	14	-	[207]
	Kalite izleme	16	PCA, PNN	[208]
	Üzüm sınıflandırma	16	PCA, PNN	[209]
	Üzüm sınıflandırma	16	PCA, PNN	[210]
	Üzüm sınıflandırma	16	PCA, PNN	[211]
	Üzüm sınıflandırma	16	PCA, PNN	[212]
	Üzüm sınıflandırma	14	PCA	[213]
	Aroma tahmini, korelasyon	16	PNN	[210]
	Aroma tahmini, korelasyon	16	PNN	[214]
	Aroma tahmini, korelasyon	16	PNN	[215]
Aroma tahmini, korelasyon	16	PNN	[216]	
Aroma tahmini, korelasyon	12	GA	[217]	

## SONUÇ

Son yıllarda mikro elektronik, sinyal işleme, kemometri, sinir ağı örüntü tanıma algoritmaları ve farklı sensör teknolojilerinin varlığı ile elektronik burun teknolojisinde önemli gelişmeler olmuştur. Mevcut gelişmeler ile elektronik burun teknolojisi hızlı, güvenli, portatif ve ekonomik bir teknik olarak duysal, fizikokimyasal ve enstrümental bir çok gıda analizine alternatif olmuştur. Elektronik burun yapılan araştırmalar ile çoğu gıda ürününe uygulanmıştır. MOS kullanılarak süt ve ürünlerinin kalitesi, raf ömrü, olgunluğu ve sınıflandırılması gerçekleştirilmiştir. Et ve ürünlerinin ise MOS temelli sistemler ile tazeliği, hile yapılıp yapılmadığı, bozulma durumu ve mikrobiyal yükü araştırılmıştır. Yağ üzerine yürütülen çalışmalar incelendiğinde ise yağlarda bozulma belirtisi olan oksidasyon en çok çalışılan konu olarak göze çarpmaktadır. Daha sonra tağşiş ve sınıflandırma çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Ekmek ve bisküvide pişme derecesi irdelenirken, tahıllarda toksin, depolama, oksidasyon ve mikrobiyal yük MOS ile araştırılmıştır.

Meyve-sebze üzerine yürütülen çalışmalar incelendiğinde daha çok olgunluk çalışıldığı görülmektedir. Olgunluğa ilaveten raf ömrü, hasat, mikrobiyal yük, tazelik, depolama, aroma ve ayırma çalışmaları gerçekleştirilmiştir. MOS kullanılarak alkollü ve alkolsüz içecekler üzerine de araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Alkolsüz olarak en fazla çay ve kahve çalışılırken, alkollü içeceklerden şarap en fazla ilgi çeken içecek olmuştur. Çayda sınıflandırma, fermantasyon süre tahmini, aroma, depolama ve kalite çalışmaları yürütülmüştür. Kahvenin ise kavrulma derecesine göre aroma değişimi, sınıflandırılması, tağşişi ve olgunluğu araştırılmıştır. Şarap olgunluğu, aroması, sınıflandırılması ve bozulması ilgi çeken fazla sayıdaki araştırmalardır. MOS kullanılarak sarımsak, karabiber, safran vb. baharatlar ile ilgili orijin ve ayırma çalışmaları yürütülmüştür. Gerçekleştirilen bütün çalışma sonuçları veri işleme analizleri ile işlenerek GC, GC-MS, SPME gibi klasik analiz yöntemleri ile karşılaştırılarak yorumlanmış ve elektronik burun etkinliği hakkında fikir sahibi olunmuştur. Yürütülen

çalışmalara göre elektronik burun önemli derecede ayrımlar gerçekleştirilebilmektedir.

Ancak, elektronik burun sensörlerinin ömrünün sınırlı olması, hassas olmaları ve bazı özel sensörlerin nispeten pahalı olmaları yaygın bir kullanım alanına sahip olmaması dezavantajları arasındadır. Analizlerin yapılması esnasında numune hazırlama ve uçucu bileşenlerin tepe boşluğu ile sensörlere iletilmesi, sensörlerin yoğun kimyasallar ile etkileştiğinde boğulma olarak nitelenen etkilenme ve ortam şartlarına bağlı olarak düşük tekrarlanabilir veri eldesi ise pratikteki dezavantajlarıdır. Elektronik burun ile gerçekleştirilen analizler mevcutta var olan standart analiz yöntemlerine takviye amacı ile kullanılabilir. Gelecek yıllarda, gıda endüstrisinde online (çevrimiçi) uygulamaların artacağı düşünüldürse ve elektronik burun tekniğinin referans bir gıda için geliştirilip uygulanırsa gıda analizlerine ışık tutan bir yöntem olacağı söylenebilir.

## KAYNAKLAR

- [1] Rasooly, A. (2005). Biosensor technologies. *Methods*, 37(1), 1–3.
- [2] Loutfi, A., Coradeschi, S., Mani, G.K., Shankar, P., Rayappan, J.B. (2015). Electronic noses for food quality: A review. *Journal of Food Engineering*, 144, 103–111.
- [3] Schaller, E., Bosset, J.O., Escher, F. (1998). Electronic noses and their application to food. *Food Science and Technology*, 31(4), 305–316.
- [4] Persaud, K.C., Payne, P.A., Pelosi, P.S.V. (1993). Design strategies for gas and odour sensors which mimic the olfactory system. *Robots and Biological Systems: Towards a New Bionics*, 102, 579–602.
- [5] Handa, P., Singh, B. (2016). Electronic nose and their application in food industries. *Food Science Research Journal*, 7(2), 314–318.
- [6] Wilson, A.D., Baietto, M. (2009). Applications and advances in electronic-nose technologies. *Sensors*, 9, 5099–5148.
- [7] Shurmer, H., Gardner, J.W. (1992). Odour discrimination with an electric nose. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 8, 1–11.
- [8] Kasnak, C., Palamutoglu, R. (2018). Gıda endüstrisinde elektronik burun kullanımı. *Mühendislik ve Mimarlık Çalışmaları*, 1-188.
- [9] Anukunprasert, T., Saiwan, C., Traversa, E. (2005). The development of gas sensor for carbon monoxide monitoring using nanostructure of Nb-TiO<sub>2</sub>. *Science and Technology of Advanced Materials*, 6, 359–363.
- [10] Eranna, G., Joshi, B.C., Runthala, D.P., Gupta, R.P. (2004). Oxide materials for development of integrated gas sensors-A comprehensive review. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, 29, 111–188.
- [11] Dey, A. (2018). Semiconductor metal oxide gas sensors: A review. *Materials Science and Engineering B*, 206–217.
- [12] Korotcenkov, G. (2007). Metal oxides for solid-state gas sensors: What determines our choice? *Materials Science and Engineering B*, 139, 1–23.
- [13] Hooker, S.A. (2002). Nanotechnology advantages applied to gas sensor development. *The Nanoparticles 2002 Conference Proceedings*, 1-8.
- [14] Devi, G.S. (1998). SnO<sub>2</sub>/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: A suitable system for selective carbon monoxide detection. *Journal of the Electrochemical Society*, 145(3), 1039-1044.
- [15] Rella, R., Serra, A., Siciliano, P., Vasanelli, L., De, G., Licciulli, A. (1997). Tin oxide-based gas sensors prepared by the sol-gel process. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 44, 462–467.
- [16] Costello, B.P., Ewen, R.J., Ratcliffe, N.M., Sivanand, P.S. (2003). Thick film organic vapour sensors based on binary mixtures of metal oxides. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 92, 159–166.
- [17] Vaishanv, V.S., Patel, P.D., Patel, N.G. (2006). Indium tin oxide thin-film sensor for detection of volatile organic compounds (VOCs). *Materials and Manufacturing Processes*, 21, 257–261.
- [18] Fine, G.F., Cavanagh, L.M., Afonja, A., Binions, R. (2010). Metal oxide semi-conductor gas sensors in environmental monitoring. *Sensors*, 10, 5469–5502.
- [19] Yamazoe, N., Kurokawa, Y., Seiyama, T. (1983). Effects of additives on semiconductor gas sensors. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 4, 283–289.
- [20] Moseley, P.T. (1992). Materials selection for semiconductor gas sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 6, 149–156.
- [21] Jing, B.Z., Zhan, J. (2008). Fabrication and gas-sensing properties of porous ZnO nanoplates. *Advanced Materials*, 20, 4547–4551.
- [22] Moore, E., Lyons, G. M., Harris, J., Clifford, S. (2004). A review of gas sensors employed in electronic nose applications. *Sensor Review*, 24(2), 181–198.
- [23] Gao, X., Zhang, T. (2018). An overview: Facet-dependent metal oxide semiconductor gas sensors. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 277, 604–633.
- [24] Wang, C., Yin, L., Zhang, L., Xiang, D., Gao, R. (2010). Metal oxide gas sensors: sensitivity and influencing factors. *Sensors*, 10, 2088–2106.
- [25] Di Rosa, A.R., Leone, F., Cheli, F., Chiofalo, V. (2017). Fusion of electronic nose, electronic tongue and computer vision for animal source food authentication and quality assessment – A review. *Journal of Food Engineering*, 210, 62–75.
- [26] Majchrzak, T., Wojnowski, W., Dymerski, T., Gębicki, J., Namieśnik, J. (2018a). Electronic noses in classification and quality control of edible oils: A review. *Food Chemistry*, 246, 192–201.
- [27] Cordero, C., Kiefl, J., Reichenbach, S.E. (2015). Comprehensive two-dimensional gas chromatography and food sensory properties: Potential and challenges. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(1), 169–191.
- [28] Majchrzak, T., Wojnowski, W., Dymerski, T., Jacek, G. (2018). Electronic noses in

- classification and quality control of edible oils: A review. *Food Chemistry*, 246, 192–201.
- [29] Dymerski, T.M., Chmiel, T.M., Wardencki, W. (2011). Invited Review Article: An odor-sensing system—powerful technique for foodstuff studies. *Review of Scientific Instruments*, 82(11), 1-32.
- [30] Majchrzak, T., Wojnowski, W., Dymerski, T., Gębicki, J., Namieśnik, J. (2018b). Electronic noses in classification and quality control of edible oils: A review. *Food Chemistry*, 246, 192–201.
- [31] Mottram, T.T., Gardner, J.W., Hobbs, P.J., Bartlett, P.N. (1997). Preliminary investigation of breath sampling as a monitor of health in dairy cattle. *Journal Agricultural Engineering Research*, 67, 267–275.
- [32] Sivalingam, D., Rayappan, J.B. (2014). Development of e-nose prototype for raw milk quality discrimination. *Milchwissenschaft*, 67(4), 381–385.
- [33] Labreche, S., Bazzo, S., Cade, S., Chanie, E. (2005). Shelf life determination by electronic nose: Application to milk. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 106, 199–206.
- [34] Waller, K.P., Svennersten-Sjaunja, K., Haugen, J. (2005). Detection of mastitic milk using a gas-sensor array system (electronic nose). *International Dairy Journal*, 15, 1193–1201.
- [35] Capone, S., Siciliano, P., Quaranta, F., Rella, R., Epifani, M., Vasanelli, L. (2000). Analysis of vapours and foods by means of an electronic nose based on a sol–gel metal oxide sensors array. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 69, 230–235.
- [36] Capone, S., Epifani, M., Quaranta, F., Siciliano, P. (2001). Monitoring of rancidity of milk by means of an electronic nose and a dynamic PCA analysis. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 78, 174–179.
- [37] Brambilla, M., Navarotto, P. (2010). Application of E-NOSE technology for ultra-high temperature processed partly skimmed milk production batches monitoring. *Chemical Engineering Transactions*, 23, 171–176.
- [38] Brudzewski, K., Osowski, S., Markiewicz, T. (2004). Classification of milk by means of an electronic nose and SVM neural network. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 98, 291–298.
- [39] Collier, W.A., Baird, D.B., Park, Z.A., More, N., Hart, A.L. (2003). Discrimination among milks and cultured dairy products using screen-printed electrochemical arrays and an electronic nose. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 92, 232–239.
- [40] Wang, B., Xu, S., Sun, D.W. (2010). Application of the electronic nose to the identification of different milk flavorings. *Food Research International*, 43(1), 255–262.
- [41] Lorenzen, P., Walte, H., Bosse, B. (2013). Chemical development of a method for butter type differentiation by electronic nose technology. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 181, 690–693.
- [42] Haddi, Z., Annanouch, F., Amari, A., Hadoune, A., Bouchikhi, B. (2010). Application of a portable electronic nose device to discriminate and identify cheeses with known percentages of cow's and goat's milk. Kona, Hawaii. *Proceedings of the IEEE Sensors Conference*, 771-774.
- [43] Trihaas, J., Vognsen, L., Nielsen, P.V. (2005). Electronic nose: New tool in modelling the ripening of Danish blue cheese. *International Dairy Journal*, 15, 679–691.
- [44] O'Riordan, P.J., Delahunty, C.M. (2003). Characterisation of commercial Cheddar cheese flavour. 1: traditional and electronic nose approach to quality assessment and market classification. *International Dairy Journal*, 13(5), 355–370.
- [45] Cevoli, C., Cerretani, L., Gori, A., Caboni, M.F., Toschi, T.G., Fabbri, A. (2011). Classification of Pecorino cheeses using electronic nose combined with artificial neural network and comparison with GC – MS analysis of volatile compounds. *Food Chemistry*, 129(3), 1315–1319.
- [46] Branciarri, R., Valiani, A., Trabalza-Marinucci, M., Miraglia, D.R., Acuti, G., Esopsto, S. (2012). Consumer acceptability of ovine cheeses from ewes fed extruded linseed-enriched diets. *Small Ruminant Research*, 106, S43–S48.
- [47] El Barbri, N., Mirhisse, J., Ionescu, R., El Bari, N., Correig, X., Bouchikhi, B. (2009). An electronic nose system based on a micro-machined gas sensor array to assess the freshness of sardines. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 141(2), 538-543.
- [48] Zhang, S., Xie, C., Bai, Z., Hu, M., Li, H., Z.D. (2009). Spoiling and formaldehyde-containing detections in octopus with an E-nose. *Food Chemistry*, 113(4), 1346–1350.
- [49] Musatov, V.Y., Sysoev, V.V., Sommer, M., Kiselev, I. (2010). Assessment of meat freshness with metal oxide sensor microarray electronic nose: A practical approach. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 144, 99–103.
- [50] Hong, X., Wang, J., Hai, Z. (2012). Chemical discrimination and prediction of multiple beef freshness indexes based on electronic nose. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 161(1), 381–389.
- [51] Wang, D., Wang, X., Liu, T., Liu, Y. (2012). Prediction of total viable counts on chilled pork using an electronic nose combined with support vector machine. *Meat Science*, 90(2), 373–377.
- [52] Tian, X., Wang, J., Cui, S. (2013). Analysis of pork adulteration in minced mutton using electronic nose of metal oxide sensors. *Journal of Food Engineering*, 119(4), 744–749.
- [53] Huang, L., Zhao, J., Chen, Q., Zhang, Y. (2014). Nondestructive measurement of total volatile basic nitrogen (TVB-N) in pork meat by integrating near infrared spectroscopy, computer vision and electronic nose techniques. *Food Chemistry*, 145, 228–236.
- [54] Timsorn, K., Thoopboochagorn, T. (2016). Evaluation of bacterial population on chicken

