

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 48

SAYI / NUMBER : 6

YIL / YEAR : 2023

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

Baş Editör / Editor-in Chief

ERİNÇ, Hakan; Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey

Editörler / Editors

AVCI, Ayşe; Sakarya University, Turkey

AYDIN, Furkan; Aksaray University, Turkey

ÇAKIR, İbrahim; Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey

ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey

DEMİRKESEN MERT; İlkem, Ministry of Agriculture and Forestry, Turkey

DEMİROK SONCU, Eda; Ankara University, Turkey

EYİLER, Esen; Akdeniz University, Turkey

KULEAŞAN, Şükran; Mehmet Akif University, Turkey

TORUN, Mehmet; Akdeniz University, Turkey

YILMAZ, Merve Silanur; Bitlis Eren University, Turkey

Yönetim Yeri

Adres / Address

Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey

Tel: (+90) 0534 968 5994 • **Faks:** (+90) 312 317 8711

E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org

URL: http://www.gidadernegi.org

Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli

Hazırlayan / Prepared

Sim Ajans

19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara

Tel : (+90) 312 925 25 95

e-mail: simajans@simajans.com

Yayın Tarihi / Publication Date

15 12 2023

Danışma Kurulu / Advisory Board

Akköse, Ahmet; Atatürk University, Turkey

Ank, Gökşen G.; Balıkesir University, Turkey

Atalar, İlyas; Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey

Baysal, A. Handan; İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey

Bezirtzoglou, Eugenia; Democritus University of Thrace, Greece

Bozkır, Hamza; Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey

Çilak, Gizem Ö.; Hitit University, Turkey

Draughon, Ann Tennessee University, USA

El Soda, Morsi University of Alexandria, Egypt

Erbay, Zafer; Adana Bilim ve Teknik University, Turkey

Evren, Mustafa; Ondokuz Mayıs University, Turkey

Fogliano, Vincenzo University of Napoli Federico II, Italy

Gerçekaslan, K. Emre; Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey

Ghosh, Bikash C. National Dairy Research Institute, India

Gollop, Natan The Volcani Center, ARO, Israel

Griffiths, Mansel University of Guelph, Canada

Güneşer, Onur; Uşak University, Turkey

Güven, Esra Ç.; İstanbul Teknik University, Turkey

Ho, Chi-Tang The State University of New Jersey, USA

Hoşoğlu, Müge İ.; Gebze Teknik University, Turkey

Hüner, İrem D.; Trakya University, Turkey

Kahraman, Kevser; Abdullah Gül University, Turkey

Karaca, Hakan; Pamukkale University, Turkey

Koçan, Deniz; Aksaray University, Turkey

Konuşkan, Dilşat B.; Mustafa Kemal University, Turkey

Kuleaşan, Hakan; Süleyman Demirel University, Turkey

Meral, Raciye; Yüzüncü Yıl University, Turkey

Mete, Aylin A.; Mersin University, Turkey

Morales, Francisco J. CSIC Instituto del Fr o, Spain

Mujtaba, Mustafa G. Florida Gulf Coast University, USA

Mutlu, Türkan K.; Çukurova University, Turkey

Öztürk, Fatma; Kâtip Çelebi University, Turkey

Paalme, Toomas Tallinn University of Technology, Estonia

Parlar, Harun Technical University of Munich, Germany

Raspor, Peter University of Primorska, Slovenia

Rezessy-Szabo, Judit M. Corvinus University of Budapest, Hungary

Sarı, Ferda; Cumburiyet University, Turkey

Şengün, İlkin Y.; Ege University, Turkey

Soyer, Yeşim; Orta Doğu Teknik University, Turkey

Toğay, Sine Ö.; Bursa Uludağ University, Turkey

Toker, Ömer S.; Yıldız Teknik University, Turkey

Velioglu, Murat; Namık Kemal University, Turkey

Yemiş, Gökçe P.; Sakarya University, Turkey

Yolaçaner, Elif; Hacettepe University, Turkey

Yorulmaz, Aslı; Adnan Menderes University, Turkey

Zorba, Murat; Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey

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

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

İçindekiler / Content GIDA (2023)48(6)

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Taşkın, O., Pan, Z. *A comparative study between fresh and dried walnut based on industrial processing / Endüstriyel işleme esaslı taze ve kuru cevizin karşılaştırılması* **1132-1142**
- Özbek, Ç., Güzeler, N. *Implications of stabilizers used in brine of soft White cheese on the aroma profile of cheeses / Yumuşak beyaz peynir salamurasında kullanılan stabilizörlerin peynirlerin aroma profili üzerine etkileri* **1199-1215**
- Goktas, H. *Effect of different drying techniques on the bioactive, color, antibacterial and sensory features of date plum fruits (Diospyros lotus L.) / Farklı kurutma tekniklerinin hurma eriği meyvelerinin (Diospyros lotus L.) biyoaktif, renk, antibakteriyel ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi* **1254-1263**
- Eyiler Kaya, E., Öztürk, N. *Mushroom consumption habits in Türkiye /Türkiye'deki mantar tüketim alışkanlıkları* ... **1264-1275**
- Yazar, G. *Impact of wet gluten content on non-linear viscoelastic properties of wheat flour doughs / Yaş gluten miktarının buğday unu hamurunun doğrusal olmayan viskoelastik özellikleri üzerindeki etkisi* **1276-1291**
- Zorlu Ünlü, T., Topuz, S., Bayram, M., Balkan, T., Kaya, C. (2023). *Determination of pesticide residues in pickled vine (Vitis vinifera L.) leaves by a validated LC-MS/MS method / Valide edilmiş bir LC-MS/MS metoduyla asma yapraklarında pestisit kalıntılarının belirlenmesi* **1335-1350**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Şen, C., Doğan, M. A., Karagül Yüceer, Y. *Teneke Tulum Peynirlerinin bazı fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi / Determination of some physicochemical and sensory properties of Tulum Cheese* **1160-1171**
- Özcan, K., Coşkun, H. *Katık Keşi üretimi için en uygun kurumadde ve yağ oranının belirlenmesi / Determination of the most suitable dry matter and fat ratios for "Katık Keş" production* **1172-1184**
- Cankurtaran Kömürcü, T. *Potansiyel bir fonksiyonel gıda olarak farklı turp (Raphanus sativus) çeşitlerine ait tozların kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin değerlendirilmesi / Evaluation of the chemical and functional properties of powders of different radish (Raphanus sativus) cultivars as a potential functional food* **1185-1198**
- Erdağ Akca, E., Çağında, Ö., Köse, E. *Kurutulmuş et ile zenginleştirilmiş tam buğday unlu galetalarda in vitro demir biyoerişilebilirliğinin saptanması / In vitro iron bioaccessibility of whole wheat flour breadsticks fortified with dried meat powder* **1216-1229**
- Erol, S., Erinç, H. *Bitkisel lif-bütirik asit esterlerinin üretimi ve kek formülasyonunda emülgatör olarak kullanımı / Production of plant-based fiber-butyric acid esters and their use as emulsifier in cake formulation* **1244-1253**
- Mutlu, C. (2023). *Vakum kurutma yöntemi ile propolis tozu üretimi ve tozun bazı özellikleri / Production of propolis powder by vacuum drying and some properties of the powder* **1292-1303**
- Var, I., Tekin, A. *Piyasada tüketime sunulan ayçiçek ve mısırözü yağlarında aflatoksin varlığının araştırılması / Investigation of the presence of aflatoxin in sunflower and corn oils offered for consumption in the market* **1304-1317**
- Yüzer, M.O. *Soya proteini izolatu-fruktoz glikasyon konjugatlarının yapısı ve bazı teknofonksiyonel özellikleri üzerine ultrason işleminin etkisi / Effect of ultrasound process on the structure and some techno functional properties of soy protein isolate-fructose glycation conjugates* **1351-1365**
- Gürbüz, Z., Erkaya Kotan, T., Gürmeriç, H. E., Şengül, M. *Piyasada satılan yoğurtların fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve ADE- inhibitör aktivitelerinin belirlenmesi / Determination of physicochemical, microbiological, and ACE-inhibitor activities of yogurts on the market* **1366-1378**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Özdal, H.R., Nakilcioğlu, E., Ötleş, S. *Propolisin biyoaktif bileşenleri üzerine ekstraksiyon yöntemlerinin ve ekstraksiyon değişkenlerinin etkileri / Effects of extraction methods and extraction variables on bioactive compounds of propolis* **1123-1131**
- Kalfazade, M., Özdemir, K.S. *Probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan yöntemler ve gıda teknolojisinde uygulamaları / Microencapsulation techniques for probiotics and applications in food technology* **1143-1159**
- Aktepe, Y., Çakır, İ. *Gıda mikrobiyolojisinde metagenomik yaklaşımlar / Metagenomic approaches in food microbiology* **1230-1243**
- Altınay, C., Şanlı, T. *Vegan beslenmede alternatif süt ürünleri: Teknolojik ve beslenme yönü / Some alternative dairy products in vegan nutrition: Technological and nutritional aspect* **1318-1334**
- Soyocak, H., Öz, F., Turhan, S. *Raman spektroskopisinin et kalitesi ve güvenliğinin belirlenmesinde kullanımı / Use of Raman spectroscopy in determining the quality and safety of meat* **1379-1393**



PROPOLİSİN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİ ÜZERİNE EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN VE EKSTRAKSİYON DEĞİŞKENLERİNİN ETKİLERİ

Harun Reşit Özdal^{1*}, Emine Nakilcioğlu², Semih Ötleş²

¹Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü İzmir/ Türkiye

²Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir/ Türkiye

Geliş /Received 22.06.2023; Kabul /Accepted: 03.10.2023; Online baskı /Published online: 11.10.2023

Özdal, H.R., Nakilcioğlu, E., Ötleş, S. (2023). Propolisin biyoaktif bileşenleri üzerine ekstraksiyon yöntemlerinin ve ekstraksiyon değişkenlerinin etkileri. GIDA (2023) 48 (6) 1123-1131 doi: 10.15237/gida.GD23074

Özdal, H.R., Nakilcioğlu, E., Ötleş, S. (2023). Effects of extraction methods and extraction variables on bioactive compounds of propolis. GIDA (2023) 48 (6) 1123-1131 doi: 10.15237/gida.GD23074

ÖZ

Propolis içeriğinde bulundurduğu biyoaktif bileşenler sayesinde antik çağlardan beri geleneksel tıpta kullanılan, günümüzde ise zengin içeriği sayesinde çok sayıda çalışmaya konu olmuş ve olacak bir arı ürünüdür. Doğal antioksidan ve antimikrobiyal maddelere olan ilgi tüketicinin bilinçlenmesi ile artmaktadır. Bilimin bir şeyi etkili ve en verimli yapma çabası biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunu konu alan birçok çalışmaya yol açmıştır. Propolisten biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunu inceleyen, geleneksel metotlardan modern tekniklere kadar birçok yöntemin kullanıldığı araştırmalar bu çalışmada incelenmiş olup, yöntemlerin birbirine karşı etkinliği vurgulanmıştır. Farklı çözücü tiplerinin, farklı ekstraksiyon süresi ve sıcaklıklarının araştırdığı çalışmalar literatürde mevcuttur. Ekstraksiyon işlemine etki eden birçok değişkenin mevcut olması nedeniyle propolis ekstraksiyonunda ekstraksiyon değişkenlerinin optimizasyonu konu alan çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Propolis, ekstraksiyon, biyoaktif bileşen

EFFECTS OF EXTRACTION METHODS AND EXTRACTION VARIABLES ON BIOACTIVE COMPOUNDS OF PROPOLIS

ABSTRACT

Propolis is a bee product that has been used in traditional medicine since ancient times due to its bioactive components, and has been and will be the subject of many studies today because of its rich content. The interest in natural antioxidant and antimicrobial substances is increasing with the awareness of the consumer. The effort of science to make something effective and most efficient has led to many studies on the extraction of bioactive components. Studies investigating the extraction of bioactive components from propolis, using many methods from traditional methods to modern techniques, were examined in this study, and the effectiveness of this methods against each others were emphasized. There are lots of studies in the literature investigating different solvent types, extraction times and temperatures. Since there are many variables affecting the extraction process, studies on optimization of extraction variables in propolis extraction are needed.

Keywords: Propolis, extraction, bioactive compounds

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉:harunresit.ozdal@tarimorman.gov.tr

☎: (+90) 232 846 1331

☎: (+90) 232 846 1107

Harun Reşit Özdal; ORCID no: 0009-0005-5844-7221

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

Semih Ötleş; ORCID no: 0000-0003-4571-8764

GİRİŞ

Propolis antioksidan, anti-inflamatuar, anti-kanser ve antimikrobiyal etkileri bilinen; antik zamanlardan günümüze sağlık etkilerinden dolayı geleneksel tıpta sıklıkla kullanılan bir arı ürünüdür (Sforcin, 2016; Mele, 2023). Biyoaktif bileşenler bakımından zengin olan bu arı ürününün içeriği botanik ve coğrafi orijinine, hasat zamanına bağlı olarak değişmektedir (Simões-Ambrosio vd., 2010; Kasote vd., 2022; Bobiş vd., 2023). Ham propolis bal arıları tarafından çiçeklerden ve çeşitli bitki türlerinin yaprak tomurcuklarından toplanan tutkal benzeri bir materyaldir (Ahangari vd., 2018). Kompozisyonu toplandığı botanik ve coğrafi orijine göre değişiklik gösterse de genel olarak reçine ve balsam (%45-55), vaks (%8-35), uçucu yağlar ve aromatik bileşenler (%5-10), yağ asitleri (%5), polen (%5), diğer organik ve mineral maddeler (%5) şeklindedir (Anjum vd., 2019; Rivera-Yañez vd., 2021).

Arılar, reçineleri tomurcuklardan, salgılardan ve bitkilerin diğer kısımlarından topladıktan sonra bunları kendi tükürük enzimleri ve propolisi oluşturan balmumu ile karıştırırlar. Bu karışımı kovandaki çatlakları kapatmak, kovanda termal izolasyon sağlamak, kovan bağışıklığını güçlendirmek vb. için kullanırlar (Tilahun vd., 2016; Ribeiro vd., 2023). Propolis rengi orijinine ve yaşına bağlı olarak sarı-yeşil renkten kahve rengi rengine kadar çeşitlilik göstermektedir (Kuropatnicki vd., 2013). Botanik orijinine ve ana bileşenlerine göre yedi tür üzerinden çeşitlenmektedir: Kavak, huş, yeşil (alecrim), kırmızı (Clusia), Pasifik ve Akdeniz (El-Guendouz vd., 2019; Šturm ve Ulrich, 2020). Avrupa ve Kuzey Amerika'nın ılıman bölgeleri ile Çin ve Yeni Zelanda'nın tropik olmayan bölgelerinde bulunan kavak propolis flavonlar, flavononlar, sinamik asit ve esterleri bakımından zengindir. Ana bileşenleri flavonlar ve flavonollar olan huş propolis Rusya'da bulunmaktadır. Yeşil propolis Brezilya'da bulunur ve prenile fenilpropanoidler, kafeoilkinik asitler ve diterpenler bakımından zengindir. Brezilya, Küba ve Meksika'da bulunan kırmızı propolis ise izoflavonoidler, neoflavonoidler, pterokarpanlar ve lignanlarca zengindir. Antrakınon ve diterpenlerin ana bileşen olarak bulunduğu

Akdeniz propolis ise Akdenize kıyısı olan ülkelerde bulunmaktadır. Pasifik bölgesinde bulunan Pasifik propolis ise c-fenil flavononlarca zengindir (De Groot, 2013).

PROPOLİSTEKİ BİYOAKTİF BİLEŞENLER

Propolis kimyasal kompozisyonu arılar tarafından toplanan reçine ve balsamın bitki kaynağına göre çeşitlilik göstermektedir (AlDreini vd., 2023). Yürütülen çalışmalarla 300'den fazla bileşen tanımlanmıştır (Al-Hariri, 2011; Huang vd., 2014; Anjum vd., 2019; Widelski vd., 2023). Bu bileşenler arasında baskın olan reçine ve balsam dışında, polifenoller ve terpenoidlerdir. Polifenoller ve terpenoidler en aktif bileşenler olarak düşünülmektedir (Rocha vd., 2023). Flavonoid grubu içinde krisin, pinosembrin, apigenin, galangin, kemferol, kuersetin, tektokrisin, pinostrobin vd. bulunmaktadır (El-Guendouz vd. 2019). Propolisteki flavonoid içeriği %6.2 ila %18.8 arasında değişmektedir. Flavonoidler arasındaki en yüksek konsantrasyonu pinosembrin (~%4.7), pinobençin (~%3.1), galangin (~%2.2), krisin (~%2.1) oluşturur. Tanımlanan biyoaktif bileşenler arasındaki diğer önemli grup fenolik asitlerdir ki bunlar aromatik özellikler de gösteren, ferulik, sinamik, kafeik, benzoik, salisilik ve p-kumarik asittir (do Nascimento Araújo vd., 2020). Propolisteki fenolik madde miktarı 65.49 mg Gallik Asit Eşdeğeri (GAE)/g ve 228.40 mg GAE/g arasında değişmektedir (Osés vd., 2020). Ayrıca propolise karakteristik kokusunu veren artemillin C gibi fenolik asitler ve terpenler (terpineol, camphor, geraniol, nerol, farnesol) de tanımlanmıştır. Propoliste mikro ve makro elementler (Mn, Fe, Si, Mg, Zn, Se, Ca, K, Na, Cu) ile B₁, B₂, B₆, C ve E vitaminleri bulunmaktadır (Przybyłek ve Karpiński, 2019; Karageçili vd., 2023). Kimyasal kompozisyonundaki bu zenginlik antimikrobiyal, antioksidan, antidiyabetik, antikanser, antiülser etkilerinden sorumludur (D.Wagh, 2013; Kasiotis vd., 2017; Pina vd., 2017; Carlos vd., 2023).