- meats using a briefcase electronic nose. *Biosystems Engineering*, 151, 116–125.
- [55] Lippolis, V.F. (2016). Rapid prediction of ochratoxin A-producing strains of *Penicillium* on dry-cured meat by MOS-based electronic nose. *International Journal of Food Microbiology*, 218, 71–77.
- [56] Wijaya, D.R., Sarno, R., Zulaika, E. (2018). Electronic nose dataset for beef quality monitoring in uncontrolled ambient conditions. *Data in Brief*, 21, 2414–2420.
- [57] Wang, Q., Li, L., Ding, W., Zhang, D., Wang, J., Reed, K. (2019). Adulterant identification in mutton by electronic nose and gas chromatography-mass spectrometer. *Food Control*, 98, 431–438.
- [58] Shi, J., Nian, Y., Da, D., Xu, X., Zhou, G., Zhao, D. (2020). Characterization of flavor volatile compounds in sauce spareribs by gas chromatography – mass spectrometry and electronic nose. *Food Science and Technology*, 124, 109182.
- [59] Yurdakoş, Ö.B. (2019). Detection of degradation levels in food industry by using E-Nose sensors. *M.Sc. Thesis, Dokuz Eylül University*, 69.
- [60] Zhang, J., Cao, J., Pei, Z., Wei, P., Xiang, D., Cao, X. (2019). Volatile flavour components and the mechanisms underlying their production in golden pompano (*Trachinotus blochii*) fillets subjected to different drying methods: A comparative study using an electronic nose, an electronic tongue and SDE-GC-MS. *Food Research International*, 123, 217–225.
- [61] González Martín, Y., Luis Pérez Pavón, J., Moreno Cordero, B., García Pinto, C. (1999). Classification of vegetable oils by linear discriminant analysis of Electronic Nose data. *Analytica Chimica Acta*, 384, 83–94.
- [62] Cosio, M.S., Ballabio, D., Benedetti, S., Gigliotti, C. (2007). Evaluation of different storage conditions of extra virgin olive oils with an innovative recognition tool built by means of electronic nose and electronic tongue. *Food Chemistry*, 101(2), 485–491.
- [63] Buratti, S., Benedetti, S., Cosio, M.S. (2005). An electronic nose to evaluate olive oil oxidation during storage. *Italian Journal of Food Science*, 17(2), 203–210.
- [64] Mildner-Szkudlarz, S., Jeleń, H.H., Zawirska-Wojtasiak, R. (2008). The use of electronic and human nose for monitoring rapeseed oil autoxidation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(1), 61–72.
- [65] Xu, L., Yu, X., Liu, L., Zhang, R. (2016). A novel method for qualitative analysis of edible oil oxidation using an electronic nose. *Food Chemistry*, 202, 229–235.
- [66] Upadhyay, R., Sehwal, S., Mishra, H.N. (2017a). Electronic nose guided determination of frying disposal time of sunflower oil using fuzzy logic analysis. *Food Chemistry*, 221, 379–385.
- [67] Upadhyay, R., Sehwal, S., Mishra, H.N. (2017b). Frying disposal time of sunflower oil using hybrid electronic nose-fuzzy logic approach. *Food Science and Technology*, 78, 332–339.
- [68] Cosio, M.S., Ballabio, D., Benedetti, S., Gigliotti, C. (2006). Geographical origin and authentication of extra virgin olive oils by an electronic nose in combination with artificial neural networks. *Analytica Chimica Acta*, 567(2), 202–210.
- [69] Ballabio, D., Cosio, M.S., Mannino, S., Todeschini, R. (2006). A chemometric approach based on a novel similarity/diversity measure for the characterisation and selection of electronic nose sensors. *Analytica Chimica Acta*, 578(2), 170–177.
- [70] Park, M.H., Jeong, M.K., Yeo, J.D., Son, H.J., Lim, C.L., Hong, E.J. (2011). Application of solid phase-microextraction (SPME) and electronic nose techniques to differentiate volatiles of sesame oils prepared with diverse roasting conditions. *Journal of Food Science*, 76(1), 80–88.
- [71] Haddi, Z., Alami, H., El Bari, N., Tounsi, M., Barhoumi, H., Maaref, A. (2013). Electronic nose and tongue combination for improved classification of Moroccan virgin olive oil profiles. *Food Research International*, 54(2), 1488–1498.
- [72] Haddi, Z., Amari, A., Ould Ali, A., El Bari, N., Barhoumi, H., Maaref, A. (2011). Discrimination and identification of geographical origin virgin olive oil by an e-nose based on MOS sensors and pattern recognition techniques. *Procedia Engineering*, 25, 1137–1140.
- [73] Cerrato Oliveros, M.C., Pérez Pavón, J.L., García Pinto, C., Fernández Laespada, M.E., Moreno Cordero, B., Forina, M. (2002). Electronic nose based on metal oxide semiconductor sensors as a fast alternative for the detection of adulteration of virgin olive oils. *Analytica Chimica Acta*, 459, 219–228.
- [74] Mildner-Szkudlarz, S., Jeleń, H.H. (2008). The potential of different techniques for volatile compounds analysis coupled with PCA for the detection of the adulteration of olive oil with hazelnut oil. *Food Chemistry*, 110(3), 751–761.
- [75] Mildner-Szkudlarz, S., Jeleń, H.H. (2010). Detection of olive oil adulteration with rapeseed and sunflower oils using mos electronic nose and smpe-ms. *Journal of Food Quality*, 33(1), 21–41.
- [76] Bougrini, M., Tahri, K., Haddi, Z., Saidi, T., El Bari, N., Bouchikhi, B. (2014). Detection of adulteration in argan oil by using an electronic nose and a voltammetric electronic tongue. *Journal of Sensors*, 1–10.
- [77] Hai, Z., W.J. (2006). Detection of adulteration in camellia seed oil and sesame oil using an electronic nose. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(2), 116–124.
- [78] Lerma-García, M.J., Cerretani, L., Cevoli, C., Simó-Alfonso, E.F., Bendini, A., Toschi, T.G. (2010). Use of electronic nose to determine defect percentage in oils. Comparison with sensory panel results. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 147(1), 283–289.
- [79] Ghosh, P.K., Chatterjee, S., Bhattacharjee, P., Bhattacharyya, N. (2016). Removal of rancid-acid

- odor of expeller-pressed virgin coconut oil by gamma irradiation: evaluation by sensory and electronic nose technology. *Food and Bioprocess Technology*, 9(10), 1724-1734.
- [80] Torri, L., Migliorini, P., Masoero, G. (2013). Sensory test vs. electronic nose and/or image analysis of whole bread produced with old and modern wheat varieties adjuvanted by means of the mycorrhizal factor. *Food Research International*, 54, 1400–1408.
- [81] Sapirstein, H.D., Siddhu, S., Aliani, M. (2012). Discrimination of volatiles of refined and whole wheat bread containing red and white wheat bran using an electronic nose. *Journal of Food Science*, 77, 399–406.
- [82] Romani, S., Rocculi, P., Dalla Rosa, M. (2006). Electronic nose approach to differentiate biscuits on the base of their recipe. *Industria Alimentari*, 45, 1273–1276.
- [83] Li, W., Friel, J., Beta, T. (2010). An evaluation of the antioxidant properties and aroma quality of infant cereals. *Food Chemistry*, 121(4), 1095–1102.
- [84] Romani, S., Balestra, F., Angioloni, A., Rocculi, P., Dalla Rosa, M. (2012). Physico-chemical and electronic nose measurements on the study of biscuit baking kinetics. *Italian Journal of Food Science*, 24, 32–40.
- [85] Ponzoni, A., Depari, A., Falasconi, M., Comini, E., Flammini, A., Marioli, D. (2008). Bread baking aromas detection by low-cost electronic nose. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 130, 100–104.
- [86] Adams, K., Suchy, J., Lukow, O.M. (2011). Detection of wheat variety flour aromas using an electronic nose. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 10(9), 2861–2873.
- [87] Zhang, H., Wang, J., Tian, X., Yu, H., Yu, Y. (2007). Optimization of sensor array and detection of stored duration of wheat by electronic nose. *Journal of Food Engineering*, 82, 403–408.
- [88] Presicce, D.S., Forleo, A., Taurino, A.M., Zuppa, M., Siciliano, P., Laddomada, B. (2006). Response evaluation of an E-nose towards contaminated wheat by *Fusarium poae* fungi. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 118(1), 433–438.
- [89] Wang, M., Du, J., Zhao, M. (2014). Paddy and maize moldy status characterization using electronic nose. *Food Measurement*, 8, 54-60.
- [90] Abramson, D., Hulasare, R., York, R.K., White, N.D., Jayas, D.S. (2005). Mycotoxins, ergosterol, and odor volatiles in durum wheat during granary storage at 16% and 20% moisture content. *Journal of Stored Products Research*, 41, 67–76.
- [91] Gobbi, E., Falasconi, M., Torelli, E., Sberveglieri, G. (2011). Electronic nose predicts high and low fumonisin contamination in maize cultures. *Food Research International*, 44(4), 992–999.
- [92] Campagnoli, A., Cheli, F., Savoini, G., Crotti, A., Pastori, A.G., Dell'Orto, V. (2009). Application of an electronic nose to detection of aflatoxins in corn. *Veterinary Research Communications*, 33(1), 273–275.
- [93] Lippolis, V., Pascale, M., Cervellieri, S., Damascelli, A., Visconti, A. (2014). Screening of deoxynivalenol contamination in durum wheat by MOS-based electronic nose and identification of the relevant pattern of volatile compounds. *Food Control*, 37, 263–271.
- [94] Wessling, C., Nielsen, T., Giacini, J.R. (2001). Antioxidant ability of BHT- and  $\alpha$ -tocopherol-impregnated LDPE film in packaging of oatmeal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 194–201.
- [95] Xu, S., Zhou, Z., Lu, H., Luo, X., Lan, Y., Zhang, Y. (2014). Estimation of the age and amount of brown rice plant hoppers based on bionic electronic nose use. *Sensors*, 14(10), 18114–18130.
- [96] Olunloyo, V.O., Ibidapo, T.A., Dinrifo, R.R. (2011). Neural network-based electronic nose for cocoa beans quality assessment. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 13(4), 1–17.
- [97] Gu, S., Wang, J., Wang, Y. (2019). Early discrimination and growth tracking of *Aspergillus* spp. contamination in rice kernels using electronic nose. *Food Chemistry*, 292, 325–335.
- [98] Bai, J., Baldwin, E.A., Soliva Fortuny, R.C., Mattheis, J.P., Stanley, R., Perera, C. (2004). Effect of pretreatment of intact “Gala” apple with ethanol vapor, heat, or 1-methylcyclopropene on quality and shelf life of fresh-cut slices. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(4), 583–593.
- [99] Brezmes, J., Llobet, E., Vilanova, X., Saiz, G., Correig, X. (2000). Fruit ripeness monitoring using an Electronic Nose. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 69(3), 223–229.
- [100] Brezmes, J., Llobet, E., Vilanova, X., Orts, J., Saiz, G., Correig, X. (2001). Correlation between electronic nose signals and fruit quality indicators on shelf-life measurements with pink lady apples. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 80(1), 41–50.
- [101] Brezmes, J., Fructuoso, M.L., Llobet, E., Vilanova, X., Recasens, I., Orts, J. (2005). Evaluation of an electronic nose to assess fruit ripeness. *IEEE Sensors Journal*, 5(1), 97–108.
- [102] Guohua, H., Yuling, W., Dandan, Y., Wenwen, D. (2013). Fuji apple storage time predictive method using electronic nose. *Food Analytical Methods*, 6(1), 82–88.
- [103] Duta, D., Hincu, F., Calu, M., Pruteanu, E. (2009). Electronic nose for discrimination of Romanian apples. *Proceeding of 2 International Symposium New Research In Biotechnology*, 398–403.
- [104] Young, H., Rossiter, K., Wang, M., Miller, M. (1999). Characterization of royal gala apple aroma using electronic nose technology - Potential maturity indicator. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 5173–5177.
- [105] Defilippi, B.G., Juan, W.S., Valdés, H., Moya-León, M.A., Infante, R., Campos-Vargas, R.

- (2009). The aroma development during storage of *Castlebrite* apricots as evaluated by gas chromatography, electronic nose, and sensory analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 51(2), 212-219.
- [106] Paola Parpinello, G., Fabbri, A., Domenichelli, S., Mesisca, V., Cavicchi, L., Versari, A. (2007). Discrimination of apricot cultivars by gas multisensor array using an artificial neural network. *Biosystems Engineering*, 97(3), 371–378.
- [107] Solis-Solis, H.M., Calderon-Santoyo, M., Gutierrez-Martinez, P., Schorr-Galindo, S., Ragazzo-Sanchez, J.A. (2007). Discrimination of eight varieties of apricot (*Prunus armeniaca*) by electronic nose, LLE and SPME using GC-MS and multivariate analysis. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 125(2), 415–421.
- [108] Russo, M., Serra, D., Suraci, F., Postorino, S. (2012). Effectiveness of electronic nose systems to detect bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) essential oil quality and genuineness. *Journal of Essential Oil Research*, 24(2), 137–151.
- [109] Bernal, L.J., Melo, L.A., Díaz Moreno, C. (2014). Evaluation of the antioxidant properties and aromatic profile during maturation of the blackberry (*Rubus glaucus* Benth) and the bilberry (*Vaccinium meridionale* Swartz). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 67(1), 7209–7218.
- [110] Zawirska-Wojtasiak, R., Gośliński, M., Szwacka, M., Gajc-Wolska, J., Mildner-Szkudlarz, S. (2009). Aroma evaluation of transgenic, thaumatin II-producing cucumber fruits. *Journal of Food Science*, 74(3), 204–210.
- [111] Lebrun, M., Billot, C., Harrak, H., Self, G. (2007). The electronic nose: A fast and efficient tool for characterizing dates. *Fruits*, 60(6), 377–382.
- [112] Alasalvar, C., Pelvan, E., Bahar, B., Korel, F., Ölmez, H. (2012). Flavour of natural and roasted Turkish hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.) by descriptive sensory analysis, electronic nose and chemometrics. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(1), 122–131.
- [113] Hernández Gómez, A., Wang, J., Hu, G., & García Pereira, A. (2007). Discrimination of storage shelf-life for mandarin by electronic nose technique. *Food Science and Technology*, 40(4), 681–689.
- [114] Lebrun, M., Ducamp-Collin, M.N., Plotto, A., Goodner, K.L., Baldwin, E. (2004). Development of electronic nose measurements for mango (*Mangifera indica*) homogenate and whole fruit. *Proceedings of The Annual Meeting of The Florida State Horticultural Society*, 117, 421–425.
- [115] Lebrun, M., Plotto, A., Goodner, K., Ducamp, M.N., Baldwin, E. (2008). Discrimination of mango fruit maturity by volatiles using the electronic nose and gas chromatography. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 122–131.
- [116] Russo, M., Di Sanzo, R., Cefaly, V., Carabetta, S., Serra, D., Fuda, S. (2013). Non-destructive flavour evaluation of red onion (*Allium cepa* L.) Ecotypes: An electronic-nose-based approach. *Food Chemistry*, 141(2), 896–899.
- [117] Zhang, H., Wang, J., Ye, S. (2008). Predictions of acidity, soluble solids and firmness of pear using electronic nose technique. *Journal of Food Engineering*, 86(3), 370–378.
- [118] S Benedetti, S., Buratti, S., Spinardi, A., Mannino, S., Mignani, I. (2008). Electronic nose as a non-destructive tool to characterise peach cultivars and to monitor their ripening stage during shelf-life. *Postharvest Biology and Technology*, 47(2), 181–188.
- [119] Infante, R., Rubio, P., Meneses, C., Contador, L. (2011). Ripe nectarines segregated through sensory quality evaluation and electronic nose assessment. *Fruits*, 66(2), 109–119.
- [120] Rizzolo, A., Bianchi, G., Vanoli, M., Lurie, S., Spinelli, L., Torricelli, A. (2013). Electronic nose to detect volatile compound profile and quality changes in “spring belle” peach (*Prunus persica* L.) during cold storage in relation to fruit optical properties measured by time-resolved reflectance spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1671-1685.
- [121] Su, M., Zhang, B., Ye, Z., Chen, K., Guo, J., Gu, X. (2013). Pulp volatiles measured by an electronic nose are related to harvest season, TSS concentration and TSS/TA ratio among 39 peaches and nectarines. *Scientia Horticulturae*, 150, 146-153.
- [122] Liu, H., Zeng, F.K., Wang, Q.H., Wu, H.S., Tan, L.H. (2013). Studies on the chemical and flavor qualities of white pepper (*Piper nigrum* L.) derived from five new genotypes. *European Food Research and Technology*, 237(2), 245–251.
- [123] Torri, L., Sinelli, N., Limbo, S. (2010). Shelf life evaluation of fresh-cut pineapple by using an electronic nose. *Postharvest Biology and Technology*, 56(3), 239–245.
- [124] Du, X., Bai, J., Platto, A., Baldwin, E., Whitaker, V. (2010). Electronic nose for detecting strawberry fruit maturity. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 123, 259–263.
- [125] Qiu, S., Wang, J., Gao, L. (2014). Discrimination and characterization of strawberry juice based on electronic nose and tongue: Comparison of different juice processing approaches by LDA, PLSR, RF, and SVM. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(27), 6426-6434.
- [126] Cheng, S., Wang, J., Ma, Y., Wang, Y. (2012). Discrimination of different types damage of tomato seedling by electronic nose. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 28, 102-106.
- [127] Gómez, A.H., Wang, J., Hu, G., Pereira, A.G. (2008). Monitoring storage shelf life of tomato using electronic nose technique. *Journal of Food Engineering*, 85(4), 625-631.
- [128] Wang, J., Zhou, Y. (2007). Electronic-nose technique: Potential for monitoring maturity and shelf life of tomatoes. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 50(5), 1219–1228.

- [129] Sanaeifar, A., Mohtasebi, S.S., Ghasemi-Varnamkhasti, M., Ahmadi, H. (2016). Application of MOS based electronic nose for the prediction of banana quality properties. *Measurement*, 82, 105–114.
- [130] Guohua, H., Yuling, W., Dandan, Y., Wenwen, D., Linshan, Z., Lvyue, W. (2012). Study of peach freshness predictive method based on electronic nose. *Food Control*, 28, 25–32.
- [131] Huang, L., Meng, L., Zhu, N., Wu, D. (2017). A primary study on forecasting the days before decay of peach fruit using near-infrared spectroscopy and electronic nose techniques. *Postharvest Biology and Technology*, 133, 104–112.
- [132] Liu, Q., Zhao, N., Zhou, D., Sun, Y., Sun, K., Pan, L. (2018). Discrimination and growth tracking of fungi contamination in peaches using electronic nose. *Food Chemistry*, 262, 226–234.
- [133] Voss, H.G., Stevan, S.L., Ayub, R.A. (2019). Peach growth cycle monitoring using an electronic nose. *Computers and Electronics in Agriculture*, 163, 104858.
- [134] Wang, L., Wang, P., Deng, W., Cai, J., Chen, J. (2019). Evaluation of aroma characteristics of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) juice using gas chromatography-mass spectrometry and electronic nose. *Food Science and Technology*, 108, 400–406.
- [135] Dou, T.X., Shi, J.F., Li, Y., Bi, F.C., Gao, H.J., Hu, C.H. (2020). Influence of harvest season on volatile aroma constituents of two banana cultivars by electronic nose and HS-SPME coupled with GC-MS. *Scientia Horticulturae*, 265, 109214.
- [136] Zhang, X., Li, M., Cheng, Z., Ma, L., Zhao, L., Li, J. (2019). A comparison of electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry on discrimination and prediction of ochratoxin A content in *Aspergillus carbonarius* cultured grape-based medium. *Food Chemistry*, 297, 124850.
- [137] Chen, H.Z., Zhang, M., Bhandari, B., Guo, Z. (2018). Evaluation of the freshness of fresh-cut green bell pepper (*Capsicum annuum* var. *grossum*) using electronic nose. *Food Science and Technology*, 87, 77–84.
- [138] Chen, H.Z., Guo, Z. (2019). Discrimination of fresh-cut broccoli freshness by volatiles using electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry. *Postharvest Biology and Technology*, 148, 168–175.
- [139] [139] Martínez Gila, D.M., Gámez García, J., Bellincontro, A., Mencarelli, F., Gómez Ortega, J. (2020). Fast tool based on electronic nose to predict olive fruit quality after harvest. *Postharvest Biology and Technology*, 160, 111058.
- [140] Dutta, R., Hines, E.L., Gardner, J.W., Kashwan, K.R., Bhuyan, M. (2003). Tea quality prediction using a tin oxide-based electronic nose: an artificial intelligence approach. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 94, 228–237.
- [141] Kashwan, K.R., Bhuyan, M. (2005). Robust electronic-nose system with temperature and humidity drift compensation for tea and spice flavour discrimination. *Asian Conference on Sensors and the International Conference on New Techniques in Pharmaceutical and Biomedical Research-Proceedings*, 154–158.
- [142] Yu, H., Wang, J. (2007). Discrimination of LongJing green-tea grade by electronic nose. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 122, 134–140.
- [143] Bhattacharyya, N., Seth, S., Tudu, B., Tamuly, P., Jana, A., Ghosh, D. (2007). Monitoring of black tea fermentation process using electronic nose. *Journal of Food Engineering*, 80, 1146–1156.
- [144] Bhattacharyya, N., Seth, S., Tudu, B., Tamuly, P., Jana, A., Ghosh, D. (2007). Detection of optimum fermentation time for black tea manufacturing using electronic nose. *Sensors and Actuators: B. Chemical*, 122, 627–634.
- [145] Bhattacharya, N., Tudu, B., Jana, A., Ghosh, D., Bandhopadhyaya, R., Bhuyan, M. (2008). Preemptive identification of optimum fermentation time for black tea using electronic nose. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 131, 110–116.
- [146] Yu, H., Wang, J., Zhang, H., Yu, Y., Yao, C. (2008). Identification of green tea grade using different feature of response signal from E-nose sensors. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 128, 455–461.
- [147] Bhattacharyya, N., Bandyopadhyay, R., Bhuyan, M., Tudu, B., Ghosh, D., Jana, A. (2008). Electronic nose for black tea classification and correlation of measurements with “tea taster” marks. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, 57(7), 1313–1321.
- [148] Bhattacharya, N., Tudu, B., Jana, A., Ghosh, D., Bandhopadhyaya, R., Baran, A. (2008). Illumination heating and physical raking for increasing sensitivity of electronic nose measurements with black tea. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 131, 37–42.
- [149] Tudu, B., Jana, A., Metla, A., Ghosh, D., Bhattacharyya, N., Bandyopadhyay, R. (2009). Chemical electronic nose for black tea quality evaluation by an incremental RBF network. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 138, 90–95.
- [150] Tudu, B., Metla, A., Das, B., Bhattacharyya, N., Jana, A. (2009). Classifier for black tea quality evaluation: An incremental fuzzy approach. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, 58(9), 3069–3078.
- [151] Yu, H., Wang, Y., Wang, J. (2009). Identification of tea storage times by linear discrimination analysis and back-propagation neural network techniques based on the eigenvalues of principal components analysis of e-nose sensor signals. *Sensors*, 8073–8082.
- [152] Yang, Z., Dong, F., Shimizu, K., Kinoshita, T., Kanamori, M., Morita, A. (2009). Identification of coumarin-enriched Japanese green teas and their particular flavor using electronic nose. *Journal of Food Engineering*, 92(3), 312–316.
- [153] Yu, H., Wang, J., Xiao, H., Liu, M. (2009). Chemical quality grade identification of green tea using the eigenvalues of PCA based on the E-



- nose signals. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 140, 378–382.
- [154] Sipos, L., Kovacs, Z., Szöllosi, D., Kokai, Z. (2011). Comparison of novel sensory panel performance evaluation techniques with e-nose analysis integration. *Journal of Chemometrics*, 25(5), 275–286.
- [155] Bag, A., Tudu, B., Bandyopadhyay, R., Bhattacharyya, N., Roy, J. (2011). Optimization of sensor array in electronic nose: A rough set-based approach. *Smart Sensors, Measurement and Instrumentation*, 11(11), 3001–3008.
- [156] Chen, Q., Zhao, J., Chen, Z., Lin, H., Zhao, D.A. (2011). Discrimination of green tea quality using the electronic nose technique and the human panel test, comparison of linear and nonlinear classification tools. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 159(1), 294–300.
- [157] Kaur, R., Kumar, R., Gulati, A., Ghanshyam, C., Kapur, P., Bhondekar, A.P. (2012). Enhancing electronic nose performance: A novel feature selection approach using dynamic social impact theory and moving window time slicing for classification of Kangra orthodox black tea (*Camellia sinensis* L., O. Kuntze). *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 166, 309–319.
- [158] Qin, Z., Pang, X., Chen, D., Cheng, H., Hu, X., Wu, J. (2013). Evaluation of Chinese tea by the electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry: Correlation with sensory properties and classification according to grade level. *Food Research International*, 53(2), 864–674.
- [159] Mirasoli, M., Gotti, R., Di Fusco, M., Leoni, A., Colliva, C., Roda, A. (2014). Electronic nose and chiral-capillary electrophoresis in evaluation of the quality changes in commercial green tea leaves during a long-term storage. *Talanta*, 129, 32–38.
- [160] Torri, L., Rinaldi, M., Chiavaro, E. (2014). Electronic nose evaluation of volatile emission of Chinese teas: From leaves to infusions. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(5), 1315–1323.
- [161] Kablan, Y. (2018). Elektronik Burun ile Farklı Kalitedeki Doğu Karadeniz Çaylarının Sınıflandırılması. *Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi*, 1-98.
- [162] Zhu, J.C., Chen, F., Wang, L.Y., Niu, Y.W., Xiao, Z.B. (2017). Evaluation of the synergism among volatile compounds in Oolong tea infusion by odour threshold with sensory analysis and E-nose. *Food Chemistry*, 221, 1484–1490.
- [163] Xu, M., Wang, J., Gu, S. (2019). Rapid identification of tea quality by E-nose and computer vision combining with a synergetic data fusion strategy. *Journal of Food Engineering*, 241, 10–17.
- [164] Banerjee, M.B., Roy, R.B., Tudu, B., Bandyopadhyay, R., Bhattacharyya, N. (2019). Black tea classification employing feature fusion of E-Nose and E-Tongue responses. *Journal of Food Engineering*, 244, 55–63.
- [165] Xu, M., Wang, J., Zhu, L. (2019). The qualitative and quantitative assessment of tea quality based on E-nose, E-tongue and E-eye combined with chemometrics. *Food Chemistry*, 289, 482–489.
- [166] Wang, J., Chang, M., He, W., Lu, X., Fei, S., Lu, G. (2020). Optimization of electronic nose sensor array for tea aroma detecting based on correlation coefficient and cluster analysis. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 128068.
- [167] Romani, S., Cevoli, C., Fabbri, A., Alessandrini, L., Rosa, M.D. (2012). Evaluation of coffee roasting degree by using electronic nose and artificial neural network for off-line quality control. *Food Chemistry*, 77(9), 960–965.
- [168] Gardner, J., Shurmer, H., Tan, T.T. (1992). Application of an electronic nose to the discrimination of coffees. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 6, 71–75.
- [169] Falasconi, M., Pardo, M., Sberveglieri, G., Riccò, I., Bresciani, A. (2005). The novel EOS835 electronic nose and data analysis for evaluating coffee ripening. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 110(1), 73–80.
- [170] Aishima, T. (1991). Aroma discrimination by pattern recognition analysis of responses from semiconductor gas sensor array. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 39, 752–756.
- [171] Kermani, B.G., Schiffman, S.S., Nagle, H.T. (2005). Performance of the Levenberg – Marquardt neural network training method in electronic nose applications. *Sensor and Actuators, B: Chemical*, 110, 13–22.
- [172] Pardo, M., Sberveglieri, G. (2002). Coffee analysis with an electronic nose. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, 51(6), 1334–1339.
- [173] Brudzewski, K., Osowski, S., Member, S., Dwulit, A. (2012). Recognition of coffee using differential electronic nose. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, 61(6), 1803–1810.
- [174] Rodríguez, J., Durán, C., Reyes, A. (2010). Electronic nose for quality control of Colombian coffee through the detection of defects in " Cup Tests ". *Sensors*, 10, 36–46.
- [175] Dong, W., Zhao, J., Hu, R., Dong, Y., Tan, L. (2017). Differentiation of Chinese robusta coffees according to species, using a combined electronic nose and tongue, with the aid of chemometrics. *Food Chemistry*, 229, 743–751.
- [176] Dong, W., Hu, R., Long, Y., Li, H., Zhang, Y., Zhu, K. (2019). Comparative evaluation of the volatile profiles and taste properties of roasted coffee beans as affected by drying method and detected by electronic nose, electronic tongue, and HS-SPME-GC-MS. *Food Chemistry*, 272, 723–731.
- [177] Mamatha, B.S., Prakash, A.T. (2011). Studies on Pepper (*Piper nigrum* L.) cultivars by sensory and instrumental techniques. *Zeitschrift für Arznei und Gewürzpflanzen*, 16(4), 176–180.
- [178] Carmona, M., Martínez, J., Zalacain, A., Rodríguez-Méndez, M.L., De Saja, J.A., Alonso, G.L. (2006). Analysis of saffron volatile fraction by TD-GC-MS and e-nose. *European Food Research and Technology*, 223(1), 96–101.



- [179] Tahri, K., Tiebe, C., Bougrini, M., Saidi, T., El Alami El Hassani, N., El Bari, N. (2015). Characterization and discrimination of saffron by multisensory systems, SPME-GC-MS and UV-Vis spectrophotometry. *Analytical Method*, 7(24), 10328–10338.
- [180] Ravi, R., Prakash, M., Bhat, K.K. (2013). Characterization of aroma active compounds of cumin (*Cuminum cyminum* L.) by GC-MS, E-Nose, and sensory techniques. *International Journal of Food Properties*, 16(5), 1048–1058.
- [181] Ravi, R., Prakash, M., Bhat, K.K. (2007). Aroma characterization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) oil samples. *European Food Research and Technology*, 225(3), 367–374.
- [182] Tamaki, K., Sonoki, S., Tamaki, T., Ehara, K. (2008). Measurement of odour after in vitro or in vivo ingestion of raw or heated garlic, using electronic nose, gas chromatography and sensory analysis. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(1), 130–139.
- [183] Liu, H., Zeng, F., Wang, Q., Ou, S., Tan, L., Gu, F. (2013). The effect of cryogenic grinding and hammer milling on the flavour quality of ground pepper (*Piper nigrum* L.). *Food Chemistry*, 141(4), 3402–3408.
- [184] Lee, J.H., Sung, T.H., Lee, K.T., Kim, M.R. (2004). Effect of gamma-irradiation on color, pungency, and volatiles of Korean red pepper powder. *Journal of Food Science*, 69(8), 585–592.
- [185] García, M., Aleixandre, M., Gutiérrez, J., Horrillo, M.C. (2006). Electronic nose for wine discrimination. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 113, 911–916.
- [186] Rodriguez-Mendez, M.L., Apetrei, C., Gay, M., Medina-plaza, C., Saja, J.A., Aagaard, O. (2014). Evaluation of oxygen exposure levels and polyphenolic content of red wines using an electronic panel by an electronic nose and an electronic tongue. *Food Chemistry*, 155, 91–97.
- [187] Wongchoosuk, C., Choopun, S., Tuantranont, A., Kerdcharoen, T., Wongchoosuk, C., Choopun, S. (2009). Au-doped zinc oxide nanostructure sensors for detection and discrimination of volatile organic compounds. *Materials Research Innovations*, 13, 185–187.
- [188] Wei, Y., Yang, L., Liang, Y., Li, J.M. (2014). Application of electronic nose for detection of wine-aging methods. *Advanced Materials Research*, 875–877, 2206-2213.
- [189] Prieto, N., Dugan, M.E., López-Campos, O., Mcallister, T.A., Aalhus, J.L., Uttaro, B. (2012). Near infrared reflectance spectroscopy predicts the content of polyunsaturated fatty acids and biohydrogenation products in the subcutaneous fat of beef cows fed flaxseed. *International Journal of Modern Education and Computer Science*, 90(1), 43–51.
- [190] Apetrei, I.M., Rodríguez-Méndez, M.L., Apetrei, C., Nevares, I., Alamo, M., Saja, J.A. (2012). Monitoring of evolution during red wine aging in oak barrels and alternative method by means of an electronic panel test. *Food Research International*, 45(1), 244–249.
- [191] Lozano, J., Arroyo, T., Santos, J.P., Cabellos, J.M., Horrillo, M.C. (2008). Electronic nose for wine ageing detection. *Sensors and Actuators B:Chemical*, 133, 180–186.
- [192] Macías, M., Manso, A.G., Orellana, C.J., Velasco, H.M., Caballero, R.G., Chamizo, J.C. (2013). Acetic acid detection threshold in synthetic wine samples of a portable electronic nose. *Sensors*, 13, 208–220.
- [193] Lozano, J., Álvarez, F., Santos, J.P., Horrillo, C. (2011). Detection of acetic acid in wine by means of an electronic nose. *AIP Conference Proceedings*, 1362, 176–177.
- [194] Prieto, N., Gay, M., Vidal, S., Aagaard, O., Saja, J.A. (2011). Analysis of the influence of the type of closure in the organoleptic characteristics of a red wine by using an electronic panel. *Food Chemistry*, 129(2), 58.
- [195] Cabañes, F.J., Sahgal, N., Bragulat, M.R., Magan, N. (2009). Early discrimination of fungal species responsible of ochratoxin a contamination of wine and other grape products using an electronic nose. *Mycotox Research*, 25, 187–192.
- [196] Ragazzo-Sanchez, J.A., Chalier, P., Chevalier-Lucia, D., Calderon-Santoyo, M., Ghommidh, C. (2009). Chemical off-flavours detection in alcoholic beverages by electronic nose coupled to GC. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 140, 29–34.
- [197] Berna, A.M., Rowell, S.T., Ynkar, W.I. (2008). Comparison of metal oxide-based electronic nose and mass spectrometry-based electronic nose for the prediction of red wine spoilage. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 56, 3238–3244.
- [198] Buratti, S., Ballabio, D., Giovanelli, G., Dominguez, C.M., Moles, A., Benedetti, S. (2011). Monitoring of alcoholic fermentation using near infrared and mid infrared spectroscopies combined with electronic nose and electronic tongue. *Analytica Chimica Acta*, 697, 67–74.
- [199] Santos, J.P., Arroyo, T., Aleixandre, M., Lozano, J., Sayago, I., Garc, M. (2004). A comparative study of sensor array and GC – MS: application to Madrid wines characterization. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 102, 299–307.
- [200] Marti, M.P., Busto, O., Guasch, J. (2004). Application of a headspace mass spectrometry system to the differentiation and classification of wines according to their origin, variety and ageing. *Journal of Chromatography A*, 1057, 211–217.
- [201] Capone, S., Tufariello, M., Francioso, L., Montagna, G., Casino, F., Leone, A. (2013). Chemical aroma analysis by GC/MS and electronic nose dedicated to Negroamaro and Primitivo typical Italian Apulian wines. *Sensors and Actuators B:Chemical*, 179, 259-269.
- [202] Fu, J., Huang, C., Xing, J., Zheng, J. (2012). Pattern classification using an olfactory model with PCA feature selection in electronic noses:

- study and application. *Sensors*, 12(3), 2818–2830.
- [203] Santos, J.P., Lozano, J., Aleixandre, M., Arroyo, T., Mariano, J., Gil, M. (2010). Threshold detection of aromatic compounds in wine with an electronic nose and a human sensory panel. *Talanta*, 80, 1899–1906.
- [204] Arroyo, T., Lozano, J.E., Cabellos, J.M., Gil-Diaz, M. (2009). Evaluation of wine aromatic compounds by a sensory human panel and an electronic nose. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 57, 11543–11549.
- [205] Berna, A.Z., Trowell, S., Clifford, D., Cynkar, W., Cozzolino, D. (2009). Geographical origin of Sauvignon Blanc wines predicted by mass spectrometry and metal oxide based electronic nose. *Analytica Chimica Acta*, 648, 146–152.
- [206] Buratti, S., Benedetti, S., Scampicchio, M., & Pangerod, E.C. (2004). Characterization and classification of Italian Barbera wines by using an electronic nose and an amperometric electronic tongue. *Analytica Chimica Acta*, 525, 133–139.
- [207] Rodríguez-Méndez, M.L., Arrieta, A.A., Parra, V., Bernal, A., Vegas, A., Villanueva, S. (2004). Fusion of three sensory modalities for the multimodal characterization of red wines. *IEEE Sensors Journal*, 4(3), 348–354.
- [208] Lozano, J., Santos, J.P., Suárez, J.I., Cabellos, M., Arroyo, T., Horrillo, C. (2014). Automatic sensor system for the continuous analysis of the evolution of wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66, 148–155.
- [209] Aleixandre, M., González, J.A., Sayago, I., Fernández, M.J., Gutiérrez, J., Horrillo, M.C. (2009). Analysis of grape variety and denomination of origin of several wines with an artificial nose. *Spanish Conference on Electron Devices*, 309-311.
- [210] Lozano, J., Santos, J.P., Arroyo, T., Aznar, M., Mariano, J., Gil, M. (2007). Correlating e-nose responses to wine sensorial descriptors and gas chromatography–mass spectrometry profiles using partial least squares regression analysis. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 127, 267–276.
- [211] Aleixandre, M., Lozano, J., Gutierrez, J., Sayago, I., Fernandez, M.J., Horrillo, M.C. (2008). Portable e-nose to classify different kinds of wine. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 131, 71–76.
- [212] Lozano, J., Santos, J.P., Guti, J., Horrillo, M.C. (2007). Comparative study of sampling systems combined with gas sensors for wine discrimination. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 126, 616–623.
- [213] Villanueva, S., Vegas, A., Fernandez-Escudero, J.A., Rodr, M.L., Saja, J.A. (2006). SPME coupled to an array of MOS sensors reduction of the interferences caused by water and ethanol during the analysis of red wines. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 120, 278-287.
- [214] Aguilera, T., Lozano, J., Paredes, J., Alvarez, F., Suarez, J. (2012). Electronic nose based on independent component analysis combined with partial least squares and artificial neural networks for wine prediction. *Sensors*, 12, 8055–8072.
- [215] Lozano, J., Santos, J.P., Aleixandre, M., Sayago, I., Gutiérrez, J., Horrillo, M.C. (2006). Identification of typical wine aromas by means of an electronic nose. *IEEE Sensors Journal*, 6(1), 173–178.
- [216] Lozano, J., Santos, J.P., Horrillo, M.C. (2005). Classification of white wine aromas with an electronic nose. *Talanta*, 67, 610–616.
- [217] Buratti, S., Ballabio, D., Benedetti, S., Cosio, M.S. (2007). Prediction of Italian red wine sensorial descriptors from electronic nose, electronic tongue and spectrophotometric measurements by means of Genetic Algorithm regression models. *Food Chemistry*, 100, 211–218.