PROPOLİSTEN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONUNDA KULLANILAN YÖNTEMLER

Maserasyon propolisteki aktif bileşenleri ekstrakte etmek için en sık kullanılan geleneksel yöntemlerden biridir (Bayram ve Gercek, 2020). Çözücü tipi, katı/sıvı oranı, ekstraksiyon süresi, sıcaklık gibi parametrelerin optimize edildiği birçok çalışma vardır (Margeretha vd., 2012). Soxhlet ekstraksiyonu da yine sıklıkla kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinden biridir. Çözücü tipi ekstraksiyon süresi gibi şartlar ekstraksiyon etkinliğini etkilemektedir. Geleneksel metotlara alternatif olarak modern ekstraksiyon tekniklerini konu alan çalışmalar da vardır. Ses dalgalarının belirli bir frekansta gönderilmesi ile biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunu hedefleyen ultra ses destekli ekstraksiyon, mikrodalga enerjisini kullanarak çözücünün ısıtılması ile bileşenlerin ekstrakte edildiği mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri bunlardan bir kaçıdır (Bankova vd., 2021). Çevre dostu ve yeşil çözücülerin kullanıldığı, sanayi uygulamalarında tercih edilen süper kritik CO₂ ekstraksiyonu da propolis ekstraksiyonunda kullanılan diğer bir yöntemdir. Süper kritik çözücü olarak güvenli, düşük maliyetli olması nedeniyle CO₂ kullanılmaktadır (Farooq vd., 2023). Son yıllarda çevre kirliliğini azaltmak ve ekstraksiyon verimini artırmak amacıyla yüksek hidrostatik basınç ekstraksiyonu ile çevreci “yeşil” derin ötektik çözücülerin (NADES) ekstraksiyonda kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır (Contieri vd., 2022). Bu çalışmalar ekstraksiyonun etkinliğini; ekstrakte edilen madde miktarını, toplam fenolik ve flavonoid miktarını ölçerek değerlendirmektedir.

PROPOLİSTEKİ BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN ELDESİ

Şuran vd. (2021) yaptıkları çalışmada çözücü olarak polietilen glikol 400 ve etanol (%96) kullanarak oda sıcaklığında 72 saat maserasyon yöntemi ile ekstraksiyon yapmışlardır. Katı/sıvı oranını 3:7 (ağırlık/ağırlık) olarak ayarladıkları ekstraksiyonda en yüksek ekstraksiyon verimini %25.2 ile etanolik ekstraktlar gösterirken, polietilen glikol 400 ile yapılan ekstraksiyonların verimi %21.5 olmuştur. Toplam fenolik madde miktarı polietilen glikol 400 ile yapılan

ekstraksiyonlarda 16.78 GAE mg/mL, etanol ile yapılan ekstraksiyonlarda 15.92 GAE mg/mL olarak bulunmuştur.

Propolis ekstraksiyonunda çözücü ve katı/sıvı oranının etkisini araştırmak için Mokhtar vd. (2019) su ve etanol ile maserasyon yöntemini kullanarak ekstraksiyon yapmışlardır. Oda sıcaklığında 7 gün yaptıkları ekstraksiyonda her iki çözücü için en yüksek ekstraksiyon verimini katı/sıvı oranı bakımından 1:10'luk orana sahip ekstraksiyonlar göstermiştir. Etanol ile yapılan ekstraksiyonlar su ile yapılanlara kıyasla daha yüksek fenolik ve flavonoid içeriği göstermiştir. En yüksek toplam fenolik içeriği (IPC) ve toplam flavonoid içeriği (TFC) (sırasıyla 29.09 ve 7.75 GAE/g) 1:5 katı/sıvı oranına sahip etanolik propolis ekstraktlarda görülmüştür.

Bayram ve Gercek (2020) çözücü olarak etanol kullandıkları çalışmada maserasyon süresinin (1, 2, 5, 10, 15, 20, 30 gün) belirli flavonoidler (pinosembirin, krisin, tektokrisin, pinostrobin kalkan, genkvanin, naringenin ve galangin) üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmada flavonoidlerden pinosembirin, krisin, tektokrisin, ve naringenin en yüksek seviyeye 15. günde ulaştığını ve bu periyottan sonra konsantrasyonlarının düşüş gösterdiğini tespit etmişlerdir. Diğer flavonoidlerin konsantrasyonlarında maserasyon süresine bağlı düşüş ve yükseliş gözlemlenmemiştir.

Propolisten biyoaktif bileşenleri ekstrakte etmek için üç farklı ekstraksiyon metodunun uygulandığı bir çalışmada (Başyirah vd., 2018) çözücü olarak %70 ve %95 (hacim/hacim) etanol kullanılmıştır. Ekstraksiyonun etkinliği ekstraksiyon verimi, toplam fenolik ve toplam flavonoid madde miktarına bakılarak ölçülmüştür. Maserasyon, soxhlet ve ultra ses destekli ekstraksiyon metotlarının kullanıldığı çalışmada 5 günlük maserasyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlar 46.68 mg GAE/g toplam fenolik madde içeriği ile en yüksek sonucu sergilemiştir. Ekstraksiyon verimi bakımından en yüksek sonucu (%49.29) 4 saat %95 etanol ile yapılan soxhlet ekstraksiyonu vermiştir. Toplam flavonoid madde miktarı %95 etanol ile ultra ses destekli ekstraksiyon işlemi ile

elde edilen ekstraktlarda 107.27 mg Kuersetin Eşdeğeri (QE)/g olarak bulunmuştur.

Maserasyon (24 saat oda sıcaklığı), ultra ses destekli (15 dakika 20 kHz) ve mikrodalga destekli (1 dakika 140 W) ekstraksiyon tekniklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, çözücü olarak %70 (hacim/hacim) etanol kullanılmış 1:50 katı/sıvı oranı ile ekstraksiyon yapılmıştır (Oroian vd., 2020). Ekstraksiyon etkinliğinin ekstraksiyon verimi, toplam fenolik, flavon ve flavonol içeriği ile flavonon ve dihidroflavonol içeriğine bakarak değerlendirildiği bu çalışmada, en yüksek ekstraksiyon verimini 96.7 g/100 g propolis ile ultra ses destekli ekstraksiyon göstermiştir. Tanımlanan fenolik asitlerden en yüksek konsantrasyonda bulunanı 271.65 mg/g propolis ile p- kumarik asit olmuştur.

Ekstraksiyon metodu ve süresinin ekstraksiyon etkinliğine etkisi üzerine yapılan bir çalışmada katı/sıvı oranı 1:10 olarak ayarlanmış, çözücü olarak %70 ve %80 (hacim/hacim) etanol kullanılmıştır. Maserasyon (8, 16, 24 saat), ultra ses destekli ekstraksiyon (30, 45, 60 dakika) ve maserasyon-ultra ses destekli ekstraksiyon(M-UAE) (24 saat maserasyon sonrası 30, 45, 60 dakika UAE) yöntemleri ile oda sıcaklığında ekstraksiyon yapılmıştır. Çalışmada toplam fenolik madde miktarı bakımından en yüksek sonucu 113.37 mg GAE/mL ile M-UAE metodu vermiştir. En yüksek toplam flavonoid madde içeriği 667.89 µg QE/mL ile maserasyon işlemine tabi tutulan ekstraktlarda bulunmuştur (Zainal vd., 2022).

Çevre ile dost yeni yeşil çözücülerin kullanıldığı bir çalışmada (Trusheva vd., 2019), kavak propolisin farklı derin ötektik çözücülerin farklı molar oranlarda karıştırılması ile ekstraksiyonu yapılmış, ekstraksiyon etkinliği %70 etanol ile yapılan ekstraksiyonla karşılaştırılmıştır. Çalışmada çözücü olarak sitrik asit – 1,2-propanediol (1:4 molar oran) kullanılan ekstraksiyonlar fenolik madde miktarı yönünden %36.7'lik oran ile en yüksek sonucu vermiştir. Farklı derin ötektik çözücülerin kullanıldığı diğer bir çalışmada, propolis-çözücü oranı (1:25), çözücü-su oranı 80:20 olarak ayarlanmış, 160 W

güç ile 20 dakika ultra ses destekli ekstraksiyona propolis örnekleri tabi tutulmuştur (T'zani vd., 2022). Betain/levulinik asit (1:2) ile yapılan ekstraksiyonlar 66.37 mg GAE/g propolis ile en yüksek toplam fenolik madde miktarını göstermiştir.

Pratami vd. (2023) farklı derin ötektik çözücülerin farklı molar oranlar ile karıştırılmasının ekstraksiyon etkinliği üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, ekstraksiyon etkinliğini toplam fenolik madde miktarını ölçerek test etmişlerdir. Çözücü olarak; kolin klorür, gliserol, propilen glikol, sitrik asit, propanediol ve su kullanılmış, sonuçlar etanol ile yapılan ekstraksiyonlarla karşılaştırılmıştır. Etanolik ekstraktlar toplam fenolik madde miktarı yönünden 352.52 mg GAE/g ile sonuçlanmıştır. Kolin klorür ve gliserol (1:2 molar oran) ile yapılan ekstraksiyon 365.8 mg GAE/g ile en yüksek toplam fenolik madde miktarını sergilemiştir.

Atmosferik basınç altında geleneksel yöntem (Soxhlet ekstraksiyonu) ile süper kritik CO₂ ekstraksiyon (SCE) yönteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada (Monroy vd., 2017), çözücü olarak karbondioksit, etanol, su ve bunların karışımları kullanılmıştır. SCE ile yapılan ekstraksiyonlar üç adımda gerçekleştirilmiş, uygulanan işlemlerin ekstraksiyon verimine etkisi her adım sonrası incelenmiştir. Toplam fenolik (222 mg GAE/g) ve flavonoid (67.0 mg Kateşin Eşdeğeri (CE)/g) madde miktarı yönünden en yüksek sonucu çözücü olarak %80 etanol ve CO₂'in kullanıldığı 2 adımlı yüksek basınçlı SCE göstermiştir. Soxhlet ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstraktlarda toplam fenolik madde miktarı 159 mg GAE/g olarak bulunmuştur.

Teixeira vd. (2023) düşük basınç altında geleneksel yöntem ile yüksek basınçlı SCE metodlarını kullanarak propolisten biyoaktif bileşenleri ekstrakte ettikleri çalışmada, toplam flavonoid madde miktarı 18.82-50.47 mg QE/g arasında, toplam fenolik madde miktarı ise 194.12-439.05 mg GAE/g arasında değişmiştir.

Süper kritik ve kritik altı akışkan ekstraksiyon yöntemi ile ultra ses destekli ekstraksiyon

Propolisin biyoaktif bileşenlerinin ekstraksiyonu

yöntemlerinin kullanıldığı başka bir çalışmada ise (Sun vd., 2022) ekstraksiyon etkinliği; ekstraksiyon verimi ve toplam flavonoid madde miktarı bakımından incelenmiştir. Toplam flavonoid madde miktarı bakımından en yüksek sonuçlar (178.32 mg/g ham propolis) %75 (hacim/hacim) etanol ile ultra ses destekli ekstraksiyona tabi tutulan ekstraktlarda görülürken, ekstraksiyon verimi açısından en yüksek sonuç (%81.57) çözücü olarak 1:1 oranında dimetil eter ile propanın kullanıldığı kritik altı akışkan ekstraksiyonunda görülmüştür.

Xi ve Shouqin (2007) 10 g propolisi 350 mL etanol (%75 v/v) içinde çözmüş, yüksek hidrostatik basınç ekstraksiyonu ile biyoaktif

bileşenlerin ekstraksiyonunu hedeflemişlerdir. Sonuçları 10 g propolis, 30 mL etanol (%70 v/v) ile geleneksel yöntem kullanılarak yapılan ekstraksiyonla karşılaştırmışlardır. Toplam fenolik madde miktarı bakımından 296 mg/g ekstrakt ile en yüksek sonuç 7 gün maserasyon yöntemi kullanılarak ekstraksiyona tabi tutulan ekstraktlarda bulunmuştur. 1 dakika yüksek hidrostatik basınç ekstraksiyona tabi tutulan ekstraktların toplam fenolik madde miktarı 290.4 mg GAE /g ekstrakt olarak tespit edilmiştir.

Propolisin biyoaktif bileşenlerinin ekstrakte edildiği bazı çalışmalara Çizelge 1'de yer verilmiştir.

Çizelge 1. Propolis ekstraksiyonunda kullanılan çeşitli ekstraksiyon teknikleri ve ekstraksiyon koşulları

Propolis Orijini	Ekstraksiyon Metodu	Çözücü (Katı/sıvı oranı)	Ekstraksiyon Süresi	Sıcaklık (°C)	Ekstraksiyon Etkinliği	Referans
Fas	UAE	%40 etanol (1:30)	15	35	EV: %15.39 TPC: 192 mg GAE TFC: 45.15 mg QE/g	(Aboulghazi vd., 2022)
İran	MUAE	%80 metanol (1:10)	15 dakika MAE 10 dakika UAE	40	TFC: 44.53 mg QE/g	(Heidari vd., 2019)
Malezya	UAE	%96 etanol (1:10)	15 dakika	70	EV: %42.6	(Chong ve Chua, 2020)
Türkiye	UAE	%70 etanol (1:10) Dimetil sülfoksit (1:10) Polietilen glikol (1:10) Distile su (1:10)	3 dakika	60	TPC:140.58 mg GAE /100 g TPC:125.60 mg GAE /100 g TPC:35.92 mg GAE /100 g TPC:3.30 mg GAE /100 g	(Bakkaloglu vd., 2021)
Filipinler	MAE	%70 etanol (1:10)	10 saniye	Maksimum 125	EV: %15.5	(Wyan vd., 2021)
Malezya	MAE	%70 etanol (1:5)	15 dakika	Maksimum 115	TFC: 140 mg QE/g	(Hamzah ve Leo, 2015)

UAE: Ultra ses destekli ekstraksiyon, MUAE: Mikrodalga ve Ultra ses destekli ekstraksiyon, MAE: Mikrodalga destekli ekstraksiyon, EV: Ekstraksiyon verimi, TPC: Toplam fenolik madde miktarı, TFC: Toplam flavonoid madde miktarı

SONUÇ

Ekstraksiyon metotlarını, çözücü tiplerini, ekstraksiyon süresi ve sıcaklığını konu alan birçok çalışma literatürde yer almaktadır. Bu çalışmalardan bazıları ekstraksiyon verimini, bazıları TPC ve/veya TFC üzerinden ekstraksiyon etkinliğini değerlendirmiştir. Bazı çalışmalarda spesifik bileşenlerin ekstraksiyonu üzerine değerlendirmeler bulunmaktadır. Geleneksel yöntemlerden biri olan maserasyonun halen propolis ekstraksiyonunda kullanılan etkin bir yöntem olduğu görülmektedir. Ancak uzun ekstraksiyon süresi geleneksel bu yöntem alternatif modern tekniklere yönelme sebep olmuştur. Süper kritik CO₂ ekstraksiyonu, yüksek hidrostatik basınç ekstraksiyonu, yeşil ekstraksiyon, UAE ve MAE yöntemlerinin ve bunların kombinasyonlarının kullanıldığı çalışmalarda, ekstraksiyon etkinliğinin geleneksel yöntemlere göre daha üstün sonuçlar verdiği görülmüştür. Apolar özellikteki çözücüler apolar, polar özellikli çözücüler ise polar maddeleri çözmekte iyidir. Organik çözücülerle hem apolar hem de polar maddelerin ekstraksiyonu mümkündür. Daha çevreci çözücülere ve enerjiyi verimli kullanan ekstraksiyon metotlarına yönelmek faydalı olacaktır. Farklı çözücüler, sıcaklıklar, süre ve ekstraksiyon yöntemi ve bunların kombinasyonlarının optimize edildiği çalışmaların sayılarının artırılması, bu alandaki eksikliklerin giderilmesinde faydalı olacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Makalenin derlenmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında tüm yazarlar katkı sağlamışlardır

KAYNAKLAR

Aboulghazi, A., Bakour, M., Fadil, M., Lyoussi, B. (2022). Simultaneous Optimization of Extraction Yield, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Moroccan Propolis Extracts: Improvement of Ultrasound-Assisted Technique Using Response Surface Methodology. *Processes*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/pr10020297>

Ahangari, Z., Naseri, M., Vatandoost, F. (2018). Propolis: Chemical composition and its applications in endodontics. *Iranian Endodontic Journal*, 13(3), 285–292. <https://doi.org/10.22037/iej.v13i3.20994>

Al-Hariri, M. (2011). Propolis and its direct and indirect hypoglycemic effect. *Journal of Family and Community Medicine*, 18(3), 152–154. <https://doi.org/10.4103/2230-8229.90015>

AIDreini, S., Fatfat, Z., Abou Ibrahim, N., Fatfat, M., Gali-Muhtasib, H., Khalife, H. (2023). Thymoquinone enhances the antioxidant and anticancer activity of Lebanese propolis. *World Journal of Clinical Oncology*, 14(5), 203–214. <https://doi.org/10.5306/wjco.v14.i5.203>

Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Dash, C. K. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1695–1703. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>

Bakkaloglu, Z., Arici, M., Karasu, S. (2021). Optimization of ultrasound-assisted extraction of turkish propolis and characterization of phenolic profile, antioxidant and antimicrobial activity. *Food Science and Technology (Brazil)*, 41(3), 687–695. <https://doi.org/10.1590/fst.14520>

Bankova, V., Trusheva, B., Popova, M. (2021). Propolis extraction methods: a review. *Journal of Apicultural Research*, 0(0), 1–10. <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1901426>

Basyirah, N., Zin, M., Azemin, A., Muslim, M., Rodi, M., Mohd, S. (2018). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Stingless Bee Propolis from Different Extraction Methods. *International Journal of Engineering & Technology*, (July 2019), 90–95. Tarihinde adresinden erişildi www.sciencepubco.com/index.php/IJET

Bayram, N. E., Gercek, Y. C. (2020). *Appropriate Maceration Duration for.* (October).

Bobiş, O., Berretta, A. A., Vilas-Boas, M., De Jong, D. (2023). Editorial: Therapeutic potential of propolis—from in vitro studies to clinical trials.

- Frontiers in Pharmacology*, 14(May), 2022–2024. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1192045>
- Carlos, J., Ruiz, R., Aracely, N., Pacheco, L., Guadalupe, E. (2023). *Phenolic Content and Bioactivity as Geographical Classifiers of*.
- Chong, F. C., Chua, L. S. (2020). Effects of Solvent and pH on Stingless Bee Propolis in Ultrasound-Assisted Extraction. *AgriEngineering*, 2(2), 308–316. <https://doi.org/10.3390/agriengineering2020020>
- Contieri, L. S., Souza, L. M. De, Sanches, V. L., Chaves, J., Pizani, R. S., Laíse, C., Sim, R. L. (2022). *Recent progress on the recovery of bioactive compounds obtained from propolis as a natural resource: Processes, and applications*. 298(June). <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.121640>
- D.Wagh, V. (2013). Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in Pharmacological Sciences*.
- De Groot, A. C. (2013). Propolis: A review of properties, applications, chemical composition, contact allergy, and other adverse effects. *Dermatitis*, 24(6), 263–282. <https://doi.org/10.1097/DER.0000000000000011>
- do Nascimento Araújo, C., Mayworm, M. A. S., Yatsuda, R., Negri, G., Salatino, M. L. F., Salatino, A., Campos, G. B. (2020). Chemical composition and antimycoplasma activity of a brown propolis from southern Brazil. *Journal of Food Science and Technology*, 57(11), 4228–4235. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04461-y>
- El-Guendouz, S., Lyoussi, B., Miguel, M. G. (2019). Insight on Propolis from Mediterranean Countries: Chemical Composition, Biological Activities and Application Fields. *Chemistry and Biodiversity*, 16(7). <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900094>
- Farooq, S., Farooq, S., Rather, S. A., Ganaie, T. A. (2023). Supercritical CO₂ extraction of natural products. İçinde *Extraction of Natural Products from Agro-Industrial Wastes* (ss. 79–90). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823349-8.00011-3>
- Hamzah, N., Leo, C. P. (2015). Microwave-Assisted extraction of trigona propolis: The effects of processing parameters. *International Journal of Food Engineering*, 11(6), 861–870. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2015-0106>
- Heidari, G., Najafpour, G. D., Mohammadi, M., Moghadamnia, A. A. (2019). Microwave ultrasound assisted extraction: Determination of quercetin for antibacterial and antioxidant activities of Iranian propolis. *International Journal of Engineering, Transactions B: Applications*, 32(8), 1057–1064. <https://doi.org/10.5829/ije.2019.32.08b.01>
- Huang, S., Zhang, C. P., Wang, K., Li, G. Q., Hu, F. L. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*, 19(12), 19610–19632. <https://doi.org/10.3390/molecules191219610>
- Karageçili, H., Yılmaz, M. A., Ertürk, A., Kiziltas, H., Güven, L., Alwasel, S. H., Gulcin, İ. (2023). Comprehensive Metabolite Profiling of Berdav Propolis Using LC-MS/MS: Determination of Antioxidant, Anticholinergic, Antiglaucoma, and Antidiabetic Effects. *Molecules*, 28(4), 1739. <https://doi.org/10.3390/molecules28041739>
- Kasiotis, K. M., Anastasiadou, P., Papadopoulou, A., Machera, K. (2017). Revisiting Greek propolis: Chromatographic analysis and antioxidant activity study. *PLoS ONE*, 12(1), 1–27. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170077>
- Kasote, D., Bankova, V., Viljoen, A. M. (2022). Propolis: chemical diversity and challenges in quality control. *Phytochemistry Reviews*, 21(6), 1887–1911. <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09816-1>
- Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., Krol, W. (2013). Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/964149>
- Margeretha, I., Fatma Suniarti, D., Herda, E., Mas'ud, Z. A. (2012). Optimization and comparative study of different extraction methods of biologically active components of Indonesian propolis Trigona spp. *Journal of Natural Products*, 5, 233–242. Tarihinde adresinden erişildi www.JournalofNaturalProducts.Com

- Mele, E. (2023). Electrospinning of honey and propolis for wound care. *Biotechnology and Bioengineering*, 120(5), 1229–1240. <https://doi.org/10.1002/bit.28341>
- Mokhtar, S. U. (2019). Comparison of total phenolic and flavonoids contents in Malaysian propolis extract with two different extraction solvents. *International Journal of Engineering Technology and Sciences*, 6(2), 1–11. <https://doi.org/10.15282/ijets.v6i2.2577>
- Monroy, Y. M., Rodrigues, R. A. F., Rodrigues, M. V. N., Sant'Ana, A. S., Silva, B. S., Cabral, F. A. (2017). Brazilian green propolis extracts obtained by conventional processes and by processes at high pressure with supercritical carbon dioxide, ethanol and water. *Journal of Supercritical Fluids*, 130(August), 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.08.006>
- Oroian, M., Dranca, F., Ursachi, F. (2020). Comparative evaluation of maceration, microwave and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from propolis. *Journal of Food Science and Technology*, 57(1), 70–78. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04031-x>
- Osés, S. M., Marcos, P., Azofra, P., de Pablo, A., Fernández-Muñio, M. Á., Sancho, M. T. (2020). Phenolic Profile, Antioxidant Capacities and Enzymatic Inhibitory Activities of Propolis from Different Geographical Areas: Needs for Analytical Harmonization. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/antiox9010075>
- Pina, R., Silva, D., Aparecida, B., Machado, S., De, G., Barreto, A., Umsza-guez, M. A. (2017). cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. *PLoS ONE*, 12(3), 1–18.
- Pratami, D. K., Eksadita, N. U. R. E., Sahlan, M., Im, A. M. U. N. (2023). *Comparison of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Indonesian Propolis Extracted with Various Solvents (Perbandingan Kandungan Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan Propolis Indonesia yang Diekstraksi dengan Berbagai Pelarut)*. 21(1), 121–129.
- Przybyłek, I., Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, 24(11), 11–13. <https://doi.org/10.3390/molecules24112047>
- Ribeiro, V. P., Mejia, J. A. A., Rodrigues, D. M., Alves, G. R., de Freitas Pinheiro, A. M., Tanimoto, M. H., Ambrósio, S. R. (2023). Brazilian Brown Propolis: an Overview About Its Chemical Composition, Botanical Sources, Quality Control, and Pharmacological Properties. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 33(2), 288–299. <https://doi.org/10.1007/s43450-023-00374-x>
- Rivera-Yañez, N., Rivera-Yañez, C. R., Pozo-Molina, G., Méndez-Catalá, C. F., Méndez-Cruz, A. R., Nieto-Yañez, O. (2021). Biomedical properties of propolis on diverse chronic diseases and its potential applications and health benefits. *Nutrients*, 13(1), 1–31. <https://doi.org/10.3390/nu13010078>
- Rocha, V. M., Portela, R. D., dos Anjos, J. P., de Souza, C. O., Umsza-Guez, M. A. (2023). Stingless bee propolis: composition, biological activities and its applications in the food industry. *Food Production, Processing and Nutrition*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s43014-023-00146-z>
- Sforcin, J. M. (2016). Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. *Phytotherapy Research*, 30(6), 894–905. <https://doi.org/10.1002/ptr.5605>
- Simões-Ambrosio, L. M. C., Gregório, L. E., Sousa, J. P. B., Figueiredo-Rinhel, A. S. G., Azzolini, A. E. C. S., Bastos, J. K., Lucisano-Valim, Y. M. (2010). The role of seasonality on the inhibitory effect of Brazilian green propolis on the oxidative metabolism of neutrophils. *Fitoterapia*, 81(8), 1102–1108. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.07.008>
- Šturm, L., Ulrih, N. P. (2020). Advances in the Propolis Chemical Composition between 2013 and 2018: A Review. *eFood*, 1(1), 24–37. <https://doi.org/10.2991/efood.k.191029.001>
- Sun, J., Mu, Y., Shi, J., Zhao, Y., Xu, B. (2022). Super/subcritical fluid extraction combined with ultrasound-assisted ethanol extraction in propolis development. *Journal of Apicultural Research*, 61(2), 255–263. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1772529>

- Šuran, J., Capanec, I., Mašek, T., Starčević, K., Gajger, I. T., Vranješ, M., Vlanić, J. (2021). Nonaqueous polyethylene glycol as a safer alternative to ethanolic propolis extracts with comparable antioxidant and antimicrobial activity. *Antioxidants*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/antiox10060978>
- Teixeira, T. D., Aparecida, B., Machado, S., Barreto, G. D. A., Pereira, J., Leal, I. L., Andr, M. (2023). *Extraction of Antioxidant Compounds from Brazilian Green*.
- Tilahun, A., Basa, B., Belay, W., Teshale, A. (2016). Review on Medicinal Value of Honeybee Products: Apitherapy. *Advances in Biological Research*, 10(4), 236–247. <https://doi.org/10.5829/idosi.abr.2016.10.4.10529>
- Trusheva, B., Petkov, H., Popova, M., Dimitrova, L., Zaharieva, M., Tsvetkova, I., Bankova, V. (2019). “Green” approach to propolis extraction: natural deep eutectic solvents. *Comptes Rendus de L’Academie Bulgare des Sciences*, 72(7), 897–905. <https://doi.org/10.7546/CRABS.2019.07.06>
- Tzani, A., Pitterou, I., Divani, F., Tsiaka, T., Sotiroidis, G., Zoumpoulakis, P., Detsi, A. (2022). Green Extraction of Greek Propolis Using Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) and Incorporation of the NADES-Extracts in Cosmetic Formulation. *Sustainable Chemistry*, 4(1), 8–25. <https://doi.org/10.3390/suschem4010002>
- Widelski, J., Okińczyc, P., Suśniak, K., Malm, A., Bozhadze, A., Jokhadze, M., Korona-Głowniak, I. (2023). Correlation between Chemical Profile of Georgian Propolis Extracts and Their Activity against *Helicobacter pylori*. *Molecules*, 28(3), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules28031374>
- Wyan, L. O., Charland, J. M., Mojica, E.-R. E. (2021). Comparative Study of the Extraction Methods for the Instrumental Analysis of Bee Propolis. *Louisiana State University of Alexandria undergraduate journal of teaching research*, 1(January 2021), 51–62.
- Xi, J., Shouqin, Z. (2007). Antioxidant activity of ethanolic extracts of propolis by high hydrostatic pressure extraction. *International Journal of Food Science and Technology*, 42(11), 1350–1356. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01339.x>
- Zainal, W. N. H. W., Azian, N. A. A. M., Albar, S. S., Rusli, A. S. (2022). Effects of extraction method, solvent and time on the bioactive compounds and antioxidant activity of *Tetrigona apicalis* Malaysian propolis. *Journal of Apicultural Research*, 61(2), 264–270. <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1930958>



A COMPARATIVE STUDY BETWEEN FRESH AND DRIED WALNUT BASED ON INDUSTRIAL PROCESSING

Onur Taskin^{1,2*}, Zhongli Pan²

¹Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, Bursa Uludag University, Bursa, TÜRKİYE
²Department of Biological and Agricultural Engineering, University of California, Davis/CA, USA

Received /Geliş: 11.08.2023; Accepted /Kabul: 03.10.2023; Published online /Online baskı: 11.10.2023

Taşkın, O., Pan, Z. (2023). *A comparative study between fresh and dried walnut based on industrial processing*. GIDA (2023) 48 (6) 1132-1142 doi: 10.15237/ gida.GD23091

Taşkın, O., Pan, Z. (2023). Endüstriyel işleme esaslı taze ve kuru cevizin karşılaştırılması. GIDA (2023) 48 (6) 1132-1142 doi: 10.15237/ gida.GD23091

ABSTRACT

Post-harvest processes of walnuts in the industry are preliminary before consumption. In this study, the dimensions, nut density, terminal velocity, drag coefficient, color, oil quality, protein content, water permeation pathway, and microstructure variation of the fresh and dried walnut samples were researched. The results indicated that every physical and aerodynamic property of fresh samples (except drag coefficient) was a higher value than dried walnuts. In terms of total color difference, the difference was calculated as 6.3. However, no significant ($p<0.05$) difference was determined between samples in AV, PV, and protein content. By comparison of scanning electron microscopy images, both fresh and dried walnut kernels of the surface had a smooth surface and no apparent porous structure. In conclusion, it was determined that the industrial drying method did not affect the internal structure while affecting the external structure.

Keywords: Walnut drying, dimensions, color, oil, microstructure, quality

ENDÜSTRİYEL İŞLEME ESASLI TAZE VE KURU CEVİZİN KARŞILAŞTIRILMASI

ÖZ

Endüstride cevizin hasat sonrası işlemleri tüketim öncesinde ön hazırlık niteliğindedir. Bu çalışmada taze ve kurutulmuş ceviz örneklerinin boyutları, tane yoğunluğu, kritik hızı, sürtünme katsayısı, rengi, yağ kalitesi, protein içeriği, su geçirgenlik yolu ve mikroyapı değişimleri araştırılmıştır. Sonuçlar taze ceviz örneklerinin tüm fiziksel ve aerodinamik özelliklerinin (sürtünme katsayısı hariç) kuru cevizlere göre daha yüksek değerde olduğunu göstermiştir. Toplam renk farkı 6.3 olarak hesaplanmıştır. Ancak yağ kalitesi ve protein içeriği açısından örnekler arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p<0.05$). Taramalı elektron mikroskopu görüntüleri karşılaştırıldığında, hem taze hem de kurutulmuş ceviz yüzeyinin pürüzsüz bir yapıya sahip olduğu ve belirgin gözenekli bir yapıya sahip olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak, endüstriyel kurutma yönteminin dış yapıyı etkilerken iç yapıyı etkilemediği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Ceviz kurutma, boyut, renk, yağ, mikro yapı, kalite

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

E-mail: onurtaskins@gmail.com Tel: (+90) 224 294 16 02, Fax: (+90) 224 294 14 02

Onur Taskin; ORCID no: 0000-0002-5741-8841

Zhongli Pan; ORCID no: 0000-0002-0914-4006

INTRODUCTION

Walnuts hold the distinction of being the most prevalent variety of tree nuts on a global scale. They are extensively grown for commercial purposes across various regions, including the United States, eastern Asia, western South America, southern Europe and northern Africa (Martinez et al., 2010). In 2021, approximately 3,500,172 tons of walnuts (in shell) were produced globally. The top producers are China, with an annual production of 1,100,000 tons, followed by the United States (657,710 tons) and Iran (386,976 tons). Türkiye with 325,000 tons production increased the walnut cultivation area from 60,496 ha in 2001 to 153,520 ha in 2021 whereas the walnut cultivation area in Iran decreased from 61,795 ha in 2001 to 53,504 ha in 2021 (Mao and Wang, 2021; FAO, 2023). These data show that Türkiye is going to lead its region in the near future.

Walnuts play a significant role in the food industry due to their considerable economic value as a crop. In order to obtain the edible part of the walnut, which is the kernel or meat, several essential steps are involved, including harvesting, hulling, drying, and shelling (Khir and Pan, 2019). As part of a standard post-harvest procedure in the industry, mechanically dehulled walnuts are typically immersed in water for varying durations to remove surface dirt. Subsequently, they are moved to continuous system dryers (Chen et al., 2020a). On the other hand, the increasing production of walnuts is driving a growing demand for large-scale drying technologies within the industry (Faj et al., 2023).

The primary commercial form of walnuts is in the dried state, although consumers also appreciate the distinctive taste of fresh walnuts. However, the drying process introduces certain alterations to the flavor and bioactive constituents of walnuts, thereby impacting their nutritional value and antioxidant activity. Moreover, the quality of walnut kernels varies significantly due to diverse factors such as variety, climate, and processing techniques (Wang et al., 2022).

The purpose of this research was to examine the industrial processing of walnuts and conduct a quality analysis to determine the alterations in fresh and dried walnut kernels. The specific aims were as follows: (1) Investigate the dimensions, nut density, terminal velocity, and drag coefficient of walnuts; (2) Determine the color, oil quality, and protein content changes of walnuts; (3) Research the soaking/washing process on water permeation pathway of walnuts; (4) Present the microstructure images of dried walnuts.

MATERIAL AND METHODS

Walnuts (Chandler cultivar) were harvested in 2021 from the fields of Glenn, California, USA. The orchard was planted in distance between rows and distance between trees in a row of 7.6 and 4.5 m, respectively. The soil profile of the orchard is called the Zamora series, which consists of very deep, well-drained soils that formed in alluvium from mixed rocks. The average daily results of the whole production season for the ambient temperature, relative humidity, precipitation, solar radiation, and max wind speed were 17.38 °C, 52.36 %, 0.30 mm, 237.11 W/m² and 3.42 m/s, respectively.

Fresh samples were kept in plastic bags under refrigeration conditions ($4 \pm 0.5^\circ\text{C}$) until quality experiments were done. The fresh walnut samples were initially found to have a moisture content of 11.33 (w.b.). A stadium-type dryer at 44 °C was used to drop the moisture content of the walnut samples to 8.51 (w.b.).