## Süt İşlemede Ultrason Kullanımı\*

Cesur Mehenktaş  

Ege Üniversitesi, Tire Kutsan Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Programı, Tire, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 21.11.2022, Kabul Tarihi (Accepted): 20.12.2022

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): cesur.mehenktaş@ege.edu.tr (C. Mehenktaş)

☎ 0 232 512 8616 📠 0 232 512 8616

\*: Bu makale 13.08.2012 tarihinde yayınlanmak üzere kabul edilmiş ancak yayınlanması gecikmiş çalışmanın yazar tarafından güncellenmiş nüshasının hakem değerlendirme süreci doğrultusunda kabul edilmiş son halidir.

### ÖZ

Ultrasonik işleme, gıda sanayisindeki yeni teknolojilerden biridir. Ultrason terimi işitilebilir frekans aralığının ötesindeki ses dalgalarını ifade etmektedir. Ultrason sıvı bir ortamdan geçtiğinde, akustik kavitasyon olarak bilinen bir olay meydana gelmektedir. Akustik kavitasyon, yüksek düzeyde reaktif radikaller, mikrojetler, kayma kuvvetleri, şok dalgaları ve türbülans gibi şiddetli fiziksel kuvvetler oluşturmaktadır. Ultrasonun bu etkileri süt işlemede membran temizleme, emülsiyon oluşumu, homojenizasyon, süt yağının ayrılması, süt yağının ve laktozun kristalizasyonu, gaz giderme, mikrobiyal ve enzimatik aktivasyon/inaktivasyon, ultrasonik görüntüleme, proses kontrolü, ultrasonik atomizasyon ve fonksiyonel özelliklerin değiştirilmesi gibi işlemlerde kullanılmaktadır. Bu derleme çalışmasında, ultrason ve akustik kavitasyon kavramlarının yanı sıra ultrason teknolojisinin süt ve süt ürünlerinde kullanımı ile ilgili bilgiler sunulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Ultrason, Akustik kavitasyon, Süt işleme

### Use of Ultrasound in Dairy Processing

#### ABSTRACT

Ultrasonic processing is one of the novel technologies in food industry. The term ultrasound refers to sound waves beyond the audible frequency range. When ultrasound passes through a liquid medium, a phenomenon known as acoustic cavitation occurs. Acoustic cavitation generates highly reactive radicals and intense physical forces such as microjets, shear forces, shock waves and turbulence. These effects of ultrasound are used in dairy processing for membrane cleaning, emulsion formation, homogenization, separation of milkfat, crystallization of milkfat and lactose, degassing, microbial and enzymatic activation/inactivation, ultrasonic imaging, process control, ultrasonic atomization, and alteration of functional properties. In this review, information about the concepts of ultrasound and acoustic cavitation along with the use of ultrasound technology in milk and dairy products is presented.

**Keywords:** Ultrasound, Acoustic cavitation, Dairy processing

#### GİRİŞ

Tüketicilerin duyuşal ve beslenmeyle ilgili konular, kolaylık, yapay katkı maddelerinin bulunmaması, düşük enerji gereksinimi ve çevre güvenliği ile ilgili taleplerini karşılamak amacıyla çeşitli muhafaza teknikleri geliştirilmektedir [1]. Ayrıca, daha taze, daha doğal ve

daha sağlıklı ve aynı zamanda güvenlik düzeyi yüksek gıdalara olan tüketici talepleri, gıdalardaki mikroorganizmaları inhibe etmek ve enzimleri inaktif hale getirmek için ısı olmayan muhafaza tekniklerine karşı ilgiyi arttırmıştır [2]. Bunlar arasında ultrason, minimum düzeyde işlenmiş gıdalara olan tüketici ilgisi nedeniyle gıda işlemede önemli bir role sahiptir.

Ultrason; süre, enerji tüketimi vb. gıda işleme parametrelerini minimize etmek, gıda kalitesi ve güvenliğini iyileştirmek için uygulanmaktadır [3].

Ultrason halihazırda ticari süt işleme uygulamalarına önemli ölçüde girmiştir. Bu konuda muhtemelen en önemli uygulama ultrasonik peynir kesim aletlerinin kullanımıdır. Bu makineler neredeyse sürtünmesiz bir yüzey sağlayan, yüksek frekansta titreşim yapan bir bıçak kullanmakta ve bu sayede peynirin deforme olmadan, bıçağa yapışmadan, pürüzsüz bir şekilde kesilmesini sağlamaktadır [4]. Ultrason ile gıdaların kesilmesinin, işlenmesi zor gıdalarda bile hız ve verimliliği sağladığı bildirilmektedir [5]. Ultrason ayrıca süt kutularını ve rendelenmiş peynir ambalajlarını kapatmada ticari olarak kullanılmaktadır ki ultrasonik kaynaklama da denilen bu işlemde, kavitasyon işleminden kaynaklanan sıcaklık plastiği kaynaklamak için yeterli olmaktadır [6]. Ultrasonun süt işlemede söz konusu uygulamaların yanı sıra farklı kullanımları da bulunmaktadır ve bu makalede bu kullanımlara ilişkin bilgiler verilmektedir.

## ULTRASON VE AKUSTİK KAVİTASYON

Ultrason 20 kHz'in üzerindeki frekanslarda çalışan titreşimsel bir enerji türüdür [7]. Ultrason teknolojisi insan işitme aralığının üzerinde, 20 kHz'den 10 MHz'e kadar ses dalgaları kullanmaktadır ve genellikle uygulamaları düşük şiddetli (100 kHz-10 MHz,  $<1 \text{ W/cm}^2$ ) ve yüksek şiddetli (20-100 kHz,  $>1 \text{ W/cm}^2$ ) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır [8]. Ultrason sıvı bir ortamdan geçtiğinde ultrasonik dalgalar, sıvı ve çözülmüş gaz arasındaki etkileşim "akustik kavitasyon" olarak bilinen bir olaya yol açmaktadır. Kısaca bahsetmek gerekirse, çözülmüş gaz çekirdekleri çevrelerindeki dalgalanan basınç nedeniyle akustik alanın etkisi altında titreşmektedir. Titreşimler sırasında, çözülmüş gaz ve çözgen buharı titreşen baloncukların içine ve dışına difüze olmaktadır. "Düzeltilmiş difüzyon" işlemi nedeniyle, genleşme fazı sırasında baloncukların içine difüze olan gaz/buhar miktarı, baloncuk titreşiminin sıkışma fazı sırasında baloncukların dışına difüze olan miktardan fazladır. Bu durum, baloncukların rezonans boyut aralığına doğru büyümesine yol açmaktadır. Baloncuklar rezonans boyut aralığına ulaştıklarında, bir akustik döngü içerisinde maksimum boyuta büyümekte ve şiddetle söner, sönen baloncuklar içerisinde çok yüksek sıcaklık koşulları meydana gelmektedir. Deneysel olarak belirlenen sıcaklıklar yaklaşık  $1726.85\text{-}9726.85^\circ\text{C}$  olup, teorik olarak yapılan tahminler  $99726.85^\circ\text{C}$ 'ye kadardır. Kavitasyon baloncukları içerisinde yüksek düzeyde reaktif radikaller meydana gelmektedir [9]. Akustik kavitasyonun başlıca mekanik etkileri şok dalgalarına bağlı hasar ve mikrojet etkileridir [10]. Ultrason uygulaması ile gerçekleşen diğer mekanik olaylar ajitasyon, türbülans, titreşim, basınç, kayma kuvvetleri ve akustik akıştır [11].

Ultrason frekansı baloncuk boyutuyla ters orantılıdır. Dolayısıyla, düşük frekanslı ultrason büyük kavitasyon baloncukları oluşturarak kavitasyon bölgesinde daha yüksek sıcaklıklara ve basınçlara neden olmaktadır. Frekans yükseldikçe kavitasyon bölgesinin şiddeti

azalmakta ve megahertz düzeylerinde artık hiç kavitasyon görülmemektedir ve ana mekanizma akustik akıştır. Çoğu sanayi uygulaması 16 ile 100 kHz arasında gerçekleştirilmektedir, çünkü kavitasyon bu frekans aralığında oluşmaktadır [12].

Ultrasonun sanayi proseslerinde kullanımında başlıca iki gereksinim söz konusudur ki bunlar bir sıvı ortam (sıvı kısım, toplam ortamın sadece %5'ini oluştursa dahi) ve bir yüksek enerjili titreşim kaynağı (ultrason)'dır. Titreşim enerjisi kaynağına dönüştürücü adı verilmekte ve titreşimi kuvvetlendirdikten sonra işleme ortamıyla doğrudan temas halinde bulunan proba iletilmektedir [12].

## ULTRASONUN SÜT ve ÜRÜNLERİNDE KULLANIMI

Ultrason, ürünlerde minimum değişimlere yol açması ve daha düşük enerji gereksinimi ile gıda işleme ve muhafazasındaki gelecek vadeden etkileri nedeniyle süt sanayisi için gelişmekte olan yenilikçi bir teknoloji olarak kabul edilmektedir [13]. Özellikle yüksek şiddetli ultrasonun gıdalarda ve diğer ürünlerde kaliteye zarar vermeksizin prosesleri kontrol etme, iyileştirme ve hızlandırmada büyük bir potansiyele sahip olduğu belirtilmektedir [14]. Proses etkinliğinin artması, uygun fonksiyonelliğe sahip ürünler üretme olanağı, gıdayı muhafaza etme ve enzim aktivitesini değiştirme imkanı ve bileşen etkileşimleri yoluyla mikroyapıyı iyileştirme olanağı nedenleriyle süt sanayisindeki çeşitli uygulamalar için ultrason kullanımı gittikçe geliştirilmektedir [9].

## Membran Temizleme

Membran teknolojileri; süt ve gıda teknolojisi, ilaç sanayisi, kimya sanayisi ve atık su arıtma gibi birçok endüstriyel uygulamada yaygın şekilde kullanılmaktadır [15]. Ultrafiltrasyon membranlarının tıkanması birçok süt üretim işleminin maliyet ve verimini etkileyen önemli bir konudur. Süt ve bileşenlerinin filtrasyonu sırasında filtrasyon membranlarında membran tıkanmasına ve sonuç olarak büyük ölçekli işlemlerde verim azalmasına yol açan partikül birikimi meydana gelmektedir [6].

Süt sanayisinde peyniraltı suyunun ultrafiltrasyonunda kullanılan membranlar, membranın ömrünü uzatmak, hijyenik işlemi sağlamak, membran performansını sürdürmek ve membran yenileme maliyetini azaltmak için her partiden sonra temizlenmekte ve dezenfekte edilmektedir. Dolayısıyla membran temizleme, ayırma işleminde kullanılan membranların muhafazasında önemli bir aşamadır. Sanayide halen membran temizleme için kullanılan farklı fiziksel ve kimyasal temizleme yöntemleri bulunmaktadır. Kimyasal işlemler, yüzey aktif maddeler ve kostik soda gibi membran materyaline zarar verebilen ve membranın ömrünü kısaltabilen büyük miktarlarda pahalı kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Geri yıkama gibi fiziksel temizleme yöntemleri de tıkalı membranları temizlemek için kullanılmaktadır. Ancak bu teknikler sürekli filtrasyon işlemini aksatarak daha uzun işlem süresine neden olmaktadır [16]. Membran temizlemede ultrason

uygulaması kullanımının gelecek vadeden bir teknik olduğu belirtilmektedir [17]. Ultrason uygulaması, kimyasal maddelere bel bağlamayı ve fiziksel temizleme yöntemlerinde karşılaşılan sorunları azaltmak için süt sanayisinde membranların temizlenmesinde olası bir yöntem olarak önerilmektedir. Ultrason ince partiküllerin bir araya toplanmasına yol açmakta ve bu partikülleri kısmen asılı tutmak için sisteme yeterli karıştırma enerjisi sağlamaktadır. Bu durum solvent geçişi için daha fazla serbest kanal temin etmektedir. Ultrasonik dalganın yol açtığı kavitasyon olayı membran yapısı üzerindeki kekin yer değiştirmesine de yardımcı olabilmekte, bu durum tıkanmanın önlenmesini desteklemekte ve daha iyi ayırma hızlarına olanak tanımaktadır [16]. Ultrafiltrasyon membranlarının temizlenmesinde ultrason kullanımının düşük frekanslarda (20-25 kHz) daha etkili olduğu bildirilmektedir [18].

Ultrason teknolojisi mikrofiltrasyon membranlarının temizlenmesinde de kullanılabilir. Maskooki ve ark. [19] tarafından yapılan bir çalışmada, çeşitli frekanslarda (28, 45 ve 100 kHz) ve karışık dalga tipinde (30 dakikalık toplam sürede her 1 dakikada sırasıyla 28, 45 ve 100 kHz olacak şekilde) ultrason, %1'lik yağsız süttozu çözeltisi ile tıkanmış mikrofiltrasyon membranlarının ileri yıkama ile temizlenmesinde, tek başına ve şelat oluşturuca madde olarak iki farklı konsantrasyonda (1 ve 3 mmol) EDTA ile birlikte kullanılmıştır. Çalışmada karışık dalga tipindeki ultrasonun tek başına ve 1 mmol konsantrasyonundaki EDTA ile birlikte kullanımının diğer uygulamalara kıyasla daha yüksek temizleme etkinliğine sahip olduğu ve ultrasonun EDTA ile birlikte kullanılması durumunda sinerjik etki oluştuğu saptanmıştır. Ayrıca, etkili ultrason frekansı ve düşük konsantrasyonda EDTA ile birlikte yalnızca 5 dakikalık ileri yıkamanın, tıkanmış mikrofiltrasyon membranlarının temizlenmesinde yeterli olduğu belirlenmiştir.

### **Emülsiyon Oluşumu, Homojenizasyon ve Süt Yağının Ayrılması**

Emülsiyon oluşumu, biri diğeri içerisinde küçük damlacıklar halinde disperse edilen karışmayan iki sıvıdan (genellikle yağ ve su) oluşan bir sistemin meydana getirildiği işlemdir. Emülsiyonlar, disperse edilen fazın damlacık boyutuna bağlı olarak mikro- (10-100 nm), nano- (100-1000 nm) ve makro-emülsiyonlar (0.5-100 µm) olarak sınıflandırılabilir [20].

Yüksek frekanslarda meydana gelen kayma kuvvetleri nispeten zayıftır ve bu nedenle emülsiyon oluşturma uygulamaları için kullanışlı değildir. Yalnızca düşük frekanslı ultrason (16-100 kHz) emülsiyon oluşturabilmektedir. Geleneksel yöntemlerle gerçekleştirilen emülsiyon uygulamalarıyla kıyaslandığında; ultrason ile emülsiyon oluşturmak için gereksinim duyulan enerji, geleneksel yöntemlerde gereksinim duyulandan daha düşüktür; ultrason ile oluşturulan emülsiyonlar daha kararlıdır; eğer varsa minimum düzeyde yüzey aktif maddeye gereksinim göstermektedir; mikrondan daha küçük bir boyuta ve son derece homojen bir boyut dağılımına sahiptir [9].

Ultrasonik yaklaşımın dikkate değer bir avantajı ekipman temizliğinin geleneksel homojenizatörlere veya daha yeni mikroakışkan cihazlara göre kolay olmasıdır. Bu durum aseptik bir ortamın sürdürülmesine yardımcı olmaktadır [6]. Ultrason uygulamasının diğer bir avantajı klasik homojenizatörlere göre daha düşük yatırım maliyeti gerektirmesidir [21].