Dimensions

Using a digital caliper with a precision of 0.001 mm, the major diameter or length (L), intermediate diameter or width (D_1), and minor diameter or thickness (D_2) of the chosen walnuts were measured to determine the dimensions of the principal axes. Equations 1 and 2 were employed to calculate the geometric mean diameter (D_g) in millimeters and sphericity (φ).

$$D_g = (L \times D_1 \times D_2)^{0.333} \quad (1)$$

$$\varphi = \frac{(L \times D_1 \times D_2)^{0.333}}{L} \quad (2)$$

$$A_p = \frac{\pi}{4} D_g^2 \quad (3)$$

A_p represents the projected area measured in mm^2 , while D_g is the geometric mean diameter in mm. The major (L), intermediate (D_1), and minor (D_2) diameters are denoted in mm (Khair et al., 2014).

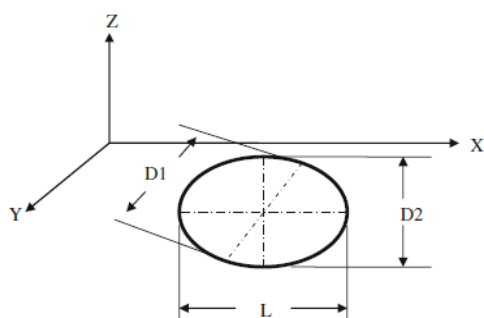


Figure 1. Three primary axial dimensions of walnuts (Khair et al., 2013)

Nut density

To determine the individual nut density (V), the weight and volume of each nut were determined. Each walnut's weight was measured using a precise (accuracy of 0.01g) electronic balance (Denver Instrument, Arvada Co., USA). The volume of each walnut was calculated using Equation (4) (Khair et al., 2014).

$$V = \frac{\pi}{6} (L \times D_1 \times D_2) \quad (4)$$

Terminal velocity

A cylindrical air column made of transparent plastic with a 10 cm diameter and 100 cm height was used to measure the terminal velocity of individual walnuts. The vertical airflow in the column was produced by a centrifugal fan (Dayton electric blower MFG Co. Chicago, USA). Three layers of mesh screens were used to distribute airflow homogeneously. A motor speed regulator (Dayton, MFG, Co. Niles, IL, USA) was operated for the airspeed and a digital anemometer (Anemo-thermometer, Friendswood, TX, USA) having a 0.1 m/s sensitivity was used to define the air velocity. Each walnut was set at 50 cm height and once the walnut lifted off the screen, the velocity at which the nut was barely lifted off the screen was

regarded as the terminal velocity (Khair et al., 2014).

Drag Coefficient

In order to characterize the aerodynamic characteristics of walnuts in an air stream, the drag coefficient (C_d) was calculated using the following Equation.

$$C_d = \left(\frac{2mG}{A_p \rho V_t^2} \right) \quad (5)$$

In equation (5), the drag coefficient (C_d) is a dimensionless value, m is the mass of nut (kg), G is the acceleration due to gravity (m/s^2), V_t is the terminal velocity (m/s), A_p is the projected area (m^2), and ρ is nut density (kg/m^3) (Khair et al., 2014).

Color

The color of walnuts was measured using a colorimeter. The color measurement device used is a tristimulus colorimeter, designed to assess color indices specified by the CIE (International Commission on Illumination). The L^* index represents the lightness component, ranging from 0 to 100, while the a^* and b^* parameters represent the two chromatic components, varying from green to red and from blue to yellow, respectively, with a range from -120 to 120. Additionally, the total color difference (ΔE) was computed as a single value, considering the disparities between the L^* , a^* , and b^* values of the dried sample and the fresh. This calculation is based on Equation (6), where L^* , a^* , and b^* are the measured values, and L , a , and b represent the fresh walnuts (Taj et al., 2023). To describe the visual color appearance more effectively, two parameters, the hue angle (h^*) and chroma (C), were calculated using Equations (7) and (8), respectively.

$$\Delta E = [(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2]^{\frac{1}{2}} \quad (6)$$

$$h^* = \left(\tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \right) \quad (7)$$

$$C = (a^{*2} + b^{*2})^{\frac{1}{2}} \quad (8)$$

Quality analyses of walnut oils

Walnut oil extraction was carried out using hexane in a MaxQ 4000 shaker (Thermo

Scientific, Waltham, MA, USA) operating at 3.33 Hz and 4 °C for a duration of 1 hour. Subsequently, the oil and solvent were separated from the solids by employing vacuum filtration and a rotary evaporator (Büchi R-3, Switzerland). The PV (Peroxide Value) and AV (Acid Value) of the oil samples were determined following the AOCS standard methods Cd 8–53 and Ca 5a-40, respectively, using a Metrohm titrino plus 848 potentiometric titrator (Chen et al., 2020b).

The peroxide value is expressed as the amount of sodium thiosulfate:

$$PV = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{\text{mass of test portion (g)}} \quad (9)$$

Where S is the sodium thiosulfate amount used for samples (mL), B is the sodium thiosulfate amount used for blanks (mL) and N is the sodium thiosulfate solution concentration (0.025 N).

The acid value is expressed as mg KOH per g of fatty acids:

$$AV = \frac{(S-B) \times N}{\text{mass of test portion (g)}} \quad (10)$$

Where S is the Potassium hydroxide amount used for samples (mL), B is the Potassium hydroxide amount used for blanks (mL), and M=56.1 in this case.

Protein content

Kjeldahl (N \times 6.25) method was used for protein analysis of the samples (Çelik et al., 2011). Samples burned in the combustion set (K-437, Büchi, Switzerland) with sulfuric acid and catalyst (K₂SO₄+CuSO₄+Se) and were distilled in an alkaline environment (K- 350, Büchi, Switzerland). The amount of ammonia (NH₄) produced was titrated with sulfuric acid and the amount of nitrogen was measured. The results obtained will be multiplied by a factor of 6.25 to calculate the protein content of the samples (Bremmer, 1965).

Water permeation pathway

Randomly selected walnut samples from the same batch were divided into two sets: the experimental group and the control group. In the experimental

group, the stem pore of the walnuts was sealed using water-resistant epoxy glue to simulate walnuts without the natural stem pore. On the other hand, the control group walnuts were left untreated, resembling walnuts with their original stem pore intact.

After the sealing process, there was a minimal change in walnut weight, less than 1%, and the moisture content (MC) of the glue was disregarded. Subsequently, both groups were left at room temperature for 30 minutes to allow the glue to solidify.

To create the fluorescence tracking solution, a light yellow food-grade dye (GloMania, USA) was dissolved in water. The walnuts were then immersed in this fluorescent solution and continuously stirred to simulate the industrial washing process. Following the soaking period, five samples were taken out from the solution, carefully wiped clean with a paper tissue, and subsequently placed inside a cool desiccator for a duration of 2 hours. Next, the samples were cut through using a band saw in various directions (cross-section, alongside the suture, and perpendicular to the suture), allowing the kernel to be meticulously separated into halves. To activate the fluorescence dye in the walnuts, a USPAR F15T8 UV light was used. For comparison purposes, the identical samples were also positioned under an incandescent lamp for imaging. Photographs of the water permeation pathways within each individual walnut were captured and observed using a digital camera (Chen et al., 2020a).

Microstructure

To study the microstructures of walnuts, the walnuts were cracked open, and the kernels were carefully separated and broken into smaller pieces. Scanning electron microscopy (SEM - Nova™ NanoSEM 430, FEI, USA) was conducted with an accelerating voltage of 10 kV and a magnification of 200 \times . Before conducting the SEM observations, the samples were affixed to an aluminum stub using double-sided adhesive tape and then coated with a layer of gold using the EMS150R ES sputter coater (Quorum

Technologies Ltd., Newhaven, UK) for a duration of 5 minutes (Chen et al., 2020c).

Statistics

MS-Excel program was used to process the data to be obtained in triplicate. Besides, Statistical analyses were performed using JMP software (Version 7.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) with the assistance of a randomized plot factorial design. The least significant difference test (LSD) was applied, considering a significance level of 5%.

RESULTS AND DISCUSSION

Dimensions, Nut density, Terminal velocity and Drag Coefficient

The mean values and standard deviations for the dimensions, nut densities, terminal velocity and drag coefficient of walnuts (fresh and dried) are presented in Table 1. The results of dimensions indicated the axial dimensions of L , D_1 and D_2 for fresh walnuts were greater than dried walnuts. Additionally, the D_g values of fresh walnuts are higher than dried walnuts. The shape of the walnut is very close to spherical. Due to the loss of water due to drying, the weight of the dried walnuts was found to be lower. Also, the terminal velocity of fresh walnuts was greater than that of dried walnuts. The drag coefficient increased after

drying and the airstream velocity required to suspend individual walnut was decreased. Altuntas and Ozkan (2008) studied three Turkish walnut varieties (Bilecik, Kaman, and Sebin). They reported that the length, width, thickness, and geometric mean diameters were 38.58, 33.41, 31.16, and 34.11 mm, respectively, for the Bilecik cultivar; 44.66, 36.68, 34.42, and 38.20 mm for Kaman cultivar, and 36.57, 29.17, 30.75, and 31.89 mm for Sebin cultivar. The unit mass (g) and sphericity (%) of walnuts were 11.40, 88.48; 16.54, 85.58; and 9.75, 87.28 for Bilecik, Kaman and Sebin cultivars, respectively. The bulk density (kg/m^3) and volume (cm^3) of Bilecik, Kaman and Sebin walnut cultivars were 235.5, 10.68; 225.10, 12.57, and 240.8, 8.75, respectively. Also, the results by Ercisli et al. (2011) presented the two walnut cultivars widely grown in Turkey, namely 'Maraş-18' and 'Yalova-1'. The average length (mm), width (mm), thickness (mm), geometric mean diameter (mm), mass (g), sphericity (%), and surface area (cm^2) determined 41.57, 34.18, 33.74, 36.33, 12.44, 87.41, and 41.48 for cv. 'Maraş-18'. The corresponding values were 45.48, 34.06, 32.29, 36.83, 12.70, 81.08, and 42.66 for cv. 'Yalova-1'. These findings show a slight difference between the Chandler cultivar presented in this research.

Table 1. Properties related to the physical and aerodynamic characteristics of walnut samples

	Fresh	Dried
L (mm)	39.79 \pm 4.22	37.60 \pm 2.14
D1 (mm)	34.12 \pm 1.67	32.23 \pm 3.20
D2 (mm)	32.84 \pm 1.53	31.57 \pm 1.39
D_g (mm)	35.23 \pm 2.38	33.49 \pm 1.22
φ	0.92 \pm 0.33	0.89 \pm 0.05
A_p (mm^2)	978.92 \pm 113.99	884.39 \pm 100.37
W (g)	13.00 \pm 1.91	10.56 \pm 2.30
V (mm^3)	23421.19 \pm 3705.13	20103.63 \pm 3086.73
TV (m/s)	18.75 \pm 1.24	17.47 \pm 1.64
C_d	134.23 \pm 22.06	149.05 \pm 33.80

Color

As seen in Figure 2, the color parameters of the walnuts were affected by the drying application. In comparison to the fresh walnut samples (62.67), the dried walnut samples exhibited a

darker value (68.82). Furthermore, the fresh walnut sample contained lower a^* values (6.54) than the dried walnut samples (7.30). There were statistically significant differences determined for L^* and a^* values of the fresh and dried samples

($p < 0.05$). The b^* value was fresh and dried samples were 27.07 and 26.63 without any significant changes, respectively ($p < 0.05$). The hue angle of the fresh walnut samples (76.47) was closely followed by dried values (74.73). Considering the hue angle of fresh and dried samples presented a significant difference ($p < 0.05$). The C values (27.87 and 27.62, respectively) were almost similar for fresh and dried walnut samples and there were significant changes between the samples ($p < 0.05$). Compared to the fresh walnut sample, the total color difference was determined as 6.3. Altuntas and Erkol (2009) reported the L^* , a^* , b^* , hue

angle, and chroma values (color properties) of Yalova-1, Yalova-3 and Bilecik shelled walnut varieties in different moisture content. Contrary to our study, the 'L' (lightness) color values increased from 50.85 (15.76 %, d.b.) to 55.09 (10.00 %, d.b.) for the Bilecik cultivar; from 39.85 (23.16 %, d.b.) to 56.49 (11.46 %, d.b.) for the Yalova-1 cultivar; from 46.84 (19.47 %, d.b.) to 53.21 (11.25 %, d.b.) for the Yalova-3 cultivar. Furthermore, Hue angle and chroma values of Yalova-1, Yalova-3, and Bilecik cultivars at all moisture levels were slightly lower than Chandler cultivars.

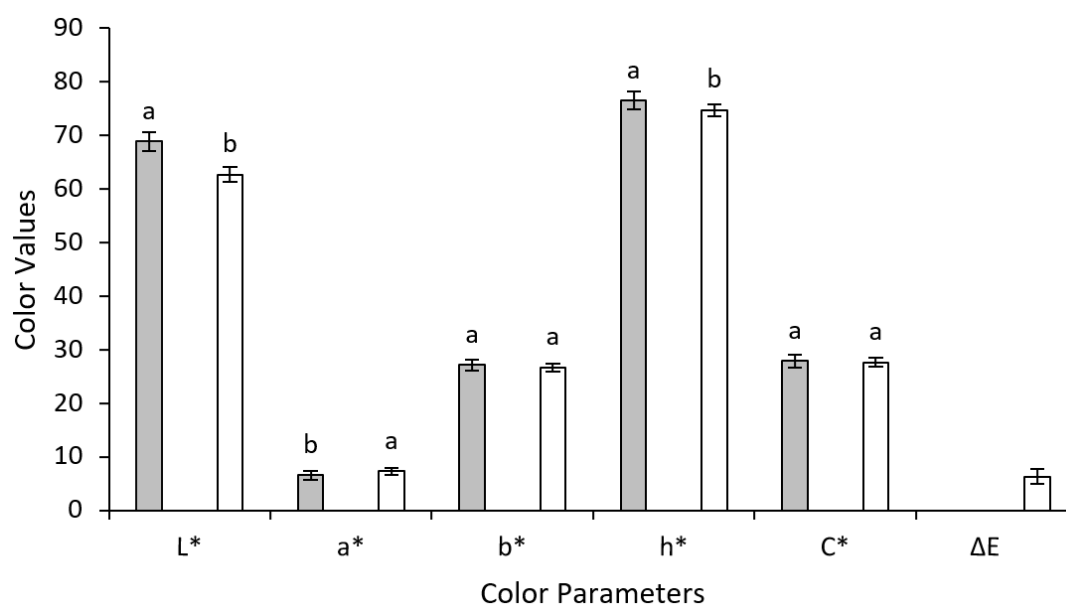


Figure 2. Color values of fresh (grey bars) and dried (white bars) walnuts

Oil quality

The peroxide value and acid value of the fresh and dried walnut oils were researched as shown in Figure 3. For the measurement of peroxide value, the oil sample (1 g) is firstly weighed in a beaker (50 ml), the PV solution (25 ml) is then poured into the beaker and mixed by an electrical agitator. Then the saturated KI solution (1 ml) is added to the solution by 1ml titrator. The solution will be stirred for 1 min and then 10 ml water will be added to the solution immediately. The adding of water is to stop the reaction between KI and oil sample, since the water and acetic are intersoluble, but not with iso-octane. Octane dissolves the oil,

so the adding of water will separate KI with oil peroxides and achieve the purpose of stopping the reaction. As a result of Equation 9, the PV of fresh walnuts were 0.15, which was slightly higher than the dried walnuts (0.12). However, the drying treatment did not differ significantly ($P > 0.05$). At the same time with PV measurements, the AV were also determined. In a typical procedure of the oil sample (1 g) is firstly weighed in a beaker (50 ml), the AV solution (35 ml) is then poured into the beaker and stirred by an electrical agitator. Then 2 drops of Phenolphthalein solution (colorless) is then added to the solution. After mixing, the KOH solution is added gradually by

the titration machine (Titrino plus, model 848, Metrohm Ltd., Switzerland) until the color of the solution turns light purple (which corresponds to approximately pH=10). When the hydrogen ion (H⁺) is completely neutralized by the hydroxide ion (OH⁻), the electrical potent of the solution will change suddenly and the value of KOH added is then automatically recorded. As a result of Equation 10, the AV of fresh and dried walnuts were found 0.064 and 0.060, respectively. Compared with the fresh sample, no significant ($p < 0.05$) decrease was determined in the dried samples. Pakrah et al., (2022) reported the fresh walnut kernels from Hartley, Damavand, Ronde de Montignac, and Pedro cultivars and dried

kernels (sun, 20 °C and 30 °C and) which were grown in Iran. The extracted oil from fresh walnut kernels showed a peroxide value ranging from 0.37 meq/kg to 0.22 meq/kg of oil., with the dried kernels exhibiting a higher oil content when compared to the fresh kernels. Zhou et al., (2018) studied developing an effective drying method for in-shell walnuts (*Juglans regia* L.) with three drying methods. The AV (mg/g) and PV (meq/kg) values of hot air, vacuum, and hot air-assisted radio frequency drying were 0.69 and 0.57, 0.42 and 0.33, 0.44 and 0.38, respectively. The disparity in oil content could be attributed to the country of origin.

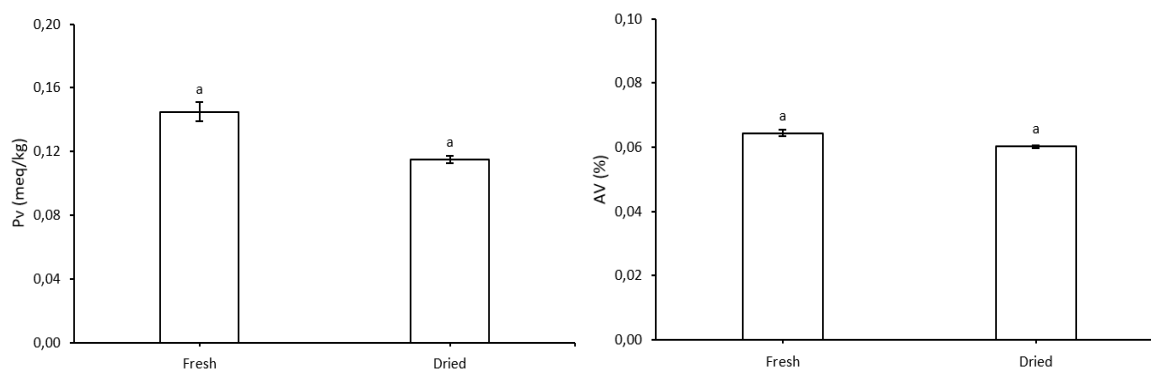


Figure 3. PV and AV of walnuts

Protein content

Figure 4 demonstrates the protein changes in fresh and dried walnuts using industrial drying application. The presented results indicate that the reduced water content during drying led to slightly higher protein levels in the dried samples compared to the fresh ones. The protein contents of fresh and dried samples were determined 13.3 and 13.7%, respectively. There were significant differences between industrial application drying in terms of the contents of protein compared with the fresh samples ($p < 0.05$). Pakrah et al., (2021) tested three drying methods (20 °C, 30 °C, sun drying) on the protein content of Chandler variety walnuts. The sun-drying method resulted in a lower protein content (7.99%), while walnut kernels dried at 20°C exhibited a higher protein content (9.81%). Drying reduced protein content compared to fresh walnut (10.79 %). Han et al., (2019) investigated the protein contents of walnut

after heat drying (60 °C, 105 °C and 140 °C) and freeze-drying (-55 °C) process. As the temperature rose from -55°C to 105°C, the protein values increased by 1.6%. However, with an increase in temperature up to 140°C, a decline in performance was observed. Therefore, the protein content in walnuts reached its highest value at 105°C, reaching 19.6%. The differences in protein content after drying could be explained by drying temperature sensitivity.

Water permeation pathway

During the industrial process, walnut washing time is less than 5 minutes. Therefore, the soaking time was limited to 5 minutes to allow the water to transfer into the walnut samples. Figure 5 presents the alongside cutted non-sealed and sealed walnuts under visible Light and blacklight. The fluorescence dye was run by the ultraviolet and the fluorescence pattern was determined.

Later on soaking times (5 mins) in either wet or dry, no obvious fluorescence pattern was observed within the non-sealed. However, there was a slight water entrance in sealed walnuts. When the initial and final weights of these samples were compared, a weight increase of

0.48% in fresh samples and 4.45% in dry samples was determined. It has been observed that the short-term (5 min) soaking process for cleaning the walnuts in the industry can be considered negligible considering the effect on the fresh product weight increase.

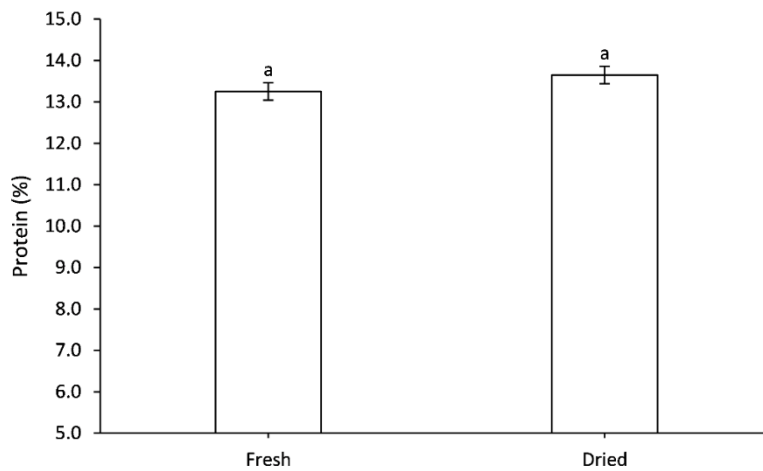


Figure 4. Protein values of walnuts

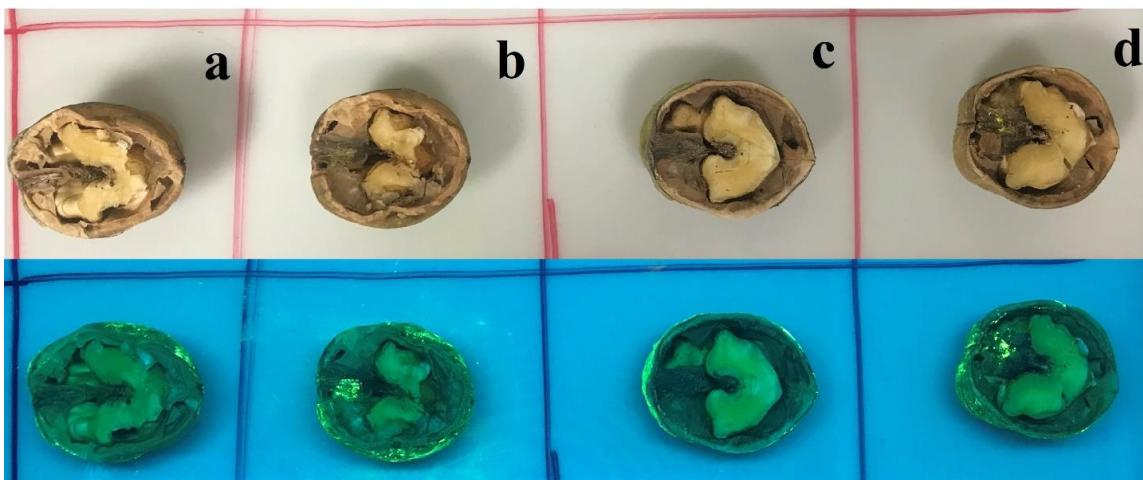


Figure 5. Water permeation of walnuts (fresh before soak (a), fresh after soak (b), dried before soak (c), and dried after soak (d))

Microstructure

The scanning electron microscope (SEM) utilizes a focused electron beam to scan the surface of a sample and generate a high-resolution image. The interaction of electrons in the beam with the sample produces diverse signals, which can be utilized to gather valuable information. SEM images offer essential topography and

composition data to companies spanning from microelectronics to food processing, aiding in product quality assurance, failure analysis, and guiding product development efforts. Figure 6 shows the scanning electron microscopy images for the microstructures of the fresh and dried walnut kernel. It was evaluated as a surface and cross-sectional. Both fresh and dried walnut

kernels of the surface had a smooth surface and no apparent porous structure. However, the cross-sectional images showed that dried walnut had higher porosity and larger pore size than the fresh ones. On the other hand, a slight deterioration in the cell structure of the dried samples was observed regarding the cross-section image. As noted in the prior report, McArthur and

Mattes (2020) observed the internal structure of cotyledons, such as lipid-bearing tissue with transmission electron microscopy (TEM). Although the sizes of walnut, almond, and pistachio cells were comparable (33 μm , 31 μm , and 35 μm , respectively), the raw walnuts exhibited thinner cell walls.

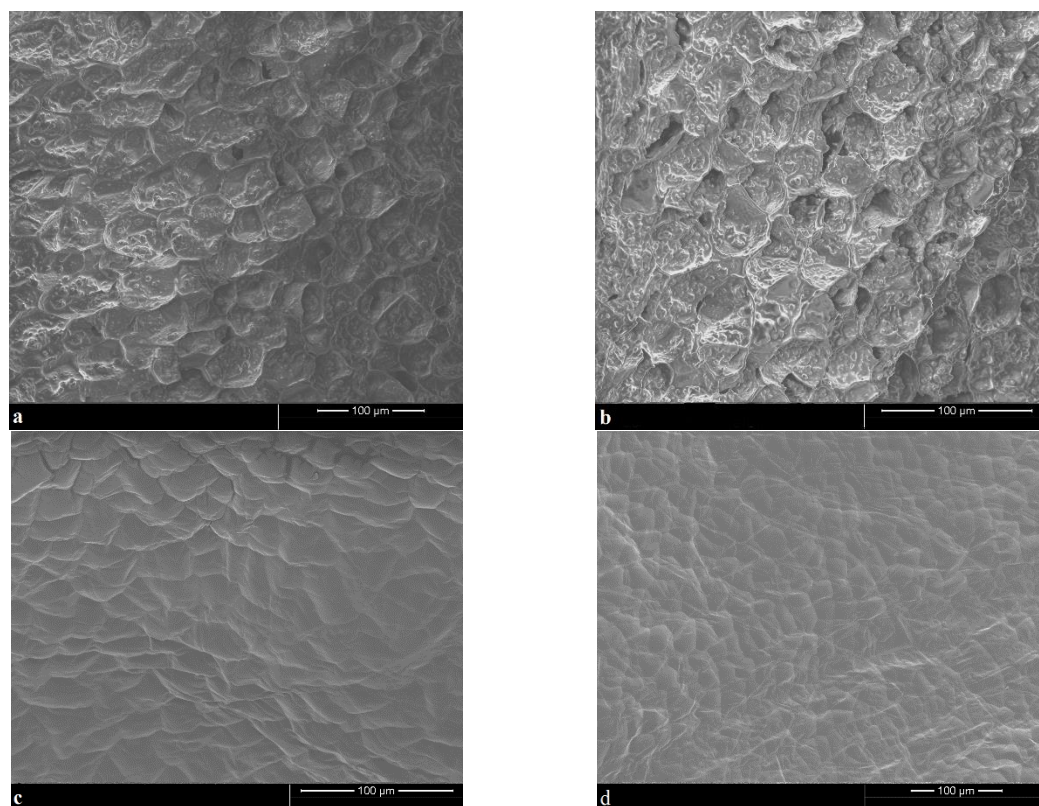


Figure 6. SEM images of walnuts of fresh cross-section (a), dried cross-section (b), fresh surface (c) and dried surface (d)

CONCLUSION

In conclusion, the industrial processing of walnuts was investigated and the quality assessment of fresh and dried walnut kernels was compared. The terminal velocity of fresh walnuts was found greater and with a lighter color value than that of dried walnuts. No significant differences were determined in oil and protein contents between fresh and dried samples ($p < 0.05$). The water permeation showed that the weight of fresh samples increased by 0.48%. A slight deterioration in the cell structure of the dried samples was observed regarding the cross-

section image. Consequently, the overview of the walnuts with the current drying method used in the industry has been revealed.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Onur Taskin: Literature review, Methodology, Data Curation, Analysis, Writing-original draft. Zhongli Pan: Writing-review and editing. All authors read and approved the final manuscript.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by TUBITAK-2219 International Postdoctoral Research Fellowship Program (1059B192000976).

REFERENCES

- Altuntas, E., Erkol, M. (2009). The effect of moisture content on colour characteristics of walnuts. *International Journal of Food Engineering*, 5(2):1-9.
- Altuntas, E., Özkan, Y. (2008). Physical and mechanical properties of some walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *International Journal of Food Engineering*, 4(4):1-14.
- Bremner, J. M. (1965). American Society of Agronomy. Madison, WI.
- Çelik, F., Cimrin, K. M., Kazankaya, A. (2011). Tavas (Denizli) yöresinden selekte edilen ceviz (*Juglans regia* L.) genotiplerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(1):42-48.
- Chen, C., Venkatasamy, C., Zhang, W., Deng, L., Meng, X., Pan, Z. (2020b). Effect of step-down temperature drying on energy consumption and product quality of walnuts, *Journal of Food Engineering*, 110105.
- Chen, C., Venkatasamy, C., Zhang, W., Khir, R., Upadhyaya, S., Pan, Z. (2020c). Effective moisture diffusivity and drying simulation of walnuts under hot air, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 150:119283.
- Chen, C., Weipeng, Z., Venkatasamy, C., Khir, R., McHugh, T., Pan, Z. (2020a). Walnut structure and its influence on the hydration and drying characteristics, *Drying Technology*, 38(8): 975-986.
- Ercisli, S., Mazhar, K. A. R. A., Ozturk, I., Sayinci, B., Kalkan, F. (2011). Comparison of some physico-mechanical nut and kernel properties of two walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(2):227-231.
- FAO (2023). Food and agriculture data. <https://www.fao.org/faostat/en/#home> (Accessed: 16 June 2023).
- Han, Y., Zheng, Y., Li, S., Mo, R., Long, X., Liu, Y. (2019). Effects of drying process with different temperature on the nutritional qualities of walnut (*Juglans regia* L.). *Food Science and Technology Research*, 25(2):167-177.
- Khir, R., Pan, Z. (2019). Walnuts. *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*, 391-411.
- Khir, R., Pan, Z., Atungulu, G. G., Thompson, J. F. (2014). Characterization of physical and aerodynamic properties of walnuts. *Transactions of the ASABE*, 57(1):53-61.
- Khir, R., Pan, Z., Atungulu, G. G., Thompson, J. F., Shao, D. (2013). Size and moisture distribution characteristics of walnuts and their components. *Food and Bioprocess Technology*, 6:771-782.
- Martinez, M. L., Labuckas, D. O., Lamarque, A. L., Maestri, D. M. (2010). Walnut (*Juglans regia* L.): genetic resources, chemistry, by-products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(12):1959-1967.
- Mao, Y., Wang, S. (2021). Simultaneous hot-air assisted radio frequency drying and disinfestation for in-shell walnuts using a two-stage strategy. *LWT*, 151:112134.
- McArthur, B. M., Mattes, R. D. (2020). Energy extraction from nuts: walnuts, almonds and pistachios. *British Journal of Nutrition*, 123(4):361-371.
- Pakrah, S., Rahemi, M., Haghjooyan, R., Nabipour, A., Kakavand, F., Zahedzadeh, F., Vahdati, K. (2022). Comparing physical and biochemical properties of dried and fresh kernels of persian walnut. *Erwerbs-Obstbau*, 64(3):455-462.
- Pakrah, S., Rahemi, M., Nabipour, A., Zahedzadeh, F., Kakavand, F., Vahdati, K. (2021). Sensory and nutritional attributes of Persian walnut kernel influenced by maturity stage, drying method, and cultivar. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(6):e15513.
- Taj, F., Khan, S. A., Dar, A. H., Manzoor, N., Kumar, N., Dwivedi, M., Singh, A., Kumar, M. (2023). Refractance window drying of walnut kernel (*Juglans regia* L.). *Discover Food*, 3(1), 1.

Wang, P., Zhong, L., Yang, H., Zhu, F., Hou, X., Wu, C., Cheng, Y. (2022). Comparative analysis of antioxidant activities between dried and fresh walnut kernels by metabolomic approaches. *LWT*, 155:112875.

Zhou, X., Gao, H., Mitcham, E. J., Wang, S. (2018). Comparative analyses of three

dehydration methods on drying characteristics and oil quality of in-shell walnuts. *Drying Technology*, 36(4):77-490.



PROBİYOTİKLERİN MİKROENKAPSÜLASYONUNDA KULLANILAN YÖNTEMLER VE GIDA TEKNOLOJİSİNDE UYGULAMALARI

Müzeyyen Kalfazade, Kübra Sultan Özdemir*

Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya,
Türkiye

Geliş /Received: 24.05.2022; Kabul /Accepted: 06.10.2023; Online baskı /Published online: 13.10.2023

Kalfazade, M., Özdemir, K.S. (2023). Probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan yöntemler ve gıda teknolojisinde uygulamaları. GIDA (2023) 48 (6) 1143-1159 doi: 10.15237/ gida.GD22054

Kalfazade, M., Özdemir, K.S. (2023). Microencapsulation techniques for probiotics and applications in food technology. GIDA (2023) 48 (6) 1143-1159 doi: 10.15237/ gida.GD22054

ÖZ

Probiyotikler insan vücudunda ve doğada doğal olarak bulunan ve patojen olmayan mikroorganizmalardır. Probiyotik mikroorganizmaların; B ve K vitaminlerini sentezleme, kolon hareketlerini düzenleme, enflamasyonu önleme, kandaki kolesterol seviyesini düşürme ve gastrointestinal sistemde patojen mikroorganizmalara karşı antagonistik etki gösterme gibi insan sağlığına olumlu etkileri vardır. Probiyotiklerin bu olumlu etkilerinden dolayı, gıda takviyesi olarak tüketimi ya da fonksiyonel gıda üretiminde kullanımı son yıllarda artmıştır. Ancak probiyotikler; gıdaların üretimi, işlenmesi ve depolanması sırasında çevre koşullarından olumsuz etkilenebilmektedir. Bu nedenle, probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonu gıda ve ilaç endüstrisi açısından önemli bir konu haline gelmiştir. Mikroenkapsülasyon; biyoaktif bileşenlerin ve mikroorganizmaların çevre koşullarından korunması veya tat-koku gibi özelliklerin maskelenmesi amacıyla taşıyıcı materyaller ile kaplanması işlemidir. Bu derlemede, probiyotik mikroorganizmaların kapsüllenmesinde kullanılan farklı teknikler incelenmiş ve literatürdeki güncel bilgi ve uygulamalar özetlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Mikroenkapsülasyon, probiyotikler, fonksiyonel gıdalar, sağlık

MICROENCAPSULATION TECHNIQUES FOR PROBIOTICS AND APPLICATIONS IN FOOD TECHNOLOGY

ABSTRACT

Probiotics are non-pathogenic microorganisms that occur naturally in the human body and in nature. Probiotics have many benefits for human health such as strengthening the immune system, synthesis B and K vitamins, regulating colonic movements, preventing inflammation, reducing blood cholesterol levels, having an antagonistic effect against pathogenic microorganisms in the gastrointestinal tract. Due to these beneficial effects of probiotics, their consumption as food supplements or their use in functional food production has increased in recent years. However, probiotics can be negatively affected by environmental conditions during the production, processing and storage of foods. Therefore, the microencapsulation of probiotics has become an important issue for food and drug industry. Microencapsulation is coating of the active ingredients with different carrier materials in order to protect them from environmental conditions. In this study, different techniques used in the encapsulation of probiotics are explained and current knowledge and applications in the literature are summarized.