Ultrasonik emülsiyon oluşumu sütün homojenizasyonunda bir hayli ilgi çekmektedir. Süt işleme sanayisinde ultrasonik homojenizasyon depolama sırasında kaymak bağlamaya karşı stabiliteyi arttırdığından süt, yoğurt ve dondurmanın işlenmesinde ana aşama olarak kullanılmaktadır [9]. Ultrason işleminin süt yağı globül çaplarını küçültmede, hem tek aşamalı hem de iki aşamalı geleneksel homojenizasyon işlemine göre daha etkili olduğu, globül çaplarındaki küçülmenin ultrason şiddetinin artmasıyla artış gösterdiği belirtilmektedir [21]. Ultrason kullanılarak homojenize edilmiş sütte üretilen probiyotik yoğurtlarda, geleneksel yöntemle homojenize edilmiş sütte üretilenlere göre su tutma kapasitesinin arttığı, ultrason uygulamasının yoğurtların duysal özelliklerini olumsuz yönde etkilemediği, aksine toplam kabul edilebilirlik ve tekstürü iyileştirdiği bildirilmiştir [22].

Diğer taraftan, 400 kHz'in üzerindeki yüksek frekanslara sahip ultrason süt yağının ayrılması için kullanılmaktadır. Yüksek frekanslı ultrason kullanımının; çok düşük ultrasonik frekanslarda meydana gelen yüksek düzeyde parçalayıcı/karıştırıcı kuvvetler yerine, yağı yer değiştirmeye teşvik eden daha hassas bir işlem olduğu düşünülmektedir. Yağ globülleri doğal olarak yüksek basınçlı bölgelere göç etmekte ve bu bölgelerde konsantrasyon hale gelerek topaklanmakta ve birleşmekte, bu da daha iyi bir kremalaşma oranına yol açmaktadır [23].

### **Süt Yağının ve Laktozun Kristalizasyonu**

Ultrason uygulamasının süt yağının kristalizasyonu üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Bu etkilerden bir tanesi kristalizasyon işleminin hızlandırılmasıdır ki işleme süresini kısaltacağı için bu durum gıda sanayisi açısından çok önemlidir. Diğer bir etki de kristal boyutunun küçülmesidir. Gregersen ve ark. [24] susuz süt yağı ve süt yağı/kolza yağı karışımlarına yüksek şiddetli ultrason uyguladıkları çalışmalarında, ultrason uygulamasının kristalizasyon işlemini hızlandığını belirlemişlerdir. Çalışmada ayrıca ultrasonun kristal boyutunu da küçülttüğü ortaya konmuş ve bu durumun sürülebilir tereyağı karışımlarında yağın daha iyi bağlanmasını sağlayabileceği ifade edilmiştir. Benzer şekilde, Martini ve ark. [25] gerçekleştirdikleri bir araştırmada susuz süt yağına yüksek şiddetli ultrason uygulamışlar ve söz konusu uygulamanın kristalizasyon işlemini hızlandığını, daha küçük kristaller oluşturduğunu ve viskoziteyi arttırdığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar yüksek şiddetli ultrasonun yağların kristal ağ yapısını iyileştirmek amacıyla kullanılabilirliği sonucuna varmışlardır.

Diğer taraftan, ultrason uygulamasının sulu çözeltilerden laktozun kristalizasyonunu arttırdığı bilinmektedir [26].

Peyniraltı suyundan laktozun geleneksel yöntemle geri kazanım işlemi yavaştır ve laktoz kristallerinin kalitesini (kristallik, boyut dağılımı ve verim) kontrol etmek ya da öngörmek zordur. Safsızlıklar kristalizasyon işlemi değiştirebilmektedir ve bu nedenle genellikle peyniraltı suyu proteinleri peyniraltı suyundan uzaklaştırılmaktadır. Ancak her zaman küçük bir miktarda (>%1) peyniraltı suyu proteini kalmakta ve bu miktar konsantre etme aşamasından sonra artış gösterebilmektedir. Sánchez-García ve ark. [27] tarafından yapılan bir çalışmada laktoz çözeltilerine ultrason uygulanmasının kristalizasyon işlemi hızlandırdığı, kristal boyutunu küçülttüğü ve kristal boyut dağılım aralığını daralttığı belirlenmiştir. Ayrıca, ultrason uygulanmamış örneklerde %0.64 oranındaki peyniraltı suyu proteinlerinin kristalizasyon işlemi hızlandırdığı ancak yapışkanlık ve topaklanma gibi sorunlara yol açan bir madde olan amorf laktoz oluşumuna yol açtığı saptanmıştır. 0.083 W/ml düzeyinde düşük şiddetli ultrason uygulamasının ise peyniraltı suyu proteinleri içeren laktoz çözeltisi örneklerinde amorf laktoz oluşumunu azalttığı ortaya konmuştur.

### Gaz Giderme

İşleme sırasında süt çözeltilerinin köpürmesi son ürün verimini azaltabilmekte ve oksidatif bozulmayı hızlandırabilmektedir [6]. Villamiel ve ark. [28] rekonstitüye yağsız sütün gazını gidermek için 20 kHz'lik atımlı ultrason kullanmışlardır. Çalışmada 5 dakikadan daha az ultrason uygulamasıyla gaz baloncukları kolayca uzaklaşırken, çözünmüş oksijen 20 dakikadan sonra bile önemli düzeyde azaltılamamıştır. Riera ve ark. [29] havadan nakledilen ultrasonun köpük minimizasyonu için etkili bir yaklaşım olabileceğini ortaya koymuşlardır.

### Mikrobiyal ve Enzimatik Etkiler

Ultrason, uygulamanın şiddetine ve frekansına bağlı olarak mikroorganizmalar üzerinde iki taraflı etki gösterebilmektedir: öldürücü etki ya da üremenin teşvik edilmesi [30]. Özellikle 20-40 kHz arasındaki yüksek şiddetli ultrason, zararlı fiziksel etkiler ve yüksek düzeyde oksitleyici hidroksil radikalleri meydana getiren kavitasyon baloncuklarının oluşumu nedeniyle biyolojik moleküllere zarar vermesine karşın, öldürücü düzeyin altında ultrason kullanımının birçok biyoproses için yararlı olduğu ortaya konmuştur [31].

Ultrason mikroorganizmalarda bakterisit etki elde etmek üzere saniyede en az 20000 titreşim kullanmakta ve hücre lizisi (parçalanması) vasıtasıyla enzim inaktivasyonuna neden olmaktadır [32]. Ultrasonik inaktivasyon etkisinden sorumlu ana mekanizma akustik kavitasyonun oluşturduğu fiziksel kuvvetlerdir. Bir kavitasyon baloncunun asimetrik olarak sönmesi, sönen baloncunun merkezinden hızla ilerleyen bir sıvı jetinin oluşumuna yol açmaktadır. Bu mikrojetin hızı saniyede birkaç yüz metredir. Bu yüksek hızlı jet nedeniyle katı yüzeylerde çukurlaşma gözlenmektedir. Mikroorganizmalar hidrofobik yüzeylere sahip olabilmekte, bu da kavitasyon baloncuklarının yüzeyde sönmelerini teşvik ederek hücre duvarına şiddetli zarara

yol açmaktadır. Benzer şekilde, mikroakış hücre duvarlarının aşınmasına neden olabilmekte, bu da mikroorganizmaların inaktivasyonuna yol açmaktadır. Kavitasyon etkilerine ilave olarak sıvı gıdalarda ultrasonun bakterisit etkisi, yapısal ve işlevsel bileşenleri hücrenin lizisi noktasına kadar tahrip eden "hücre içi kavitasyona" da dayandırılmaktadır. İnaktivasyonda lokal ısınma, DNA hasarına yol açan serbest radikal oluşumu ve hücre duvarlarının incelmeye neden olan mikroakışın etkileri çok önemlidir [9].

Farklı mikroorganizmaların ultrasona dirençleri büyük ölçüde değişim göstermektedir. Genel olarak, bakteri sporları (örneğin *Bacillus* ve *Clostridium* türleri) kavitasyon etkilerine gelişme evresindeki vejetatif hücrelerden daha dirençlidir. Mantarlar genel olarak vejetatif mikroorganizmalardan, aeroblar anaeroblardan ve genellikle koklar basillerden daha dirençlidir. Bazı çalışmalarda Gram pozitif bakterilerin kavitasyona Gram negatif bakterilerden daha dirençli olduğu belirtilmektedir [33].

Endüstriyel amaçlarla mikroorganizmaları inaktif hale getirmek için en etkili yaklaşımlar ultrasonun ısıyla (thermosonication, TS), basınçla (manosonication, MS) veya ısı ve basınçla (manothermosonication, MTS) birlikte kullanılmasıdır. Çeşitli çalışmalar TS, MS ve MTS'nin her bir muamele için tek başına uygulanmasına kıyasla ilave hatta sinerjik etkisi bulunduğunu göstermektedir [34]. Örneğin Czank ve ark. [35] insan sütünde *Escherichia coli* ve *Saccharomyces epidermis*'in inaktivasyonunda TS uygulamasının tek başına ultrason uygulamasına (150 W, 20 kHz) göre oldukça etkili olduğunu belirlemişlerdir. Lee ve ark. [36] fosfat tamponundaki (0.01 M, pH 7) *Escherichia coli*'nin inaktivasyonu üzerine 40, 47, 54 ve 61°C'de ve 100, 300, 400 ve 500 kPa'da ultrason, TS, MS ve MTS'nin (20 kHz, 124 µm genlik) etkilerini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar öldürücü faktörlerin kombinasyonunun (ısı ve/veya ultrason, basınçla veya basınçsız) 5 log birimlik bir azalma gerçekleştirmek için gerekli muamele süresini önemli ölçüde kısalttığını ortaya koymuşlardır. *Escherichia coli*'nin TS ve MTS ile inaktivasyon oranlarının, ultrason ve MS ile elde edilenlere göre önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir.

TS'nin etkinliği artan sıcaklıkla azalmaktadır. Bu durum, buhar basıncındaki artış ve sıvı yüzey gerilimindeki azalmanın bir sonucu olarak kavitasyon etkisindeki azalmadan kaynaklanmaktadır [33]. Ancak, MS veya MTS ile bu etkinin üstesinden gelinebilmektedir. Bu yöntemler kaynama noktasının üzerindeki sıcaklıklarda kavitasyonun devam etmesine olanak sağlamakta, ultrasonla mikrobiyal inaktivasyon etkinliğini oldukça arttırmaktadır [37]. Diğer taraftan, TS'nin süt işlemedeki uygulamaları ticari hale dönüştürülmeye gereksinim göstermektedir, çünkü süt ve süt ürünlerinin yüksek şiddetli ultrasonla muamele edilmesi istenmeyen lezzet oluşturma eğilimi göstermektedir [38].

UHT işlemine dayanıklı olan lipazlar ve proteazlar gibi ısıya dirençli enzimler ısı işlem görmüş süt ve diğer süt ürünlerinin kalitesini ve raf ömrünü azaltabilmektedir. Ancak, bu tür enzimler MTS ile sadece ısı işlem

uygulanmasına göre 10 kat daha hızlı inaktif hale gelmektedir. Genellikle, ultrasonun diğer uygulamalarla kombinasyonu enzim inaktivasyon etkinliğini arttırmada daha etkilidir. Özellikle, düşük şiddetli ultrason ve hafif ısı (TS) ve/veya basıncın (MS, MTS) eşzamanlı uygulanmasının gıdalardaki çeşitli enzimlerin inaktivasyon etkinliğini arttırdığı bildirilmektedir. Bununla birlikte, duyarlılık enzimden enzime değişebilmektedir [37]. TS'nin (150 W, 20 kHz, 120 µm genlik, 30-75.5°C, 40.2-102.3 saniye) süt enzimlerini (alkali fosfataz, laktoperoksidaz ve γ-glutamiltanspeptidaz) inaktif hale getirmede sadece ısı kullanımından daha etkili olduğu bildirilmiştir [33].

Diğer taraftan, daha hafif düzeylerde ultrason kullanımı süt fermantasyon işlemlerini desteklemede etkili olabilmektedir. Düşük şiddetli ultrason kullanımı fermantasyon tankı içerisindeki kütle transferini arttırmakta ve böylece enzim verimliliğini yükseltebilmektedir [6]. 100 kHz'in üzerindeki frekanslara sahip ultrason dalgalarının, hücrelere onarılabılır hasarlar veren stabil kaviteasyon oluşturan düşük şiddet nedeniyle hücreler üzerinde hiçbir olumsuz etkiye yol açmadığı, mikrobiyal hücrelerin metabolik aktivitesini değiştirerek, bunların üremelerinin hızlanmasına ve daha fazla miktarda metabolizma ürününe neden olduğu bildirilmektedir [39]. Süt ürünleri fermantasyonunda ultrasonun çoğu yararlı etkisi, kısa sürelerde ve düşük frekanslarda ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla, orta şiddette kısa süreli ultrason uygulaması, ultrasonun bazı olumsuz etkilerini ve enerji giderlerini minimize etmeye olanak sağlamaktadır [6].

### Ultrasonik Görüntüleme ve Proses Kontrolü

Ultrasonun sütle ilgili araştırmalar ve analizlerde analitik bir araç olarak kullanımının çok sayıda örnekleri bulunmaktadır. Örneğin, Corredig ve ark. [40] süt bileşenlerinin jelleşmesini izlemek amacıyla ultrasonik spektroskopik kullanmışlardır. Bu işlem, incelenen örneklerde farklı frekanslarda ultrasonik genliğin hızının ve sönümlenmesinin ölçümünü içermiştir. Wang ve ark. [41] ısıtma işleminden sonra kazein çözeltilerinin rennin ile pıhtılaşma özelliklerini belirlemek üzere düşük şiddetli ultrason kullanmışlardır. Ultrasonik görüntüleme çeşitli peynirlerde yapı gelişimini, peynir yapımında kesim zamanını, peynirlerin reolojik özelliklerini, ısıtma nedeniyle peynirdeki yapısal değişimleri ve peynir olgunluğunu incelemek amacıyla da kullanılmıştır [6].

Diğer taraftan, düşük şiddetli ve yüksek frekanslı ultrasonun gıda ve gıda üretim proseslerinin izlenmesinin iyileştirilmesinde endüstriyel olarak kullanılması da söz konusudur. Bu endüstriyel uygulamalar yumurta, et, meyve ve sebzeler, süt ürünleri ve diğer ürünlerin tekstür, viskozite ve konsantrasyonunun belirlenmesi; çeşitli proseslerin izlenmesi ve kontrolü amacıyla kalınlık, akış düzeyi ve sıcaklık ölçümlerini içermektedir [42].

### Ultrasonik Atomizasyon

Atomizörler süt ürünlerinin püskürtmeli kurutucuda kurutulması sırasında yüksek bir yüzey/kütle oranı

sağlayarak hızlı ısı transferine ve yüksek buharlaşma hızlarına imkan vermektedirler. Süt uygulamalarında kullanılan en yaygın iki atomizör santrifüj (döner) ve basınçlı (nozullu) atomizörlerdir. Ancak ultrasonik atomizörler de uygulanabilir bir alternatif sunmaktadır. Bu noktada, sıvı bir beslemeyi titreşen bir borudan geçirerek aerosol oluşturan ultrasonik nozullar ile daha yüksek ultrasonik frekanslarda çalışan ve ince bir sıvı filmde fiskeye benzeri bir yapı oluşturan ultrasonik nebulizatörleri (sis haline getiriciler) birbirinden ayırmak gerekmektedir. Bir ultrasonik nebulizatörün oluşturduğu damlacık büyüklüğü, bir ultrasonik nozuldan elde edilene göre on kat daha küçüktür. Büyük ölçekli işlemler için nozul içeren ultrasonik püskürtmeli kurutucular mevcut olmasına rağmen, ultrasonik nebulizatörler büyük ölçekli sanayi kullanımı için henüz geliştirilmemiştir. Her iki cihaz da klasik püskürtmeli kurutma atomizörlerine göre teknik üstünlüğe sahiptir, şöyle ki çok daha düşük hızda bir sprey oluşturmaktadırlar. Bu durum, kurutma için gerekli püskürtme bölmesinin çok daha küçük olabilmesi anlamına gelmektedir [6]. Diğer atomizasyon yöntemleriyle kıyaslandığında, ultrasonik nozulların belirgin avantajlarından biri bu cihazlarda daha geniş bir deliğin kullanılabilmesidir ki bu delik nozul tipi atomizörlerdeki basınçlı akış için gereksinim duyulan küçük deliklere göre, tıkanmalara karşı daima daha az eğilimlidir [43].