Keywords: Microencapsulation, probiotics, functional foods, health

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉:kubra.ozdemir@gidatarim.edu.tr

☎: (+90) 332 223 5447

Müzeyyen Kalfazade; ORCID no: 0000-0002-0812-2235

Kübra Sultan Özdemir; ORCID no: 0000-0002-7428-1840

GİRİŞ

Probiyotik mikroorganizmalar insan vücudunda doğal olarak bulunmaktadır. Probiyotikler FAO/WHO (2002)'e göre, belirli miktarlarda tüketildiğinde konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan mikroorganizmalardır. Probiyotik olarak bilinen birçok mikroorganizma bulunmakta ancak en bilinenleri *Lactobacillus* (*Lb.*) ve *Bifidobacterium* (*B.*) sınıfı bakteriler ve bazı maya türleridir (Bilginer ve Çetin, 2019). Birçok nedene bağlı olarak insan bağırsağındaki sayıları azalan probiyotik mikroorganizmalar, dışarıdan alınan takviyeler ya da probiyotik içeren gıdalar ile alınarak tekrar optimum seviyeye ulaşabilirler. Ayrıca, probiyotik içerikli gıdalarda canlı probiyotik mikroorganizma sayısının en az 10⁶ kob/g olması ve olumsuz çevre şartlarına karşı proses ve depolama sırasında canlı kalması gerekmektedir (Ghasemi vd., 2022). Son yapılan çalışmalarda, probiyotik mikroorganizmaların proses ve depolama sırasında çevresel koşullara karşı canlılıklarının arttırılmasında mikroenkapsülasyon yöntemlerinin olumlu etkiler gösterdiği belirtilmiştir (Ezekiel vd., 2020; Hadidi vd., 2021).

Probiyotikler; patojen olmayan mikroorganizmalar olup gastrointestinal sistemde patojen mikroorganizmalara karşı antagonistik etki göstermekte, toksin üretmemekte ve antimikrobiyel bileşikler sentezleyebilmektedirler. Probiyotikler aside karşı belli miktarda direnç göstererek kolona geçer, kolon mikrobiyotasını stabilize ederek bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkiler gösterir, T lenfositler ile birlikte enfeksiyonu azaltır, kolon hareketlerini düzenler, kandaki kolesterol seviyesinin düşürülmesini sağlar, ayrıca antibiyotik kullanım sonucu oluşan bağırsak problemlerine karşı olumlu etkiler gösterirler (Barat ve Özcan, 2016). Probiyotikler gastrointestinal sistemdeki patojen mikroorganizmaların kolonize olmasını engeller, antialerjik etki gösterir. Bazı kanser türlerinde prekanseröz hücrelerin kanserojen hücreye dönüşmesini engeller ve enflamatuvar hastalıkların önlenmesinde etki gösterir (Yeşilova vd., 2010). Laktoz intoleransı olan kişilerin bağırsak problemleri üzerinde olumlu etkiler gösterir, ayrıca vücuda B ve K vitamininin

emilmesinde yardımcı olduğu için gıdalardan alınan besinsel değeri artırır. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda probiyotiklerin, kemik erimesini engellediği tespit edilmiştir (Rizzoli ve Biver, 2020).

Probiyotiklerin canlılığının ve stabilitesinin işleme, depolama ve satış aşamalarında korunabilmesi probiyotiklerin tüketildiklerinde yararlı etkilerini gösterebilmeleri açısından kritik öneme sahiptir. Gıdanın işlenmesi sırasında yüksek sıcaklık, kurutma, dondurma, yüksek basınç, asidik ve bazik ortam, aerobik ortam, patojenlerin oluşturduğu stres koşulları, tüketim sonrasındaki gastrointestinal sistemdeki ekstrem koşullar, probiyotiklerin fonksiyonel özelliklerinin göstermesinde karşılaşılan sorunlara örnek olarak verilebilir (Azam vd., 2020). Probiyotikler sadece insan vücudunda değil aynı zamanda yoğurt başta olmak üzere fermente gıdalarda doğal olarak bulunmaktadır. Endüstride çoğunlukla süt ve süt ürünlerine probiyotiklerin eklendiği görülmektedir. Ancak günümüzde, probiyotiklerin meyve suyu (Campos vd., 2019), bakliyat barı (Rajagukguk vd., 2022), dondurma (Çam vd., 2022), yeşil çay (Hernández-Barrueta vd., 2020), çikolata (Silva vd., 2017) ve yumuşak şeker (Miranda vd., 2020) gibi farklı gıda ürünlerinde (Cozentino vd., 2022) kullanımı ile ilgili çalışmalar da yapılmaktadır.

Son yıllarda mikroenkapsülasyon yöntemleri, biyoaktif bileşenlerin ve probiyotik mikroorganizmaların çevre koşullarından korunması ve fonksiyonel gıda tasarımında kullanımı açısından gıda ve ilaç teknolojisinde önemli hale gelmiştir. Mikroenkapsülasyon yöntemi, biyoaktif bileşen ya da hücrenin ortam ile arasında bir bariyer oluşturarak yüksek nem, ısı, oksijen, ışık gibi çevresel koşullar ve gastrointestinal enzimlere karşı korunmasını sağlamaktadır (Arslan-Tontul ve Erbaş, 2017).

Mikroenkapsülasyon aynı zamanda, katı, sıvı ya da gaz halinde bulunan gıda bileşenlerinin, enzimlerin, hücrelerin ve diğer maddelerin protein, yağ, sentetik polimer ya da karbonhidrat bazlı çok küçük kürecikler içinde hapsedilmesi ve kontrollü bir şekilde salınım ile dış ortama

verilmesi olarak tanımlanabilir (Kanat ve Gülel, 2021). Mikroenkapsülasyon bir çeşit immobilizasyon yani tutuklama işlemidir. Mikroenkapsülasyon 60 yıldır kullanılmakta ve kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Sadece gıda alanında değil aynı zamanda eczacılık, kimya, ziraat alanları ve kozmetik sektöründe de kullanılmaktadır. Mikroenkapsülasyon, kontrollü salınım sağlaması, sıvı maddeleri toz forma getirmesi, depolama sırasında stabilizasyon sağlaması, istenmeyen aromaları maskeleymesi, raf ömrünü artırması, gıdalarda oluşan besin kaybını azaltması, probiyotik mikroorganizma ya da aroma gibi hassas maddeleri çevre koşullarından koruması gibi avantajlara sahiptir ve farklı alanlarda kullanıma imkân vermektedir.

Farklı mikroenkapsülasyon teknikleri ile yarı geçirgen, yuvarlak özellikte, içerisindeki madde ya da hücreyi koruyan mikrokapsül ya da mikroküre oluşturulmaktadır. Mikroenkapsülasyon tekniği ile 1 µm'den 1 mm'ye kadar farklı boyutlarda mikrokapsüller üretilebilmektedir. Mikrokapsül iç kısmındaki madde; çekirdek, aktif madde veya iç faz olarak adlandırılırken, dışını oluşturan kısma duvar materyali, taşıyıcı membran ya da kaplama materyali denilmektedir.

Enkapsülasyon yöntemleri için birçok taşıyıcı materyal kullanılabilir. Taşıyıcı materyaller; farklı kaynaklardan ekstrakte edilen polisakaritler (maltodekstrin, modifiye nişasta, siklodekstrin) lipitler, proteinler (sodyum kazeinat, peynir altı suyu proteini, jelatin) ve gamlar (gam arabik, sodyum aljinat, karragenan, guar gam) olarak sıralanabilir (Balcı-Torun, 2019). Enkapsülasyon sırasında kullanılacak taşıyıcı materyalin sahip olduğu özellikler son ürün için istenilen özellikleri büyük oranda etkilemektedir. Taşıyıcı materyallerin sahip olması gereken belli başlı özellikler bulunmaktadır. Bu özellikler; iyi film oluşturma, yüksek konsantrasyonlarda düşük viskozite özellikleri gösterme, yüksek çözünürlüğe sahip olma, maliyet açısından uygun olma, gıdaya uygunluk gösterme yani toksik özellik göstermeme, inert olma ve emülsifiye edilebilir özellikte olma şeklinde söylenebilir (Balcı-Torun, 2019; Özgüner-Kabak, 2019).

Bu derlemede, probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonunda kullanılan yöntemler detaylı olarak açıklanmış ve gıda teknolojisinde kullanımı ile ilgili çalışmalar aşağıda özetlenmiştir. Bu alanda yaygın olarak kullanılan yöntemler püskürterek kurutma, püskürterek soğutma ya da dondurma, dondurarak kurutma, ekstrüzyon ve emülsiyondur (Tao vd., 2019; Abedinia vd., 2021).

PROBİYOTİK İÇEREN GIDA ÜRÜNLERİ ve TAKVİYELER

Yıllar içerisinde probiyotikler ile ilgili araştırmaların artması ve sağlık üzerine olumlu etkilerinin gözlenmesi sonucunda gıda takviyeleri olarak kapsül, tablet, sıvı ve toz formlarda tüketimlerinin yanında gıda ürünlerine eklenerek tüketimi de önemli bir alan olarak ortaya çıkmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların eklendiği ilk gıda ürünü yoğurt olup ilerleyen zamanlarda probiyotik içeren çeşitli süt ürünleri geliştirilmiştir. Bu ürünler tüketiciler tarafından oldukça büyük bir ilgi görmüştür. Ayrıca son yıllarda süt ürünlerinden farklı gıda ürünlerinde (çikolata, tahıl barları, içecekler, yumuşak şekerler) probiyotik kullanılarak fonksiyonel gıda ürünleri çeşitlendirilmeye başlanmıştır. Böylelikle probiyotik ürün kaynakları takviyeler ve fonksiyonel gıdalar olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Fakat bu iki gruptan hangisinin daha etkin olduğu halen araştırma konusu olmakla beraber yapılan araştırmalarda her ikisinin de hastalıklardan korunmak için tüketiminin olumlu etki gösterdiği düşünülmektedir. Fonksiyonel gıdalar, takviyelerden farklı olarak gıda bileşenlerinin tamponlama özelliği göstermesinden dolayı probiyotik mikroorganizmaların canlı kalmasını teşvik etmekte ve probiyotiklerin gıda bileşenleri ile sinerjik etki göstererek yüksek canlılıklarını korunması olarak söylenebilir (Homayoni Rad vd., 2016). Ayrıca yapılan araştırmalar sonucunda toplumlarda genel kullanım ve hastalıklardan korunmak için probiyotik gıdaların kullanımı, ancak terapötik uygulamalarda ise takviyelerin kullanımı daha çok önerilmektedir (Mollakhalili vd., 2017).

Gıdalarda ve takviyelerde kullanılacak birçok probiyotik suş gerektiği kadar kararlı yapı

gösterememektedir. Kullanılacak suşlar gıda ve takviye üretim proseslerinin koşullarına karşı ve gastrointestinal sistemin ekstrem koşullarına tolerans göstermelidir. Bu nedenle enkapsülasyon teknikleri probiyotik suşların kararsızlığının önüne geçilmesi için son zamanlarda kullanılan bir yöntem olarak da kullanılmaktadır (Meybodi vd., 2017).

PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN ENKAPSÜLASYONUNDA KULLANILAN YÖNTEMLER ve UYGULAMALAR

Probiyotik mikroorganizmaların enkapsülasyonunda kullanılan yöntemler ve bazı uygulamalar Çizelge 1’de verilmiştir. Ayrıca uygulanan yöntemler sırasıyla açıklanmıştır.

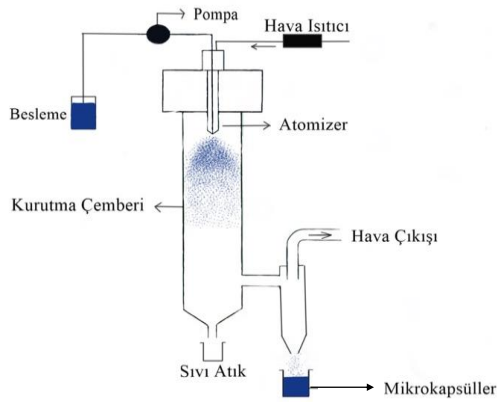
Çizelge 1. Gıda ürünlerinde probiyotik bakteri enkapsülasyonunda kullanılan yöntemler

Gıda Ürünü	Probiyotik Bakteri	Kaplama materyali	Uygulanan Metot	Kaynak
Meyveli içecek	<i>Lb.reuteri</i> DSM 17938	Meyve pulpu- maltodekstrin	Püskürterek Kurutma	Santos Monteiro vd. (2020)
Badem sütü	<i>Lb.plantarum</i> ATCC8014	Badem sütü- maltodekstrin	Püskürterek Kurutma	Lipan vd. (2020)
Yumuşak keçi peyniri	<i>Lb.plantarum</i> 564	Yağsız süt	Püskürterek Kurutma	Radulovic vd. (2017)
Kefir	<i>Lb. plantarum</i> 21805	Konjuge peynir altı suyu protein izolatu ve dekstran	Püskürterek Kurutma	Guo vd.(2022)
Krem peynir	<i>Lb.acidophilus</i> La-5	Katı pamuk yağı	Püskürterek Dondurma	Silva vd. (2022)
Tahıl barı	<i>Lb.scidophilus</i> <i>B.animalis subsp. lactis</i> (BL)	Bitkisel katı yağ	Püskürterek Dondurma	Bampi vd. (2016)
Çikolata	<i>Lb.casei</i> , <i>Lb.acidophilus</i> <i>Lb.rhamnosus</i> , <i>Lb.plantarum</i> <i>Lb.sanfranciscensis</i> <i>B.lactis</i> <i>S.thermophilus</i>	Na-aljinat Na-aljinat-Fos	Dondurarak Kurutma	Hossain vd. (2021)
Çikolata	<i>Lb.rhamnosus</i>	Aljinat, FOS, Peptit, Jelatin	Ekstrüzyon	Ünal-Turhan vd. (2019b)
Portakal suyu	<i>Lb.lactis</i> ABRIINW-N19	Aljinat- Fars zamkı Aljinat- Fars zamkı-FOS Aljinat- Fars zamkı-İnülin	Ekstrüzyon	Nami vd. (2020)
Keçiboynuzu pekmezi	<i>Lb.rhamnosus</i>	Aljinat çözeltisi	Ekstrüzyon	Ünal-Turhan, E.(2021)
Geleneksel Sucuk	<i>Lb.plantarum</i> <i>Lb.rhamnosus</i>	Sodyum aljinat, FOS, Jellan zamkı, Jelatin, Peptit	Ekstrüzyon	Ünal-Turhan vd. (2019a)
Elma suyu Yoğurt	<i>Lb.rhamnosus</i> GG	Bitkisel yağ Aljinat	Emülsiyon	Romero-Chapol vd.(2022)
Glutensiz ekmek	<i>Lb.plantarum</i> ATCC-14917 <i>Lb.acidophilus</i> NRRLB-4495	Kitre zamkı Sago nişastası Ayçiçek yağı	Emülsiyon	Ghasemi vd.(2022)

Püskürterek (Sprey) Kurutma Yöntemi

Mikroorganizmaların enkapsüle edilerek endüstriyel üretimine ilk olarak 1950 yılında başlanmıştır. Püskürterek kurutma, gıda sanayisinde sıvı ürünlerden toz ürünler elde etme amacıyla kullanılan en eski ve en ekonomik yöntemlerden biridir. Püskürterek kurutmanın, sürekli çalışılabilir ve ekonomik bir üretim yöntemi olması, probiyotiklerin endüstriyel ölçekte enkapsülasyonuna olanak sağlamaktadır (Misra vd., 2021).

Püskürterek kurutma ile enkapsülasyonda; çalışılmak istenilen aktif maddeyi içeren emülsiyon oluşturulur ve sonrasında sıcak hava ortamına bir nozul yardımıyla püskürtülerek su buharlaştırılır ve ürün toz forma dönüştürülür. Kurutma sonucunda oluşan kapsülün merkez kısmında aktif madde ya da hücre, dış kabuk kısmında ise taşıyıcı materyal bulunur. Taşıyıcı olarak sıklıkla suda çözünebilir karbonhidratlar, proteinler ve türevleri kullanılmaktadır (Arslan Tontul, 2017). Püskürterek kurutma sisteminin şematik gösterimi Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. Püskürterek kurutma sistemi

Literatürde probiyotik bakterilerin püskürterek kurutma ile enkapsülasyonu konusunda oldukça fazla çalışma mevcuttur. Santos Monteiro vd. (2020) yaptıkları çalışmada, *Lb. reuteri* DSM 17938 probiyotik bakterisini püskürterek kurutma ile mikroenkapsüle etmişler ve elde ettikleri kapsülleri çarkifelek meyve suyu üretiminde

kullanmışlardır. Araştırmada taşıyıcı madde olarak maltodekstrin, jelatin ve çarkifelek meyve posası kullanmışlar ve işlem sırasında giriş sıcaklığı ve çıkış sıcaklığını sırasıyla 112°C ve 74°C olarak belirlemişlerdir. Meyveli içecek içerisindeki probiyotik bakterilerin farklı sıcaklıklar (10-20-30°C) ve farklı pH'larda (3.18; 5.5; 6.5) canlılık stabilitelelerini izlemişler ve sonuç olarak *Lb. reuteri* gelişimi için en iyi koşulların pH 3.18 ve 30°C olduğunu tespit etmişlerdir.

Bir başka çalışmada Lipan vd. (2020), *Lb. plantarum* (ATCC8014) bakterisini maltodekstrin içerisinde püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsüle ederek badem sütüne eklemişlerdir. Enkapsülasyon işlemi için üç farklı giriş sıcaklığı (170°C, 180°C ve 190°C) ve üç farklı çıkış sıcaklığı (57.3°C, 59.6°C ve 62.3°C) kullanılmıştır. Depolama sırasında probiyotik canlılığın takibi yapılarak 7 log kob/g canlı bakteri sayısının korunması için optimum koşulların 4°C’de 8 ay ve 22°C’de ise 6 ay olduğunu tespit etmişlerdir.

Radulović vd. (2017), *Lb. plantarum* 564 probiyotik bakterisini püskürterek kurutma ile mikroenkapsüle ederek yumuşak keçi peynirine eklemişlerdir. Bu işlem için taşıyıcı olarak rekonstitüe yağsız süt kullanmışlar, püskürterek kurutma koşulları olarak 170°C giriş ve 80°C çıkış sıcaklığı belirlemişlerdir. Sonrasında mikroenkapsüle edilmiş ve edilmemiş probiyotik bakteriler, keçi sütü peynirine eklenmiş ve raf ömrü süresince stabilitelelerini izlemişlerdir. 8 haftalık depolama sonunda kapsüllenmiş probiyotik bakteri içeren peynirde 8.82 log kob/g canlı bakteri bulunurken serbest formda bakteri içeren peynirde ise 6.9 log kob/g bakteri bulunmuştur. Araştırmacılar mikroenkapsülasyon işleminin probiyotik bakteriler üzerinde önemli bir koruyucu etkisinin olduğunu bildirmiştir.

Püskürterek (sprey) dondurma/soğutma yöntemi

Son zamanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanan püskürterek dondurma yöntemi diğer mikroenkapsülasyon yöntemlerine nazaran daha yeni bir yöntemdir. Diğer yöntemlerden farklı olarak duvar materyali için hidrofobik özellik

gösteren taşıyıcı maddeler kullanılmaktadır (Favaro-Trindade vd., 2021). Hidrofobik özellik gösteren maddelere örnek olarak; mumlar, fosfolipitler, hidrojenize yağlar, fitosteroller ve yağ asitleri verilebilir (Silva vd., 2022).

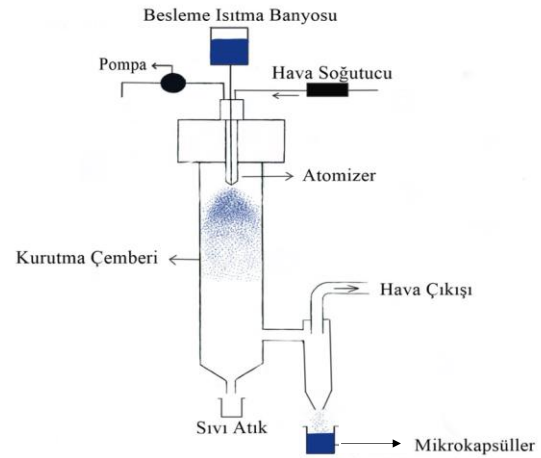
Lipitlerin; insan vücudunda sindiriminin ilk olarak ince bağırsakta lipaz enzimi ile başlaması ve yine ince bağırsakta sonlanmasından dolayı kapsüllerin, midede ekstrem koşullara dayanıklılık göstermesi bu yöntemin en büyük avantajlarından birisidir (Okuro vd., 2013). Aynı zamanda organik çözücü kullanımı gerektirmez ve yüksek sıcaklık yerine düşük sıcaklık koşulları kullanıldığı için probiyotiklerin ve yüksek sıcaklığa karşı hassas biyomoleküllerin enkapsülasyonuna imkân tanır. Ayrıca püskürterek soğutma tekniği, aktif ilaç bileşenlerinin enkapsülasyonunda düşük maliyetli bir süreç olduğu için kullanılabilen, kolaylıkla küçük ölçekten büyük ölçüğe dönüştürülebilmekte ve organik çözücülere ihtiyaç duyulmamaktadır (Favaro-Trindade vd., 2021). Bunlar gibi birçok avantajı nedeniyle püskürterek dondurma yöntemi gıda ve eczacılıkta yaygın olarak kullanım alanı bulmuştur. Özellikle eczacılıkta vitaminler, peptitler, mineraller ve enzimler gibi hassas biyomoleküllerin püskürterek dondurma ile enkapsüle edilmesi yaygınlaşmıştır (Arslan-Tontul ve Erbaş, 2017).

Bu yöntemin prensibi; taşıyıcı olan lipit madde ve kapsüllenmek istenen çekirdek maddeden oluşan dispersiyonun, soğuk hava ya da sıvı nitrojen bulunan ortama nozul ile atomize edilmesidir. Yöntem sırasında düşük sıcaklıklar kullanıldığı için ısıya duyarlı maddelerin (enzimler, vitaminler, aromalar, pigmentler, antioksidanlar vb.) ve probiyotiklerin kapsüllenmesi için uygun bir yöntemdir (Figueiredo vd., 2021).

Püskürterek dondurma yöntemi temel olarak 3 adımdan oluşmaktadır. İlk adım, çekirdek materyal olarak seçilen maddenin erime sıcaklığının üzerinde bir sıcaklıkta bekletilerek eritilmiş duvar materyali içerisine dispersiyonunun yapılması işlemidir. İkinci adım, emülsiyonun nozul yardımıyla soğuk bir ortama atomize edilmesi ve son adım olarak ise nozuldan

püskürtülen damlaların katılarak istenilen kapsüllerin elde edilmesidir (Favaro-Trindade vd., 2021). Püskürterek dondurma sistemi Şekil 2'de verilmiştir.

Püskürterek soğutma yöntemi, püskürterek dondurma ile aynı prensibe dayanmakta olup, mikrokapsüllerin üretimi için ideal bir yöntemdir. Gıda, kozmetik ve farmasötik alanlarında kullanılmaktadır (Favaro-Trindade vd., 2021). Genellikle püskürterek dondurmadan farklı bir yöntem olduğu düşünülür. Püskürterek dondurmada erime sıcaklığı 32-42°C olan hidrofobik taşıyıcılar kullanılırken püskürterek soğutma yönteminde ise erime sıcaklığı 45-122°C olan hidrofobik taşıyıcılar kullanılmaktadır (Arslan-Tontul ve Erbaş, 2017).



Şekil 2. Püskürterek dondurma yöntemi

Literatürde püskürterek dondurma yöntemiyle probiyotiklerin enkapsülasyonu ve çeşitli ürünlerde kullanımı ile ilgili çalışmalar mevcuttur.

De Lara Pedroso vd. (2013), taşıyıcı madde olarak seçtiği kakao yağında *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BI-01) ve *Lb. acidophilus* (LAC-04) bakterilerini püskürterek dondurma yöntemi ile kapsüllemişlerdir. Kapsüller -18°C, 7°C ve 20°C sıcaklıklarda 90 gün boyunca depolanmış stabilite ve gastrointestinal sisteme dayanıklılıkları takip edilmiştir. Kapsüllememiş *Lb. acidophilus* hücreleri 20°C'de 30. gün sonrasında ve 7°C'de 60. gün sonrasında canlılıklarını

kaybetmiştir. Buna karşın enkapsüle *Lb. acidophilus* -18°C'de 90 günlük depolama sonunda 6.6 log kob/g canlılık göstermiştir. *B. animalis* subsp. *Lactis* ise 90 gün depolama ve 3 farklı sıcaklık değerlerinde canlılık göstermiştir. 90 gün depolamanın sonunda 20°C'de 3.8 log kob/g, 7°C'de 5.2 log kob/g, -18°C'de ise 7.3 log kob/g olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, püskürterek dondurma yönteminin probiyotik canlılığı olumlu yönde etkilediği anlaşılmıştır.

Başka bir çalışmada Bampi vd. (2016), *Lb. acidophilus* ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterilerini bitkisel katı yağ kullanarak püskürterek dondurma yöntemiyle kapsüllemiş ve bu kapsülleri tuzlu tahıl barında kullanarak probiyotik tahıl barı geliştirmiştir. Sonuçlara göre her iki probiyotik bakteride kapsüllemiş halde tuzlu tahıl barına eklendiğinde 4°C'de 105 günlük depolama boyunca 7 log kob/g seviyesinde canlılığını korumuştur.

Bir başka çalışmada ise Silva vd. (2022), taşıyıcı olarak pamuk yağı ile *Lb. acidophilus* La-5 bakterisini püskürterek dondurma ile kapsüllemişler ve tuz içeriği azaltılmış krem peynirde kullanmışlardır. Tuz içeriği azaltılmış ve enkapsüle probiyotik bakteri içeren peynir örneğinde gastrointestinal koşullarda probiyotik bakteri canlılığı ≥ 6 log kob/g olarak belirlenmiştir. Probiyotiklerin püskürterek dondurma tekniği ile kapsüllemeye peynirde kullanılması yenilikçi bir yöntem olarak kabul edilmiştir.

De Lara Pedroso vd. (2012), taşıyıcı yağ olarak palm ve palm çekirdeği yağını 47.5°C'de eriterek, *B. lactis* (BI-01) ve *Lb. acidophilus* (LAC-04) bakterilerini püskürterek soğutma yöntemi ile kapsüllemişlerdir. Erimeş palm yağına %1 lesitin, 7 log kob/g canlı probiyotik bakteri eklenmiş ve 10°C'lik ortama atomizasyon yapılmıştır. Serbest ve enkapsüle formdaki bakterilerin canlılıkları farklı raf ömrü koşullarında incelenmiştir. 37°C depolama sıcaklığına karşın 7°C ve -18°C sıcaklıklarda depolama sonucunda probiyotik bakterilerin canlılığı daha yüksek belirlenmiştir. Ayrıca bakterilerin gastrointestinal sistemdeki canlılıkları da simüle edilmiş gastrik ve intestinal

sıvılarla belirlenmiştir. Sonuç olarak *B. lactis* bakterisinin hem serbest hem de kapsüllü formu gastrointestinal koşullara dirençli çıkmış, enkapsüle formda canlılıkta sadece 0.7 log kob/g azalma gözlenirken, serbest formda bu oran 1.3 log kob/g a yükselmiştir. Çalışma sonucunda palm yağında püskürterek soğutma yöntemi ile probiyotik bakteri enkapsülasyonu gelecek vadedmiştir.

Dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemi

Liyofilizasyon yönteminin geçmişi çok eski yıllara dayanmaktadır. 1880 yılında sağlık alanında laboratuvar ölçekli kullanılmaya başlanmış ve bu durum 1930 yılına kadar devam etmiştir. Gıda ve eczacılık gibi alanlarda kullanımı daha yakın tarihlerde başlanmış olup farklı ürün çeşitleri üzerinde uygulamaları geliştirilmektedir (Karagül ve Altuntaş, 2018).

Dondurarak kurutma, gıda ve farmasötik alanlarında çok önemli bir mikroenkapsülasyon teknolojisidir. Vitaminler, pigmentler, flavonoid maddeler, balık yağı ve probiyotik bakteri hücreleri gibi yüksek sıcaklığa karşı hassas bileşenler için en kullanışlı ve popüler yöntemdir (Ezhilarasi vd., 2013). Liyofilizasyon yöntemi sayesinde ürünlerin stabilitesi iyileşir, muhafazası kolaylaşır, katma değerli ürünler üretilebilir ve çevresel koşulların neden olduğu olumsuz etkiler azaltılarak raf ömrü uzatılabilir (Kawasaki vd., 2019).

Dondurarak kurutma yöntemi; dondurma, birincil kurutma ve ikincil kurutma olmak üzere temel olarak 3 aşamadan oluşmaktadır (Kawasaki vd., 2019). İlk aşama olan dondurma aşaması en önemli aşama olarak sayılabilir. Çünkü dondurma aşamasında dondurma sıcaklığı ve dondurma hızı kritik proses parametreleri olduğu için oluşan yapılar son ürünün kalitesini ve sonraki kurutma parametrelerini etkilemektedir. Dondurma işlemi sayesinde çözücü kısım ile çözünen kısım ayrılmaktadır. Burada kullanılacak süspansiyon çözeltinin sıcaklığı, suyun üçlü noktası (0.006 atm basınç ve 273.16 K sıcaklık) altındaki sıcaklıklara kadar düşürülmesi gerekmektedir (Özdemir vd., 2021). Böylece serbest su olarak bilinen su buz kristallerine dönüşür. İkinci aşama olan birincil

kurutma aşamasında katı fazdaki buz süblimleştirilir. Birincil kurutma aşaması en uzun süre gerektiren aşamadır (Kawasaki vd., 2019). Son aşama olan ikincil kurutma aşamasında ise önceki aşamalarda süblimleşememiş bağlı suyun uzaklaştırılması sağlanmaktadır. Böylece elde edilecek son ürünün su içeriği istenen düzeye indirilir (Kawasaki vd., 2019).

Dondurarak kurutma işlemi sırasında hücrenin membranında bulunan lipitlerin ve proteinlerin yapısı etkilenebilmekte ve probiyotik hücrenin canlılığı da azalabilmektedir. Dondurarak kurutma sırasındaki olumsuz etkileri ortadan kaldırmak için ortama kriyoprotektan maddeler eklenebilmektedir. Genellikle; yağsız süt, şekerler (ksilooligosakkarit, fruktoz, laktoz, mannoz, trehaloz, sakkaroz ve glüköz), aminoasitler (arjinin, glisin) ve sodyum bikarbonat kriyoprotektan madde olarak kullanılmaktadır (Chen vd., 2019; Romyasamit vd., 2021).

Dondurarak kurutmanın en büyük dezavantajı, birincil kurutma aşamasında gerekli olan yüksek enerji ve yatırım maliyetidir. Bu nedenle bu aşama dikkatli bir şekilde planlanmalı ve gerçekleştirilmelidir (Kawasaki vd., 2019). Literatürde probiyotik bakterilerin dondurarak kurutma ile enkapsülasyonu ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur.

Hossain vd. (2021), *Lb. casei* 431, *Lb. acidophilus* La5, *Lb. rhamnosus* LGG, *Lb. plantarum*, *Lb. sanfranciscensis*, *B. animalis* subsp. *lactis* (Bb12) ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerini Na-aljinat ve Na-aljinat-fruktooligosakkarit ile birlikte farklı oranlarda kullanarak kapsüllemişler ve 7 farklı kakao tozu formülasyonu geliştirmişlerdir. Oluşturulan formülasyonlar çikolata üretiminde kullanılmıştır. Genel olarak formülasyonların çoğunda 7 log kob/g canlılık gözlemlenmiştir. Ayrıca *Lb. casei* 431 ve *Lb. acidophilus* La5 içeren formülasyonlar en yüksek kapsülleme verimliliği göstermiştir. Araştırmacılar liyofilizasyon tekniği kullanılarak probiyotik ile zenginleştirilmiş çikolata üretiminin yenilikçi ve gelecek vadeden bir ürün olarak nitelendirmişlerdir.

Başka bir çalışmada Sornsenee vd. (2022), *Lactocaseibacillus paracasei* T0901 bakterisini ilk önce dondurarak kurutmuş ve bir probiyotik toz elde etmiştir. Daha sonra elde edilen probiyotik toz, yeşil muz tozuna eklenerek probiyotik içeren yeşil muz tozu elde edilmiştir. Karışım probiyotikli içecek oluşturmak için kullanılmıştır. Liyofilize halde probiyotik canlılığı düşük pH ortamlarında (pH 2 ve 3), %0,3'lük safra tuzu, pepsin, pankreatin içeren ortamlarda ayrı ayrı takip edilmiş ve ayrıca probiyotik hücrelerin tutunma yeteneği ve hidrofobikliği ölçülmüştür. Ayrıca probiyotikli yeşil muz tozu oda sıcaklığında 60 gün depolanarak depolama süresince hücre canlılığı takip edilmiştir. 60 gün sonunda oda sıcaklığında 7,10 log kob/g canlılık tespit edilmiştir. Böylece probiyotikli yeşil muz tozunun, fonksiyonel gıda olarak kullanılabilceği belirlenmiştir.

Sun vd. (2023) yaptıkları çalışmada *Lb. plantarum* 299v bakterisini duvar materyali olarak peynir altı suyu proteini ve denatüre peynir altı suyu proteini kullanarak probiyotik elma suyu denemesi yapmışlardır. Raf ömrü olarak 4°C sıcaklık seçerek 6 hafta boyunca gözlem yapmışlardır. 6 hafta sonunda 1:1 oranında duvar materyalini içeren hücreler en yüksek canlılığı (yaklaşık olarak 9 log kob/g) göstermişlerdir.