### Fonksiyonel Özelliklerin Değiştirilmesi

Süt işletmelerinde peyniraltı suyu proteinleri çeşitli işlenmiş gıdalarda kullanılmak üzere konsantre edilmektedir. Bu işlem sırasında oldukça yüksek düzeylerde (ağırlıkça %4-15) protein içeren sulu peyniraltı suyu proteini çözeltileri ısıtma işlemi tabii tutulmaktadır. Protein çözeltilerinin önemli düzeyde artan viskozitesi ısıtma işlemi sırasında ve kullanılabilen toplam kurumada konsantrasyonunu sınırlamaktadır. Daha sonra viskozite ikincil süt ürünlerinin üretimi sırasında ikinci bir ısıtma işlemi daha da artmaktadır. Daha yüksek protein düzeylerinde (ağırlıkça %15'in üzerinde), bu ısıtma işlemlerinde jel oluşumuna yol açabilmektedir. Ashokkumar ve ark. [44] bu problemin üstesinden gelebilmek için yeni bir yaklaşım ortaya koymuşlardır. Böyle bir ısıtma aşamasından sonra çok kısa süreli ultrason uygulaması bu agregatları parçalamakta ve sonraki ısıtma sırasında tekrar oluşmasını önlemekte, dolayısıyla genellikle bu işlemle ilişkili olan viskozite artışını azaltmaktadır. Araştırmacılar gözlenen viskozite azalmasını esasen akustik kaviteasyon sırasında oluşan fiziksel kuvvetlere dayandırmışlardır. Ultrason uygulamasının süt ürünlerinde viskoziteyi azaltmasına ilişkin başka çalışmalar da mevcuttur. Deshpande ve Walsh [45] ultrason uygulamasının gerek kesikli gerekse sürekli sistemde rekonstitüye süt proteini konsantrasyonu ve rekonstitüye yağsız sütün viskozitesini önemli düzeyde düşürdüğünü ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar viskozitedeki azalmanın ultrason uygulaması nedeniyle protein agregatlarının parçalanmasıyla birlikte artan çözünürlüğün bir sonucu olabileceğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde, bir başka çalışmada düşük frekanslı (20 kHz) ultrason uygulamasının hem kesikli hem de sürekli

systemde yağsız süt konsantratinin viskozitesini düşürdüğü belirlenmiştir [46].

Süt ve süt ürünlerinde diğer önemli bir fonksiyonel özellik çözünürlüktür. Bu konuda yapılan bir çalışmada, 5 dakika süreyle 20 kHz frekansında yüksek şiddetli ultrason uygulamasının rekonstitüye süt proteini konsantratinin çözünürlüğünü önemli düzeyde arttırdığı (%35.78'den %88.30'a) belirlenmiştir. Bu etkinin globüler proteinlerin üç boyutlu yapısındaki değişimlerin bir sonucu olduğu değerlendirilmesinde bulunulmuştur [47]. Zhao ve ark. [48] da yaptıkları bir çalışmada 8.0-12.0 arasında değişen alkali pH değerlerine ayarlanmış süt proteini konsantrati, misel kazein konsantrati ve peyniraltı suyu proteini izolati çözeltilerine 5 dakika süreyle 20 kHz frekansında ultrason uygulamışlardır. Araştırmacılar uygulama sonucunda süt proteinlerinin çözünürlüğünün önemli düzeyde arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca, söz konusu uygulamayla tüm örneklerde, süt ve ürünlerindeki diğer bir fonksiyonel özellik olan köpük oluşturma kapasitesinin yükseldiği ortaya konmuştur. Jiang ve ark. [49] tarafından yapılan bir araştırmada da peyniraltı suyu proteini izolatından hazırlanan dispersiyonlara 20 kHz frekansında farklı sürelerde ultrason uygulanmıştır. Çalışmada ultrason uygulanan dispersiyonun köpük oluşturma yeteneğinin, ultrason uygulanmamış dispersiyona göre %63 oranında daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Ultrason uygulaması kazein misellerini parçalamak ve daha küçük parçacıklar içeren süt elde etmek için de kullanılmaktadır. Bu uygulama sütün peynir mayasıyla pıhtılaşma yeteneğini arttırmaktadır [50]. Liu ve ark. [51] pH 6.7'deki rekonstitüye yağsız süte pıhtılaştırma öncesi 20 kHz ve 30°C'de ultrason uyguladıkları çalışmalarında, peynir mayasıyla pıhtılaşma özelliklerinin (pıhtılaşma süresi, pıhtı sıklığı vb.) ultrason uygulanmamış kontrol örneğine kıyasla iyileştiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar pıhtılaşma davranışındaki iyileşmenin süt proteinlerindeki ultrason kaynaklı değişimlerle ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmaya benzer şekilde, Zhao ve ark. [50] pıhtılaştırma öncesinde yağsız keçi sütüne 20 kHz frekansında ultrason uygulamışlar ve ultrason uygulamasının keçi sütünün peynir mayasıyla pıhtılaşma özelliklerini geliştirdiğini belirlemişlerdir.

Yoğurdun fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek amacıyla ultrasonun ısıyla (TS) veya ısı ve basınçla (MTS) bir arada kullanılmasıyla yapılmış çalışmalar da bulunmaktadır. Riener ve ark. [52] tarafından, temin edildiği işletmede pastörizasyon (72°C'de 15 saniye süreyle) ve çift kademeli homojenizasyon (ilk kademede 150 bar, ikinci kademede 50 bar basınçla) işlemlerine tabi tutulmuş sütün kullanıldığı bir araştırma yapılmıştır. Çalışmada 45°C'de ön ısıtma uygulanmış farklı yağ oranlarına (%0.1, 1.5 ve 3.5) sahip sütlere 10 dakika süreyle 24 kHz'lik ultrason frekansı kullanılarak TS uygulamasının, geleneksel yöntemle ısıtılan (90°C'de 10 dakika) süttten elde edilen kontrol yoğurtlarına göre daha üstün reolojik özelliklere sahip yoğurt üretimine olanak sağladığı ortaya konmuştur. Ayrıca TS uygulanmış sütlerden elde edilen yoğurtların daha yüksek su tutma kapasitesi ve daha düşük

sinerezis gösteren daha güçlü jel yapısına sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, yoğurtlarda uygun fonksiyonel özellikler elde etmek amacıyla MTS kullanımı üzerinde yapılan bir çalışmada, süte MTS uygulamasının (12 saniye, 20 kHz ve 40°C), MTS uygulanmamış süttten elde edilen kontrol yoğurtlarına kıyasla üstün reolojik özelliklere sahip yoğurt eldesine imkan verdiği saptanmıştır. MTS uygulanmış süttten elde edilen yoğurtların neredeyse tüm reolojik parametreler açısından daha yüksek değerler göstermesine yol açan daha güçlü yapıya sahip olduğu ortaya konmuş ve MTS'nin yoğurt tekstürünü iyileştirmek için yararlı bir uygulama olabileceği ifade edilmiştir [53].

## SONUÇ

Ultrason uygulaması, geleneksel gıda işleme teknolojilerine göre daha düşük enerji gereksinimi göstermesi, gıdalarda minimum düzeylerde istenmeyen değişimlere yol açması, prosesleri hızlandırması, verimi arttırması, kullanım kolaylığı, insanlar için güvenli olması, çevre dostu olması gibi özellikleri nedeniyle gıda sanayisinde ve bu sanayinin önemli bir dalı olan süt sanayisinde gelecek vadeden bir teknolojidir. Bu teknoloji süt ve ürünlerinde yüksek şiddetli ve düşük şiddetli olmak üzere iki farklı şekilde uygulanabilmekte ve şiddete bağlı olarak ürünlerde birçok farklı etki ortaya koymaktadır. Ultrasonun ısıyla, basınçla ve hem ısı hem de basınçla bir arada kullanıldığı uygulamalar da mevcuttur ve genellikle bu durumda etkisi daha da artmaktadır. Süt işlemede yüksek şiddetli ultrason düşük şiddetli ultrasona göre çok daha fazla alanda (membran temizleme, gaz giderme, homojenizasyon, kristalizasyon, mikrobiyal inaktivasyon, fonksiyonel özelliklerin değiştirilmesi gibi) kullanılmaktadır. Ultrason teknolojisi, geleneksel gıda işleme yöntemleriyle kıyaslandığında birçok avantaja sahip olmasına rağmen büyük ölçekli sanayi prosesleri için geliştirilmeye gereksinim göstermektedir. Bu amaçla, her bir süt ürünüde söz konusu teknolojinin kullanımına ilişkin işlem koşullarının belirlenmesine yönelik olarak daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Ayrıca, süt ve süt ürünleri üretim sektöründe faaliyet gösteren işletmelerin, ultrason teknolojisinin geleneksel teknolojilerle kıyaslandığında sahip olduğu avantajlar hakkında bilinçlendirilmesinin ve sanayi ile işbirliği halinde yürütülecek çalışmaların da bu konuya katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Alzamora, S.M., Guerro, S.N., Lopez-Malo, A. (2000). Ultrasound as a Food Preservation Method. IFT Annual Meeting, USA.
- [2] Manas, P., Pagan, R., Raso, J., Sala, J.F., Condon, S.J. (2000). Inactivation of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* and *Salmonella senftenberg* by ultrasonic waves under pressure. *Journal of Food Protection*, 63, 451-456.
- [3] Firouz, M.S., Farahmandi, A., Hosseinpour, S. (2019). Recent advances in ultrasound application as a novel technique in analysis, processing and quality control of fruits, juices and dairy products



- industries: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 57, 73-88.
- [4] Anonim.(2022). HART Design&Manufacturing Inc., <https://hartdesign.com/products/cutting/ultrasonic-bar-cutting/>, Erişim tarihi [27.10.2022].
- [5] Gallo, M., Ferrara, L., Naviglio, D. (2018). Application of ultrasound in food science and technology: A perspective. *Foods*, 7, 164.
- [6] Ashokkumar, M., Bhaskaracharya, R., Kentish, S., Lee, J., Palmer, M., Zisu, B. (2010). The ultrasonic processing of dairy products-An overview. *Dairy Science and Technology*, 90, 147-168.
- [7] Yu, Z., Su, Y., Zhang, Y., Zhu, P., Mei, Z., Zhou, X., Yu, H. (2021). Potential use of ultrasound to promote fermentation, maturation, and properties of fermented foods: A review. *Food Chemistry*, 357, 129805.
- [8] Bhat, Z.F., Morton, J.D., Bekhit, A.E.D.A., Kumar, S., Bhat, H.F. (2021). Effect of processing technologies on the digestibility of egg proteins. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20, 4703-4738.
- [9] Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., Ashokkumar, M. (2012). Ultrasonics in food processing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19, 975-983.
- [10] Abesinghe, A.M.N.L., Islam, N., Vidanarachchi, J.K., Prakash, S., Silva, K.F.S.T., Karim, M.A. (2019). Effects of ultrasound on the fermentation profile of fermented milk products incorporated with lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 90, 1-14.
- [11] Akdeniz, V., Akalın, A.S. (2019). New approach for yoghurt and ice cream production: High-intensity ultrasound. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 392-398.
- [12] Patist, A., Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 147-154.
- [13] Guimarães, J.T., Silva, E.K., Alvarenga, V.O., Costa, A.L.R., Cunha, R.L., Sant'Ana, A.S., Freitas, M.Q., Meireles, M.A.A., Cruz, A.G. (2018). Physicochemical changes and microbial inactivation after high-intensity ultrasound processing of prebiotic whey beverage applying different ultrasonic power levels. *Ultrasonics Sonochemistry*, 44, 251-260.
- [14] Carrillo-Lopez, L.M., Garcia-Galicia, I.A., Tirado-Gallegos, J.M., Sanchez-Vega, R., Huerta-Jimenez, M., Ashokkumar, M., Alarcon-Rojo, A.D. (2021). Recent advances in the application of ultrasound in dairy products: Effect on functional, physical, chemical, microbiological and sensory properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105467.
- [15] Alventosa-deLara, E., Barredo-Damas, S., Alcaina-Miranda, M.I., Iborra-Clar, M.I. (2014). Study and optimization of the ultrasound-enhanced cleaning of an ultrafiltration ceramic membrane through a combined experimental-statistical approach. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, 1222-1234.
- [16] Muthukumar, S., Yang, K., Seuren, A., Kentish, S., Ashokkumar, M., Stevens, G.W., Grieser, F. (2004). The use of ultrasonic cleaning for ultrafiltration membranes in the dairy industry. *Separation and Purification Technology*, 39, 99-107.
- [17] Kan, C-C., Genuino, D.A.D., Rivera, K.K.P., De Luna, M.D.G. (2016). Ultrasonic cleaning of polytetrafluoroethylene membrane fouled by natural organic matter. *Journal of Membrane Science*, 497, 450-457.
- [18] Luján-Facundo, M.J., Mendoza-Roca, J.A., Cuartas-Urbe, B., Álvarez-Blanco, S. (2016). Cleaning efficiency enhancement by ultrasounds for membranes used in dairy industries. *Ultrasonics Sonochemistry*, 33, 18-25.
- [19] Maskooki, A., Kobayashi, T., Mortazavi, S.A., Maskooki, A. (2008). Effect of low frequencies and mixed wave of ultrasound and EDTA on flux recovery and cleaning of microfiltration membranes. *Separation and Purification Technology*, 59, 67-73.
- [20] Windhab, E.J., Dressler, M., Feigl, K., Fischer, P., Megias-Alguacil, D. (2005). Emulsion processing from single-drop deformation to design of complex processes and products. *Chemical Engineering Science*, 60, 2101-2113.
- [21] Akdeniz, V., Akalın, A.S. (2020). The effect of high power ultrasound on the milk homogenization efficiency and milk fat globule size compared to conventional homogenization. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(1), 252-259.
- [22] Akdeniz, V., Akalın, A.S. (2022). Power ultrasound affect on physicochemical, rheological and sensory characteristics of probiotic yoghurts. *International Dairy Journal*, 105530.
- [23] Paniwnyk, L. (2017). Applications of ultrasound in processing of liquid foods: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 794-806.
- [24] Gregersen, S.B., Frydenberg, R.P., Hammershøj, M., Dalsgaard, T.K., Andersen, U., Wiking, L. (2019). Application of high intensity ultrasound to accelerate crystallization of anhydrous milk fat and rapeseed oil blends. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121, 1800200.
- [25] Martini, S., Suzuki, A.H., Hartel, R.W. (2008). Effect of high intensity ultrasound on crystallization behavior of anhydrous milk fat. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85, 621-628.
- [26] Batghare, A.H., Roy, K., Moholkar, V.S. (2020). Investigations in physical mechanism of ultrasound-assisted antisolvent batch crystallization of lactose monohydrate from aqueous solutions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 67, 105127.
- [27] Sánchez-García, Y.I., García-Vega, K.S., Leal-Ramos, M.Y., Salmeron, I., Gutiérrez-Méndez, N. (2018). Ultrasound-assisted crystallization of lactose in the presence of whey proteins and κ-carrageenan. *Ultrasonics Sonochemistry*, 42, 714-722.
- [28] Villamiel M., Verdurmen R., de Jong P. (2000). Degassing of milk by high-intensity ultrasound. *Milchwissenschaft*, 55, 123-125.
- [29] Riera, E., Gallego-Juarez, J.A., Mason, T.J. (2006). Airborne ultrasound for the precipitation of smokes

- and powders and the destruction of foams. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13, 107-116.
- [30] Bevilacqua, A., Campaniello, D., Speranza, B., Altieri, C., Sinigaglia, M., Corbo, M.R. (2019). Two nonthermal technologies for food safety and quality-Ultrasound and high pressure homogenization: Effects on microorganisms, advances, and possibilities: A review. *Journal of Food Protection*, 82(12), 2049–2064.
- [31] Akdeniz, V., Akalın, A.S. (2022). Recent advances in dual effect of power ultrasound to microorganisms in dairy industry: activation or inactivation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(4), 889-904.
- [32] Lopez-Gomez, A., Fernandez, P.S., Palop, A., Periago, P.M., Martinez-Lopez, A., Marin-Iniesta, F., Barbosa-Canovas, G.V. (2009). Food safety engineering: An emergent perspective. *Food Engineering Reviews*, 1, 84-104.
- [33] Villamiel, M., de Jong, P. (2000). Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* and *Streptococcus thermophilus* in Trypticase soy broth and total bacteria in milk by continuous-flow ultrasonic treatment and conventional heating. *Journal of Food Engineering*, 45, 171-179.
- [34] Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D-U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 261-266.
- [35] Czank, C., Simmer, K., Hartmann, P. E. (2010). Simultaneous pasteurization and homogenization of human milk by combining heat and ultrasound: effect on milk quality. *Journal of Dairy Research*, 77, 183-189.
- [36] Lee, H., Zhou, B., Liang, W., Feng, H., Martin, S.E. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* cells with sonication, manosonication, thermosonication, and manothermosonication: microbial responses and kinetics modeling. *Journal of Food Engineering*, 93, 354-364.
- [37] Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., Ashokkumar, M. (2012). Ultrasonics in food processing-Food quality assurance and food safety. *Trends in Food Science and Technology*, 26, 88-98.
- [38] Riener, J., Noci, F., Cronin, D.A., Morgan, D.J., Lyng, J.G. (2009). Characterisation of volatile compounds generated in milk by high intensity ultrasound. *International Dairy Journal*, 19, 269-272.
- [39] Huang, G., Chen, S., Dai, C., Sun, L., Sun, W., Tang, Y., Xiong, F., He, R., Ma, H. (2017). Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 144-149.
- [40] Corredig, M., Alexander, M., Dalgleish, D.G. (2004). The application of ultrasonic spectroscopy to the study of the gelation of milk components. *Food Research International*, 37, 557-565.
- [41] Wang, Q., Bulca, S., Kulozik, U. (2007). A comparison of low-intensity ultrasound and oscillating rheology to assess the renneting properties of casein solutions after UHT heat pre-treatment. *International Dairy Journal*, 17, 50-58.
- [42] Ertugay, M.F., Şengül, M., Şengül, M. (2004). Effect of ultrasound treatment on milk homogenisation and particle size distribution of fat. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28, 303-308.
- [43] O'Sullivan, J.J., Norwood, E-A, O'Mahony, J.A., Kelly, A.L. (2019). Atomisation technologies used in spray drying in the dairy industry: A review. *Journal of Food Engineering*, 243, 57-69.
- [44] Ashokkumar, M., Lee, J., Zisu, B., Bhaskarcharya, R., Palmer, M., Kentish, S. (2009). Sonication increases the heat stability of whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 92, 5353-5356.
- [45] Deshpande, V.K., Walsh, M.K. (2018). Effect of sonication on the viscosity of reconstituted skim milk powder and milk protein concentrate as influenced by solids concentration, temperature and sonication. *International Dairy Journal*, 78, 122-129.
- [46] Zisu, B., Schleyer, M., Chandrapala, J. (2013). Application of ultrasound to reduce viscosity and control the rate of age thickening of concentrated skim milk. *International Dairy Journal*, 31(1), 41-43.
- [47] Yanjun, S., Jianhang, C., Shuwen, Z., Hongjuan, L., Jing, L., Lu, L., Uluko, H., Yanling, S., Wenming, C., Wupen, G., Jiaping, L. (2014). Effect of power ultrasound pre-treatment on the physical and functional properties of reconstituted milk protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 124, 11-18.
- [48] Zhao, X., Fan, X., Shao, X., Cheng, M., Wang, C., Jiang, H., Zhang, X., Yuan, C. (2022). Modifying the physicochemical properties, solubility and foaming capacity of milk proteins by ultrasound-assisted alkaline pH-shifting treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 88, 106089.
- [49] Jiang, Z., Wang, C., Li, T., Sun, D., Gao, H., Gao, Z., Mu, Z. (2019). Effect of ultrasound on the structure and functional properties of transglutaminase-crosslinked whey protein isolate exposed to prior heat treatment. *International Dairy Journal*, 88, 79-88.
- [50] Zhao, L., Zhang, S., Uluko, H., Liu, L., Lu, J., Xue, H., Kong, F., Lv, J. (2014). Effect of ultrasound pretreatment on rennet-induced coagulation properties of goat's milk. *Food Chemistry*, 165, 167-174.
- [51] Liu, Z., Juliano, P., Williams, R.P.W., Niere, J., Augustin, M.A. (2014). Ultrasound improves the renneting properties of milk. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, 2131-2137.
- [52] Riener, J., Noci, F., Cronin, D.A., Morgan, D.J., Lyng, J.G. (2010). A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. *Food Chemistry*, 119(3), 1108-1113.
- [53] Vercet, A., Oria, R., Marquina, P., Crelier, S., Lopez-Buesa, P. (2002). Rheological properties of yoghurt made with milk submitted to manothermosonication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6165-6171.

## Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

**Akademik Gıda** dergisi gıda bilimi ve teknolojisi alanında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayınlandığı **hakemli** bir dergidir. Araştırma notu, mini derleme, görüş ve editöre mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanır. Dergide Türkçe ve İngilizce makaleler yayınlanır.

Akademik Gıda dergisinde yayınlanması istenen çalışmalar derginin [www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com) web sayfasında bulunan elektronik makale gönderim sistemi üzerinden gönderilmelidir. E-posta ile gönderilen makaleler değerlendirilmeyecektir. Elektronik makale gönderim sistemi ile ilgili sorularınız için [ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com) e-posta adresinden editörlere irtibata geçebilirsiniz.

- Gönderilecek çalışmanın dergide hangi tür makale olarak (Araştırma Makalesi, Derleme Makale, Araştırma Notu, Mini Derleme, Görüş ve Editöre Mektup) yayınlanması istendiği yazar(lar) tarafından mutlaka belirtilmelidir.
- Yazar(lar) tarafından çalışmayı değerlendirebileceği düşünülen ve yazar(lar)la çıkar çatışması/çakışması olmayan en az 3 potansiyel hakem iletişim bilgileri de (yazışma adresi, e-posta ve telefon numarası) verilerek önerilmelidir. Önerilecek hakemler yazarın kendi kurumu dışından olmalıdır.
- Gönderilecek çalışmalar yazım ve imla hataları içermemelidir. İngilizceden Türkçeye tercüme edilen teknik terimler "Gıda Mühendisliği Teknik Terimler Rehberi"nde [Gıda Mühendisleri Odası, Kitaplar Serisi No: 17, Filiz Matbaacılık, Ankara, 232s, ISBN: 978-9944-89-407-4] tavsiye edilen şekliyle kullanılmalıdır.
- Gönderilen çalışmaların daha önce hiç bir yerde yayınlanmadığı yazar(lar) tarafından garanti edilmelidir.
- Yayın Kurulu yayına kabul edilmiş çalışmalarda gerekli değişiklikleri yapmaya yetkilidir.

### Makalelerin Değerlendirilmesi

Yayımlanmak üzere Akademik Gıda dergisine gönderilen çalışmalar öncelikle Editörlerin ön incelemesinden geçmektedir. İlk incelemeyi geçen çalışmalar, değerlendirilmek üzere en az iki bağımsız hakeme gönderilmektedir. Çalışmaların değerlendirilmesinde hakemlerin makale yazar(lar)ını, makale yazar(lar)ının hakemleri görmediği çift-kör (double-blind) değerlendirme sistemi kullanılmaktadır. Editörler (i) dergi kapsamı dışında olan, (ii) teknik açıdan yetersiz, (iii) kendi içerisinde bütünlük ve

tutarlılık arz etmeyen sonuçlar içeren veya (iv) kötü yazılmış çalışmaları doğrudan reddetme hakkına sahiptir.

### Yazım Ücreti

Akademik Gıda dergisinde makale yayınlanması için herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

### Etik Beyanı

Dergi yayın politikası, makalelerin değerlendirilmesi ve etik hususlar ile ilgili detaylı bilgilere Etik Beyanı kısmından ulaşılabilir.

### Çalışmaların Hazırlanması

1. Çalışmalar A4 boyutunda hazırlanmalı, üstten 2.45 cm, alttan 2.45 cm, sağ ve soldan 1.75 cm boşluk bırakılmalı ve tek kolon olarak hazırlanmalıdır. Metin çift satır aralıklı yazılmalı, paragraflar arasında tek satır boşluk bırakılmalıdır. Metinde bütün satırlar (sürekli) numaralandırılmalıdır.

2. Çalışma başlığı 14 punto Arial, koyu, küçük harflerle ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılmalı (11 punto); yazar isimleri (yalnızca ilk harfler büyük) 10 punto Arial ve ortalanmış olarak verilmelidir. Yazarların adresleri, telefon ve faks bilgileri ile yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi hemen alt satırda 9 punto Arial, ilk harfler büyük olacak şekilde ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Yazarların çalıştıkları kuruluşlar (ve/veya adresler) farklı ise her bir yazar isminin sonuna rakamlarla üst indis konulmalıdır.

3. Metin içindeki kısımların başlıkları (ÖZ, ABSTRACT, GİRİŞ vb.) 10 punto Arial ve koyu olarak büyük harflerle yazılmalı, başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılarak metine geçilmelidir. Alt başlıklarda ilk harfler büyük, 10 punto Arial ve koyu yazı karakteri kullanılmalıdır. ÖZ'ün altına bir satır boşluk bırakıldıktan sonra en fazla 5 adet Anahtar Kelime konmalıdır. Anahtar Kelimelerden sonra bir satır boşluk bırakılarak İngilizce başlık ve altına ABSTRACT ve Keywords yazılmalıdır. Bir satır boşluk bırakılarak ana metine geçilmelidir.

4. Ana metin 9.5 punto Arial olarak hazırlanmalıdır.

5. Çalışma başlıca şu kısımlardan oluşmalıdır: Başlık, Yazar İsimleri, Adresleri, İletişim Bilgileri, Yazışmalardan Sorumlu Yazarın E-posta adresi, Öz,

Abstract, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular ve Tartışma, Sonuç), Teşekkür (gerekliyse), Kısaltmalar (gerekliyse), Kaynaklar.

6. Öz ve Abstract 250 kelimeyi geçmemeli, çalışmanın amacını, metodunu ve önemli sonuçlarını içermelidir. Öz tek paragraf olarak yazılmalı ve öz içinde kaynaklara atıf yapılmamalıdır.

7. Çalışma içerisinde geçen mikroorganizma isimleri ile Latince ifade ve isimler italik olarak yazılmalı ve kısaltmalarda uluslararası yazım kuralları göz önünde bulundurulmalıdır.

8. Tablo başlıkları tablonun üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve numaralandırılmalıdır. Kullanılan tablo ve şekillere metin içinde mutlaka atıf yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler tablo ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Tablo ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin yüksek çözünürlükte olmasına dikkat edilmelidir. Resimler (ve gerekiyorsa Şekiller) \*.jpg formatında metin içerisinde yer almalıdır.

9. Metin içerisinde atıflar köşeli parantez içerisinde rakamlarla yapılmalı [1] ve Kaynaklar bölümünde bu numara sırasıyla detayları yazılmalıdır. Kaynakların numaralandırılması MS Word Numaralandırma Kitaplığı kullanılarak yapılmalıdır.

10. Kullanılan matematiksel denklemler numaralandırılmalı ve metin içerisinde bu denklemlere atıf yapılmalıdır.

11. Kaynaklar kısmı APA yazım stili kullanılarak hazırlanmalıdır. Kaynakların yazımında aşağıdaki örnek yazım biçimleri kullanılmalı ve makalelerin yayınlandığı dergi isimleri kısaltma kullanılmadan ve italik olarak yazılmalıdır. Web adreslerine atıf yapılacağına (mümkün olduğunca Resmi web sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

## Makale

- [1] Bozkurt, H., İçier, F. (2009). İnegöl köfte üretiminde ohmik pişirmenin uygulanabilirliğinin incelenmesi. *Akademik Gıda*, 9(1), 6-12.

## Kitap

- [2] Kılıç, S. (2001). Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.

## Kitap Bölümü

- [3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, England, 212p.

## Kongre-Sempozyum Bildirisi

- [4] Gürsoy, O., Akdemir, O., Hepbaşlı, A., Kınık, Ö. (2004). Recent situation of energy consumption in Turkey dairy industry. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. Hakem görüşleri doğrultusunda düzeltilmek üzere yazar(lar)a gönderilen çalışmaların gerekli düzeltmeleri yapılarak yayın ofisine ulaştırılması gereklidir. Editörler tarafından belirtilen süre zarfında gönderilmeyen çalışmalar "ilk defa gönderilmiş çalışma" olarak değerlendirilecektir.

13. Yukarıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmamış çalışmalar değerlendirmeye alınmaz.

## Guidelines to Authors

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) is a peer reviewed journal where original research and review articles are published in the field of food science and technology. Research notes, mini-reviews, opinions and letters to the editor are also considered for publication. The journal is published trimonthly and each volume is composed of 4 issues per year. Journal articles are published either in Turkish or English. Manuscripts in either good American or British English usage are accepted, but not a mixture of these.

Manuscripts for the Akademik Gıda® (Academic Food Journal) must be sent via the electronic article submission system, which can be located in the official website of the journal, [www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com). Manuscripts sent by e-mail are not considered for evaluation. For questions related to the electronic article submission system, contact the editor via e-mail at [ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com).

- Authors must specify the type of the manuscript (research articles, review articles, research briefs, mini-review articles, comments and letters to the editor).
- Authors should provide at least 3 potential referees and their contact information (mailing address, e-mail address and phone number).
- Manuscripts to be submitted should be free from any spelling or grammatical error.
- Authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.
- The editorial board is authorized to make necessary changes in manuscripts accepted for publication.

### Peer review policy

Manuscripts pass through initial screening in the editorial office followed by internal review by Editors. After the first evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication. The Editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.

### Publication fee

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) welcomes article submissions and does not charge a publication fee.

### Ethics Statement

Detailed information about journal publication policy, evaluation of manuscripts and ethical issues can be found in the Ethics Statement section.

### Preparation of a manuscript

1. Manuscripts should be prepared in A4 size, and the text must be prepared in a single column format. The text must be double-spaced, and a single space should be left between paragraphs. All lines and pages must be continuously numbered.

2. The title must be 14pt Arial, bold, small letters and centered. A blank line should be left after the title, and the names of authors should be given in 10pt Arial and centered. In addition to each author's contact address, the phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be provided. If the institutions of the authors are different, superscript numbers should be used to indicate their addresses.

3. The headings (e.g. Abstract, Introduction, Materials and Methods etc.) must be 10pt Arial, and should be typed in bold capital letters. Each heading should appear on its own separate line. A blank line should be left after each heading. A list of keywords, a maximum of 5, should be provided below the abstract section of the manuscript.

4. The main text should be prepared in 9.5pt Arial.

5. Typical articles mainly consist of the following divisions: Title, Author Names, Addresses, Contact Information, Corresponding author's e-mail address, Abstract, Main text (Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions), Acknowledgements (if necessary), Abbreviations (if necessary) and References.

6. The abstract should not exceed 250 words, and the main purpose and method and the most significant result and conclusion should be presented in the abstract. The abstract should be prepared as a single paragraph, and should not include any citation.

7. Latin names in the text should be in italics, and names and abbreviations should follow international rules. If abbreviations that are not standard are unavoidable, they must be defined at their first mention in the text. Consistency of abbreviations throughout the article must be ensured. Internationally accepted rules and conventions must be followed, and the international

system of units (SI) must be used. If other units are mentioned, their equivalents in SI must be provided.

**8.** Table headings should be on the top of each table and figure captions below each figure. Each table or figure must be numbered consecutively in accordance with their appearance in the text. All figures and tables should be cited in the text. The data presented in the tables and figures should not be repeated in the text. Table headings and figure captions should be self-explanatory. Figures and pictures must be provided in high resolution, and pictures (and, if necessary figures) should be included in the text as \*.jpg format.

**9.** References in the text should be cited in numbers in square brackets [1] and details of the citations must be provided in the Literature or References section with their respective numbers.

**10.** Mathematical equations should be numbered and cited in the text.

**11.** References should be given according to the APA manual of style. The following formats should be used for the details of cited references, and the journal names must be typed in italics. References to the Web addresses (if necessary, the official web pages should be preferred) must include full web address and the date of access.

#### **Article**

[1] Güzeler, N., Kaçar, A., Say, D. (2011). Effect of milk powder, maltodextrin and polydextrose use on

physical and sensory properties of low calorie ice cream during storage. *Akademik Gıda*, 9(2), 6-12.

#### **Book**

[2] Kilic, S. (2001). Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry. Ege University Faculty of Agriculture Publications, Ege University Press, Bornova, Izmir, Turkey.

#### **Book Chapter**

[3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London, England, 212p.

#### **Proceedings of the Congress-Symposium**

[4] Gursoy, O., Akdemir, O., Hepbasli, A., Kinik, O. (2004). Recent situation of energy consumption in dairy industry in Turkey. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

**12.** A list of the corrections requested by the referees must be provided by the authors, and it must be sent to the editorial office.

**13.** Studies that are not prepared in accordance with the rules above will not be considered for evaluation.

## Etik Beyanı

Akademik GIDA®, gıda bilimi ve teknolojisi alanında orijinal araştırma ve derleme makalelerinin yayınlandığı hakemli bir dergidir. Dergi üç ayda bir Sidas Medya Ltd. Şti. (Çankaya, İzmir, Türkiye) tarafından yayınlanmaktadır. Derginin genel bilimsel kalitesini iyileştirmek için yayıncı tarafından aşağıdaki yönergeler belirlenmiştir.

### Yayın Politikası

Akademik Gıda dergisine gönderilen tüm makaleler Dergi Editörleri için Davranış Kuralları ve En İyi Uygulama Kılavuzları ve Dergi Yayıncıları için Davranış Kurallarında ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) belirtilen Genel Kılavuzlara uygun olarak değerlendirilmektedir. Bilimsel yazılar dergiye gönderilmeden önce derginin Yazım Kurallarının okunmasını önemle tavsiye ederiz. Yazarlar aynı zamanda Avrupa Bilim Editörleri Birliği'nin (EASE) ([European Association of Science Editors](#)) İngilizce olarak basılacak makaleler için "Bilimsel Makalelerin Yazarları ve Çevirmenleri İçin Rehber"e uymalıdır. Yazarlar, insan veya hayvan verilerini içeren araştırmaları için Uluslararası Tıp Dergisi Editörleri Komitesinin ([International Committee of Medical Journal Editors](#)) önerilerini takip etmelidir.

### Makalelerin Değerlendirilmesi

Dergiye gönderilen tüm makaleler, bilimsel içeriklerinin özgünlüğü ve kalitesi ölçütlerine göre değerlendirilir.

- Dergiye gönderilen tüm yazılar, ilk olarak yayın ofisindeki (teknik ve genel kalite değerlendirilmesi açısından) eleme işleminden geçer ve ardından teknik ve bilimsel editörler tarafından değerlendirilir.
- İlk değerlendirmeden sonra, editörler (i) dergi kapsamı dışında kalan bir konu hakkında hazırlanmış makaleleri (ii) teknik olarak eksik/yetersiz makaleleri, (iii) kısmi ve marjinal artan sonuçları içeren makaleleri veya (iv) kötü yazılmış makaleleri reddetme hakkına sahiptir.
- İlk inceleme sonucunda makalenin ileri değerlendirme için uygun olduğuna karar verilirse, dergide yayımlanmak üzere kaliteli makalelerin seçimini yapmak amacıyla, makaleler çift-körlü (hakemin ve yazar/yazarların birbirlerini görmedikleri) değerlendirme sistemi ile en az iki bağımsız hakemden oluşan bir değerlendirme sürecinde bilimsel incelemeye alınır.
- Hakemler tarafından talep edilirse, makalenin hakem görüşleri doğrultusunda yazarlar tarafından revize edilmiş versiyonu orijinal hakemler tarafından tekrar değerlendirilir. Değerlendirmelerin ardından

editörler hakem önerileri doğrultusunda makale hakkındaki nihai kararlarını verirler. Gerekirse editörler, hakemlerin istedikleri tüm şartların yerine getirilmesi için yazarlardan ilave revizyon isteyebilir.

- Kabul edilen makalelerin son versiyonu, yayın öncesi taslağın (galley proof) hazırlanması için teknik editörlere gönderilir. Yazarlardan, makalelerinin dizgisi hazırlanmış taslaklarını son kontrol için yayın öncesinde incelemeleri istenir.
- Tüm makaleler, nihai formlarında DOI numarası alması ve çevrimiçi olarak pdf dosyaları halinde yayımlanır. İlgili veritabanlarında bu şekilde indekslenir.

### Yayın Ücreti

Akademik Gıda dergisinde makalelerin yayınlanması için herhangi bir yayın ücreti talep edilmemektedir.

### Gizlilik

Editörler, Akademik Gıda'ya gönderilen tüm makaleleri tam bir gizlilikle ele alır. Editörler, hakemler haricinde, COPE tavsiyelerine uyulmadığı takdirde, üçüncü şahıslara makale ile ilgili hiçbir bilgi vermezler. Yayımlanmak üzere dergiye gönderilen makaleler hakemler için de gizlidir ve bilimsel değerlendirme için aldıkları makalelerin herhangi bir bölümünü üçüncü şahıslarla paylaşmalarına veya dağıtmalarına izin verilmez. Suiistimal şüphesi olduğunda, hakemlerin derhal gizli bir şekilde yayın ofisine başvurmaları önerilir. Hakemler ayrıca, Dergi Editörleri için Davranış Kuralları ve En İyi Uygulama Kuralları ile Dergi Yayıncıları için Davranış Kuralları'nı ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) takip ederek editöre gizli yorumlarında belirli bir eylem önerebilirler.

Akademik Gıda, çift-kör bir hakem inceleme süreci yürütür, yani çalışmanın eleştirel değerlendirmesini sağlamak için hakemlerin isimleri gizlidir. Hakemlerden, raporlarında adlarını veya irtibat bilgilerini açıklamamaları istenir. Hakem raporları yazarlara gönderilemeden önce bu açıdan kontrol edilir.

### Yazarlık

Bir yazar, bir araştırmanın fikrine veya tasarımına, verilerin elde edilmesine, verilerin analizine veya yorumlanmasına büyük ölçüde katkıda bulunan, makalenin hazırlanmasında, yazılmasında veya gözden geçirilmesinde entelektüel içeriğe eleştirel katkı yapan bireydir. Katkıda bulunanlar diğer kişiler makalenin Teşekkür bölümünde belirtilmelidir ve çalışmanın yazarı olarak kabul edilemez. Tüm yazarların doğru ve tam isimleri ile ORCID kimlikleri dergiye gönderilen

makalenin başlık sayfasında yer almalıdır. Yazarların isimlerinin yanında çalıştıkları kurumlar ve yazışmalardan sorumlu yazarın geçerli bir adresi verilmelidir. Yazışmalardan sorumlu yazarın telefon ve faks numaraları ile e-posta adresi makalenin ilk sayfasında belirtilmelidir. Tüm yazarlar, gönderilen makalenin daha önce herhangi bir yerde yayınlanmadığını ve makale hakkında Akademik Gıda dergisi nihai bir karar vermeden önce makaleyi başka bir dergiye göndermeyeceklerini garanti etmelidir.

### Destekleyen/Finans Sağlayan Kuruluşlar

Araştırmanın tüm finans kaynaklarına ilişkin detaylar, Teşekkür bölümünde belirtilmelidir. Yazarlar, resmi finansman kurum/larının tam isimlerini ve proje/hibe numaralarını belirtmelidir.

### Yazarlarda Değişiklik

Makalenin Akademik Gıda'ya sunulmasından sonra yazar isimlerinde değişiklik ancak revizyon sırasında gerekli olan ek çalışmalar durumunda olabilir. Makalenin yayına kabul edilmesinden sonra herhangi bir değişikliğe izin verilmez. Yazarlıktaki değişiklik, hakem görüşlerine verilen cevaplar sırasında yazışmalarda belirtilmeli ve tüm yazarlar tarafından kabul edilmelidir. Yazışmalardan sorumlu yazar, yazarların sırası da dahil olmak üzere makalenin revize edilmiş versiyonundaki değişikliklerden sorumludur.

### Çalışma Verilerinde Düzeltme

Yayınlanan verilerin doğruluğundan tüm yazarlar sorumlu olmalıdır. Verilerin düzeltilmesi için, yazışmalardan sorumlu yazardan yayın öncesi taslağı (galley proof) incelemesi ve makalenin yayınlanmasından 4 gün önce dikkatlice düzeltilmesi istenir.

### Makalenin Geri Çekilmesi

Bir makalenin geri çekilmesi, gönderim veya yayın hatalarını düzeltmek için kullanılır. Yazarlar makaleyi geri çekebilir ve bu durumda Yayın Etiği Komitesi (COPE) Geri Çekme Kurallarına [(COPE) retraction guidelines] uymalıdır. Tekrarlanan veya benzerlik oranı yüksek bir yayın, verilerin hileli kullanımı, intihal veya etik dışı araştırma yapılması durumunda, makale editör tarafından geri çekilecek ve geri çekilen makale linklerine bağlantı korunacak ancak elektronik veri tabanına (makale sayfasına) bir geri çekme bildirimi eklenecektir.

### Etik Hususlar

#### Çıkar çatışması:

- Yazar/lar başvuru sırasında herhangi bir çıkar çatışması varsa beyan etmelidir. Yazar/ların başvuru sırasında bilimsel değerlendirme için en az üç potansiyel hakem önermeleri istenir. Önerilen hakemler çalışma arkadaşları, ortak çalıştıkları kişiler veya çalıştıkları kurumların üyeleri olamazlar.
- Hakemler makaleyi değerlendirmelerini önleyen herhangi bir çıkar çatışması olması durumunda

Editörleri bilgilendirmesi ve bu konuda COPE kurallarına uyması tavsiye edilmektedir.

- Editörler Kurulu üyeleri veya kurul üyelerinin ortak çalıştıkları kişiler tarafından dergiye gönderilen makaleler için, değerlendirme sırasındaki önyargıları en aza indirmek amacıyla, değerlendirme süreci ilgili kurul üyelerini dışarıda tutacak şekilde değiştirilerek uygulanır.
- Düzeltmeler (revizyonlar) sırasında, editörler Dergi Editörleri İçin Davranış Kuralları ile En İyi Uygulama Kılavuzu ve Dergi Yayıncıları İçin Davranış Kurallarını (Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers) takip ederler.

### İnsan denekleri, hayvan veya bitki içeren araştırmalar

- Araştırmanın insan denekleri veya hayvanları içermesi durumunda, yazarların Uluslararası Tıp Dergisi Editörleri Komitesinin (the International Committee of Medical Journal Editors) yönergelerini izlemeleri önerilir.
- İnsan denekleri içeren çalışmalarda, deneklerin çalışmaya katılmak için imzaladıkları onamlar yazarlar tarafından sağlanmalıdır. 18 yaşın altındaki deneklerin çalışmaya katılmaları için ebeveyn veya velileri tarafından izin verilmelidir.
- Test edilen tüm denekler için, makalenin, ilgili kurallara ve/veya uygun izinlere veya lisanslara uyumunu gösteren belgelerin sunulması gerekir.
- Hayvanlar üzerinde yapılacak her türlü araştırma kurumsal, ulusal veya uluslararası kurallara uygun olmalı ve etik kurul tarafından onaylanmalıdır.
- Bitki materyallerinin toplanması dahil, bitkiler üzerinde yapılan deneysel araştırmalar, kurumsal, ulusal veya uluslararası kurallara uygun olmalıdır.
- Saha çalışmalarını yerel mevzuata uygun olarak yapılmalı ve uygun izinleri ve/veya lisansları belirten bir açıklama makalede yer almalıdır.

### Yayın suistimali

- Akademik Gıda dergisi, Dergi Editörleri İçin Davranış Kuralları ile En İyi Uygulama Kılavuzları ve Dergi Yayıncıları İçin Davranış Kurallarını (Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers) takip eder.
- Makalenin aynı anda birden fazla dergiye gönderilmesi, intihal, yayınlanmış makalenin yeniden yayınlanması, etik kuralların ihlali vb. şüpheli bir suistimal durumunda, araştırmacılar, hakemler veya okuyucular Yayın Ofisi (ogursoy@yahoo.com) ile iletişime geçmeye teşvik edilir.
- Makaledeki benzerlik oranı tek bir kaynaktan %10'dan fazla olmamak üzere en fazla %25 ile sınırlandırılmıştır. Bu koşula uymayan makaleler reddedilir. Bu şartların ihlal edilmesi durumunda, COPE (COPE recommendations) tavsiyeleri izlenecek ve ilgili tüm taraflara bildirilecektir.



## Telif Hakkı

Akademik Gıda, yayınlanan bütün makalelere orijinal eserin uygun şekilde belirtilmesi ve ticari amaçlarla kullanılmaması şartıyla, herhangi bir ortamda kullanılmasına, dağıtılmasına ve çoğaltılmasına izin veren "Creative Commons Attribution 4.0 CC BY-NC" lisansını ([Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 CC BY-NC](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)) tüm yayınlanmış makalelere uygular. Yayınlanmadan önce, Telif Hakkı Devir Formu yazışmalardan sorumlu yazar tarafından imzalanmalı ve derginin yayın ofisine gönderilmelidir. Yayınlanan yazıların telif hakkı Sidas Medya Limited Şirketi'ne (Çankaya, İzmir) aittir. Yazarlar, yayınladıkları makaleleri serbestçe ve ticari olmayan amaçlarla, bütünlüğü korunduğu ve yazarları, alıntı detaylarını ve yayıncıları açıkça belirtildiği sürece kullanma hakkına

sahiptir. Bireysel kullanıcılar, yazarların fikri ve ahlaki haklarının, saygınlığının ve bütünlüğünün tehlikeye atılmaması şartıyla, Akademik Gıda'da yayınlanan yazılara erişebilir, indirebilir, kopyalayabilir, görüntüleyebilir ve uyarlayabilir. Kullanıcılar herhangi bir yeniden kullanım, sahiplerin telif hakkı politikalarına uygun olmasını sağlamalıdır. Yayınlanan yazıların içeriği, ticari olmayan araştırma ve eğitim amaçlı kopyalanır, indirilir veya başka bir şekilde yeniden kullanılırsa, uygun şekilde bir atıf yapılmalı ve ilgili makaleye bir link [yazarlar, dergi unvanı, el yazması adı, cilt, yıl ve sayfa numaraları ve yayınlanan link] Derginin web sitesinde sürüm] sağlanmalıdır. Telif hakkı bildirimleri ve feragatnameler silinmemelidir.

## Ethics and Publication Malpractice Statement

Akademik GIDA® is a peer-reviewed journal where original research and review articles are published quarterly by Sidas Media Agency Advertisement Consultation Ltd. (Cankaya, Izmir, Turkey) in the field of food science and technology. In order to improve the overall scientific quality of the journal, following guidelines have been established by the publisher.

### Editorial Policy

General Guidelines stated in the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#) are followed by all papers submitted to Academic GIDA. Prior to submission, authors are highly recommended to read the [Journal's Instructions to Authors](#). Authors should also follow the [European Association of Science Editors \(EASE\) Guidelines for Authors and Translators of Scientific Articles to be Published in English](#). For any research involving human or animal data, the recommendations of the [International Committee of Medical Journal Editors](#) should be followed by the authors of the manuscripts.

### Peer Review

All contributions are evaluated according to the criteria of originality and quality of their scientific content.

- All manuscripts pass through an initial screening process (technical and overall quality evaluation) in the editorial office followed by an internal review by the technical and scientific editors.
- After the first evaluation, editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.
- If the manuscript is considered suitable for further evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication.
- If requested, the revised version is evaluated by the reviewers, and editors make a decision about final acceptance based on their suggestions. If necessary, further revision can be asked for to fulfil all the requirements of the reviewers.
- The final version is then sent to the technical editor in order to produce a galley proof, and the authors receive this proof for final check before publishing.
- All manuscripts are posted online as pdf files in their final form, indexed in databases with the assigned DOI numbers.

### Publication Fee

Akademik GIDA welcomes article submissions and does not charge any publication fee.

### Confidentiality

Editors handle all papers submitted to Akademik GIDA in strict confidence. With the exception of reviewers, they do not disclose any information regarding submissions to third parties, unless in case of a suspected misconduct, where COPE recommendations are followed. Submissions are also confidential for reviewers and they are not allowed to share or distribute any part of the manuscripts which they receive for evaluation to third parties. For a case of suspected misconduct, reviewers are encouraged to contact the editorial office immediately in a confidential manner. Reviewers can also recommend a particular course of action in their confidential comments to the editor, following [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).

Akademik GIDA conducts a double-blind peer review process, i.e. the names of the reviewers are confidential to ensure the critical evaluation of the work. Reviewers are asked not to disclose their names or contact details in their comments for authors.

### Authorship

An author is an individual who substantially contributed to the idea or design of a research, acquisition of data, analysis or interpretation of data, was involved in drafting, writing or revising the manuscript critically for important intellectual content. Other contributors should be mentioned in the Acknowledgements section of the manuscript and cannot be considered as authors of the study. Correct and full names of all authors and their [ORCID](#) IDs should be on the title page of the manuscript. Names of authors must be supplemented with their affiliations and a valid address of the corresponding author. The phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be stated in the first page of the manuscript. All authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.

### Funding Sources

Details for all funding sources of the research should be stated in the Acknowledgements. Authors should provide

the full official funding agency name(s) and grant number(s).

### **Alteration in Authorship**

Alteration in authorship after the submission of the manuscript to Akademik GIDA can be justified only by the additional work required during the revision. Any change is not allowed after the acceptance of the manuscript for publication. Alteration in authorship should be indicated in the responses to reviewers, and should be accepted by all authors. The corresponding author is primarily responsible for any alteration in the revised version of the manuscript, including the order of authors.

### **Correction of Data**

All authors should be responsible for the accuracy of the published data. For the correction of data, the corresponding author receives the galley proof of the paper and is asked to correct it carefully within 4 days before publication.

### **Retraction of an Article**

A retraction of an article is used to correct errors in submission or publication. Authors can retract the paper and should follow the Committee on Publication Ethics (COPE) [retraction guidelines](#). In case of a duplicate or overlapping publication, fraudulent use of data, plagiarism or unethical research, the paper will be retracted by the editor, and a retraction notice will be included into the electronic database while all links to the retracted article will be maintained.

### **Ethical Considerations**

#### ***Conflict of interest:***

- Authors should declare any conflict of interest in their submission form. Authors are requested to suggest at least three potential reviewers before submission, and these reviewers cannot be their colleagues, collaborators or members of their institutions.
- Reviewers should notify the editors on any conflict of interest which prevents them from reviewing the paper, and they are recommended to follow the [COPE guidelines](#).
- For the manuscripts submitted by the members of the Editorial Board or their collaborators, peer reviewing is modified to exclude them from the entire evaluation process in order to minimize any bias during the evaluation.
- During revision, the editors follow the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).

#### ***Research involving human subjects, animals or plants:***

- If the research involves humans or animals, the authors are recommended to follow the guidelines of the [International Committee of Medical Journal Editors](#).

- In studies involving human subjects, their informed consent to participate in the study should be supplied by the authors. For subjects under the age of 18, their parents or guardians should give the permission for their participation in the study. For all tested subjects, the manuscript must accompany with a statement detailing compliance with relevant guidelines and/or appropriate permissions or licenses.
- Any research on animals must comply with institutional, national or international guidelines and, where possible, should be approved by an ethics committee.
- Any experimental research on plants, including collection of plant materials, must comply with institutional, national, or international guidelines.
- Field studies should be conducted in compliance with local legislation, and a statement specifying the appropriate permissions and/or licences should be included in the manuscript.

#### ***Publication misconduct:***

- The Journal follows the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).
- In a case of a suspected misconduct such as redundant or duplicate submission, plagiarism, text recycling, violation of ethical norms, etc., researchers, reviewers or readers are encouraged to contact the Editorial Office ([ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com)).
- The overlapping in the manuscript is highly restricted to the maximum of 25% with no more than 10% from a single source; otherwise, the manuscript will be rejected. If these terms are violated, COPE recommendations will be followed and all parties involved will be notified.

### **Copyright**

Akademik GIDA applies the [Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 CC BY-NC license](#) to all published papers, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes. Before publication, the [Copyright Transfer Form](#) must be signed by the corresponding author and returned to the editorial office of the journal. Copyright of published papers is retained by the Sidas Media Agency Advertisement Consultation Ltd. (Cankaya, Izmir, Turkey). Authors have the right to use their published article freely and in noncommercial purposes, as long as its integrity is maintained and its original authors, citation details and publisher are clearly stated. Individual users may access, download, copy, display, and adapt the manuscripts published in Akademik GIDA, provided that the authors' intellectual and moral rights, reputation and integrity are not compromised. Users must ensure that any reuse complies with the copyright policies of the owners. If the content of the published manuscripts is copied, downloaded or otherwise reused for noncommercial research and educational purposes, a link to the appropriate bibliographic citation (authors, journal title, manuscript title, volume, year and page

numbers, and the link to the published version on the [Journal's website](#) should be provided. Copyright notices and disclaimers must not be deleted.

---

Fevzipaşa Blv. Çelik İş Merkezi No:162 K:3 D:302 Çankaya / İZMİR  
Tel: +90 232 441 60 01 Fax: +90 232 441 61 06 E-mail: [sidasmedya@gmail.com](mailto:sidasmedya@gmail.com)

**SIDAS MEDYA**