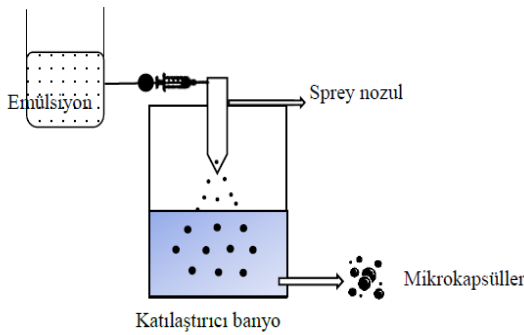
Ekstrüzyon yöntemi

Ekstrüzyon yöntemi biyoaktif bileşiklerin ve bakterilerin enkapsülasyonu için oldukça sık kullanılan bir yöntemdir. Ekstrüzyonun diğer enkapsülasyon yöntemlerine göre daha basit, kullanımı kolay, uygun maliyetli bir yöntem olması ve küçük boyutta kapsüller oluşturması büyük avantaj sağlamaktadır (Nami vd., 2020).

Bu işlem, biyoaktif madde ile taşıyıcı materyalinin karışımından oluşmaktadır. Karışım, ekipmanın ekstrüzyon nozulundan geçmekte ve hızlı bir şekilde katılaştırma banyosunda kapsül haline dönüşmektedir (Whelehan ve Marison 2011; Heidebach vd. 2012). Bu tekniğin avantajları çözücü ve yüksek sıcaklıkların kullanılmamasıdır. Ancak mikrokapsül üretim hızının düşük olması ve endüstriyel boyuta dönüştürebilme zorluğu bu yöntemin dezavantajlarıdır (Heinzen vd. 2004;

Burgain vd. (2011). Oluşturulacak mikrokapsüllerin boyutu kullanılacak enjektör iğnesinin boyutuna bağlıdır. Ayrıca ekstrüzyon yöntemi probiyotik hücelere zarar vermemekte, böylece yüksek canlılık elde edilebilmekte ve aerobik ve anaerobik koşullarda yürütülebilmektedir. Kullanımı için elde edilmek istenen ürüne uygun hidrokolloidler seçilebilmektedir. En yaygın kullanılan taşıyıcı maddeler; sodyum aljinat, peynir altı suyu proteinleri, ksantan zımkı, jellan zımkı, nişasta, pektin, kitosan, jelatin ve kolajendir (Frakolaki vd., 2021).

Ekstrüzyon yöntemiyle probiyotik mikroorganizma enkapsülasyonu Şekil 3'te gösterilen şekilde yapılmaktadır.



Şekil 3. Ekstrüzyon yöntemi şematik gösterimi

Nami vd. (2020), *Lactococcus lactis* ABRIINW-N19 hücrelerini, ekstrüzyon yöntemiyle enkapsüle ederek portakal suyunda kullanmışlardır. Kaplama materyali olarak aljinat, Fars zımkı, FOS ve inülin farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda kullanılarak 7 farklı formülasyon oluşturulmuştur. Sonuç olarak tüm formülasyonlarda %98'in üzerinde bir kapsülleme verimliliği ve 4°C'de 6 hafta depolama sonucunda yüksek canlı hücre stabilitesi (%61) elde etmişlerdir.

Ünal-Turhan vd. (2019a), *Lb. rhamnosus* probiyotik bakterisini ekstrüzyon yöntemiyle kapsüllemiş ve 6 aylık depolama boyunca geleneksel sucukta oluşan biyojen aminlerin miktarına depolama süresi ve probiyotik bakteri etkisini araştırmışlardır. Biyojen amin miktarının depolama süresi ile arttığını ancak *Lb. plantarum* bakterisi ile *Lb. rhamnosus*'un beraber kullanımının

biyojen aminler üzerinde etkili bir azalma gösterdiğini belirlemişlerdir.

Castro-Rosas vd. (2021), *Lb. paracasei* bakterisi %2 aljinat solüsyonu ve %1,25 ayçiçek yağı duvar materyali olarak kullanılmış ve ekstrüzyon yöntemi ile mikrokapsüller oluşturulmuştur. Kapsüllerin bir kısmı daha sonra liyofilize edilmiştir. Oluşturulan probiyotik kapsüller ve serbest probiyotik bakteri 6 hafta boyunca 4°C ve 30°C olmak üzere iki farklı depolama sıcaklığında saklanmıştır. Liyofilize mikrokapsüller 4°C'de %89,2 30°C'de %86,1 canlılık göstererek en iyi sonuçları vermiştir. Mikrokapsüllü probiyotiklere verimlilik, morfoloji, gastrointestinal koşullara dayanıklılık gibi farklı analizler yapılmıştır. Ayrıca kapsüllenmiş probiyotik bakteri ve serbest probiyotik bakteri çilekli dondurma formülasyonuna eklenerek çilekli probiyotik dondurma yapılmıştır. Dondurma 4 hafta boyunca depolanmış ve 6 log/kob canlı bakteri elde edilmiştir. Böylece tüketici için yararlı ürün elde edilmiştir.

Emülsiyon yöntemi

Emülsiyon yöntemi diğer yöntemlere göre daha yakın zamanda kullanılmaya başlanan bir enkapsülasyon yöntemidir. Probiyotik bakterilerin kapsüllemesi için tekli ya da ikili emülsiyon olmak üzere iki farklı emülsiyon kullanılabilir. Tekli emülsiyonlar, bitkisel yağ (sürekli faz) içerisine belirli miktarda serbest probiyotik bakteri hücreleri ve hidrokolloid madde (dağılmış faz) eklenerek emülsiyon çözeltisi elde edilmesi ile oluşturulmaktadır. Çözelti, yağ içinde su emülsiyonu ya da su içinde yağ emülsiyonu oluşana kadar homojenize edilmektedir. Emülsiyonun yapısını iyileştirmek için sürfaktanlar kullanılabilir (El-Salam ve El-Shibiny, 2015; Rodrigues vd., 2020).

İkili emülsiyon oluşturmak için ilk aşamada tipik su/yağ (veya yağ/su) birincil emülsiyonu hazırlanır. Daha sonra tekli emülsiyon çözeltisine uygun bir yüzey aktif madde eklenir ve emülsiyonun ortalama damlacık boyutunda önemli bir azalma sağlamak için genellikle yüksek basınçlı homojenizasyon işlemine tabi tutulur. Hazırlanan ikili emülsiyon çözeltisine, kalsiyum

klorür çözeltisi yavaş yavaş eklenir. Eklenen kalsiyum klorür çözeltisi sertleştirici görevi görerek ikili emülsiyon çözeltisinde çözünmüş olan polimerlerin çözünmez hale gelmesini sağlamaktadır. Bu işlemler sonunda kapsüller oluşmaktadır (Huq vd., 2013; Riaz ve Masud, 2013; El-Salam ve El-Shibiny, 2015). Emülsiyon yöntemi ile enkapsülasyon işleminin uygulanması kolaydır ve bakteri canlılık oranı yüksektir. Emülsiyon yönteminde elde edilen kapsüller 25µm-2mm boyutundadır. Oluşan kapsül boyutu küçük olduğu için ince doku, pürüzsüz bir yapı ve görünüm elde edilmektedir. Bu avantajlar sayesinde gıdalarda kullanım kolaylığı elde edilmektedir. Ayrıca emülsiyon yöntemi kolayca ölçeklendirilebilmektedir. Fakat homojen bir emülsiyon oluşturmak için yapılan karıştırma işleminde probiyotik bakterilerin hücre zarı zarar görebilmektedir. Ayrıca bu yöntemde, bitkisel yağ kullanımından dolayı ekstrüzyon gibi enkapsülasyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında maliyetli bir yöntem olabilmektedir (Huq vd., 2013; Riaz ve Masud, 2013; Cai vd., 2014; El-Salam ve El-Shibiny, 2015; Altamirano-Ríos vd., 2022).

Emülsiyon oluşturma, pigmentlerin ve probiyotiklerin enkapsülasyonu için uygun bir yöntemdir (Koşay,2020; Loyeau vd., 2021). Kullanılan bitkisel yağın çeşidi ve damlacık boyutu gastrointestinal sistemde salınım hızını büyük oranda etkilemektedir (Jiang ve Charcosset, 2022).

Romero-Chapol vd. (2022), yaptıkları çalışmada laktoz intoleransı olan bireyler için enkapsüle probiyotik bakteri içeren yoğurt ve elma suyu üretimini araştırmışlardır. Bakteri olarak *Lactocaseibacillus rhammosus* GG ve taşıyıcı materyal olarak bitkisel yağ-aljinat karışımını kullanmışlardır. Sonuç olarak elma suyunda 22 gün boyunca 4°C'de depolama koşullarında ve yoğurtta 30 gün boyunca 4°C depolama koşullarında her iki ürün içinde %80'in üzerinde canlılık tespit etmişlerdir.

Ghasemi vd. (2022), *L. acidophilus* (NRRL B-4495) ve *L. plantarum* (ATCC-14917) probiyotik bakterilerini ayçiçek yağı, sago nişastası ve kitre zıncığı ile emülsiyon yöntemini kullanarak

enkapsüle etmiş ve glutensiz, probiyotik bakteri içeren sorgum ekmeği yapmışlardır. Sonuç olarak ekmekte probiyotik bakteri kullanımı pişirme ve depolama boyunca ekmeğin daha iyi nem tutmasını sağlamış ve bayatlamayı geciktirmiştir.

Pickering yöntemi ile probiyotiklerin enkapsülasyonu

Emülsiyonlar gıda ve farmasötik alanlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Emülsiyonların kararsız yapıya sahip olmaları nedeniyle raf ömrü boyunca stabil kalmaları için stabilizatörlerin kullanılması gerekmektedir. Pickering emülsiyonları katı partiküllerin kullanılması ile stabilize yapı özelliği gösteren emülsiyon sistemleridir. Pickering hakkında ilk çalışma Ramsden (1904) tarafından yapılmıştır. Ancak Pickering (1907) tarafından yapılan öncü çalışma nedeniyle adını Pickering emülsiyonu olarak almıştır. Bu yöntem son 15 yıldır artan ilgiyle pek çok farklı alanda bilimsel çalışmalara konu olmaktadır. 2000-2018 yılları arasında Pickering emülsiyonları hakkında çalışma oranı %0.05'ten %8'e yükselmiştir. Bu oranın artmasının nedeni Pickering emülsiyonunun normal emülsiyon sistemlerine göre daha çekici özellikler taşıması ile ilgilidir. Bu özellikler olağanüstü oksijen bariyeri özelliği göstermesi, eklendiği gıdaya uzun süreli stabilizasyon sağlaması, emülsiyon filmi özelliği göstermesi, gıda matrisi ile uyumlu olması, geleneksel emülsiyon sistemlerine oranla daha iyi oksidatif stabilite göstermesi, vitamin ve aroma gibi hassas maddeleri koruma özelliği göstermesi, gastrointestinal sistemdeki pH, enzim ve iyonlar gibi dış faktörlere karşı kontrol sağlayarak kapsüllenen biyoaktif bileşenin ya da probiyotik bakterinin istenen bölgede salınımını sağlaması, su temasını sınırlaması, çeşitli gıdaların yapısını değiştirmesi ve tokluk sağlayarak obezite tedavisinde tüketicilere alternatif sunması olarak söylenebilmektedir (Albert vd., 2019; Huang vd., 2019; Mwangi vd., 2020).

Pickering emülsiyonlarında polisakkaritler, proteinler ve lipitler kullanılabilir. Selüloz, kitin, kitosan, aljinat, siklodekstrinler, nişasta gibi maddeler polisakkarit olarak, jelatin, keratin, laktoferrin, laktoglobulin, bezelye proteini, soya proteini, peynir altı suyu proteini, zein gibi

maddeler ise protein olarak kullanılabilir. Lipitler ile ilgili protein ve polisakkaritlere kıyasla daha az araştırma yapılmıştır ve daha az kullanılmaktadır. Lipidler, farklı yapılarda Pickering emülsiyonları oluşturulabilmektedir. Bunlar suda yağ emülsiyonu ve yağ içinde su emülsiyonu olarak sınıflandırılabilirler.

Qin vd., (2021), yaptıkları çalışmada yüksek iç fazlı pickering emülsiyonu yöntemi ile peynir altı suyu protein izolatu epigallokateşin-3-gallat ve yağ fazı olarak orta zincirli trigliserit (MCT) kullanarak *Lb. plantarum* probiyotik hücrelerini enkapsüle etmişlerdir. Probiyotik bakterinin simüle edilmiş gastrointestinal sistemde ve depolamada (4°C sıcaklıkta 14 gün) canlılığı gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, partikül konsantrasyonu %3'ün üzerine çıkarıldığında probiyotik canlılığını olumlu yönde etkilemiştir. Ayrıca depolama ve gastrointestinal koşullar sonunda toplam hücre canlılığı yaklaşık 3×10^7 kob/mL olarak tespit edilmiştir.

Kompleks koaservasyon yöntemi ile probiyotiklerin enkapsülasyonu

Kompleks koaservasyon elektrostatik olarak zıt yüklere sahip polimerlerin (ör. protein ve polisakkarit) belirli spesifik koşullar altında bir araya gelmesiyle oluşturulan bir çözeltidir. Bu koşullar; pH, iyonik kuvvet, kullanılan biyopolimerin konsantrasyonu, oranı ve molekül ağırlığı, sıcaklık ve homojenizasyon derecesi olarak söylenebilir (Da Silva vd., 2018; Eratte vd., 2018). Bu yöntem sayesinde biyoaktif madde ya da hücre etrafında koaservat birikerek mikro küre oluşumu sağlanır (Gouin, 2004). Oluşturulan kapsüllerin boyutu mikro ve nano olarak ayrılmaktadır. Ayrıca kapsüller toksik olmamalı, biyoyumlu olmalı ve kontrollü salınım özelliği göstermelidir (Kaushik vd., 2016).

Kompleks koaservasyon yöntemi iyi uyum gösterebilen, yüksek kapsülleme verimliliği olan, düşük maliyetli, organik çözücü kullanımı ve ekstrem reaksiyon koşulları gerektirmeyen bir yöntemdir (Da Silva vd., 2018; Eratte vd., 2018). Kullanılan proteinlere; jelatin, albümin, peynir altı suyu proteini, β -laktoglobulin örnek olarak verilebilirken, polisakkaritlere ise arap zımkı,

pektin, kitosan, aljinat, ksantan zımkı ve karragenan örnek gösterilebilir. Kompleks koaservasyon işleminden sonra genellikle püskürtülerek kurutma ya da dondurarak kurutma yapılmaktadır. Bunun nedeni kapsülü oluşturmak değil suyu uzaklaştırmaktır. Kapsüllerin boyutu kompleks koaservasyon işleminden sonra gözlemlenmektedir. Oluşturulan koaservat çözeltinin sınırlı bir pH, sıcaklık ve iyonik güç aralığında stabil özellik göstermesi kompleks koaservasyon yönteminin dezavantajıdır (Eratta vd., 2018).

Da Silva vd. (2018) yaptıkları çalışmada *B. lactis* Bb-12'yi ilk önce kompleks koaservasyon yöntemi uygulayıp ardından dondurarak kurutma kullanarak enkapsüle etmiş ve oluşan kapsüllerin morfolojisini, boyutunu, *in vitro* salınımını ve simüle gastrointestinal sistem koşullarında canlılığını incelemiştir. Çalışma sonucunda, kapsülleme verimliliği kompleks koaservasyon uygulanması sonunda %99.52 ve kompleks koaservasyondan sonra dondurarak kurutma uygulanması sonunda %86.04 olarak belirlenmiştir. Bu azalmanın, kurutma koşullarından bazı canlı hücrelerin zarar görmesinden kaynaklı olabileceği belirtilmiştir. Oda sıcaklığı koşullarında 90 günlük depolama sonunda probiyotik canlılığı sadece kompleks koaservasyon uygulandığında 6.6 log kob/g seviyesinde tespit edilirken hem kompleks koaservasyon ve sonrasında dondurarak kurutularak elde edilen kapsüllerde 9.45 log kob/g seviyesinde tespit edilmiştir. Dondurarak kurutma ile ortamdaki uzaklaştırılan su sayesinde probiyotik canlılığının daha iyi korunduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda kompleks koaservasyon yönteminin probiyotik enkapsülasyonu için uygun yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.

Elektrosprey yöntemi

Elektro-hidrokinamik proses çeşitlerinden biri olan elektrosprey yöntemi son yıllarda probiyotik enkapsülasyonu için diğer enkapsülasyon yöntemlerine alternatif bir kapsülleme yöntemidir. Elektrosprey yöntemi probiyotiklerin canlılığını olumsuz etkilemeden oda sıcaklığında enkapsülasyon sağlamaktadır. Ayrıca birden fazla kapsülleme bileşeni kullanma imkânı, yüksek

kapsülleme verimliliği ve yüksek probiyotik canlılığı gibi özellikler taşımasından dolayı diğer enkapsülasyon yöntemlerinden ayrılmaktadır. Fakat yüksek yatırım maliyeti ve henüz sanayileşmemiş bir yöntem olması gibi dezavantajları da mevcuttur (Mendes ve Chronakis, 2021).

Bu teknikte yüksek voltaj sayesinde oluşan elektrostatik kuvvet, polimer çözeltiyi nozuldan ince damlacıklar şeklinde atomize eder ve çözelti ince damlacık şekline dönüşürken çözücü buharlaştırılır. İnce damlacıklar nozuldan toplayıcı denilen bölüme geçer ve bu sırada katılaşma meydana gelir. Oluşan damlacıkların boyutu 1µm'den daha küçüktür (Jaworek, 2008; Pérez-Masiá vd., 2014; Zaeim vd., 2018). Oluşturulan damlacıkların boyutunun değiştirilmesi için uygulanan voltaj, akış hızı ve nozuldan toplayıcıya olan mesafe gibi faktörlerin optimize edilmesi gerekmektedir (Enayati vd., 2011). Oluşturulan çözeltinin elektrospreyleme kabiliyeti viskozite, yüzey gerilimi, iletkenlik ve dielektrik sabiti gibi faktörlere bağlıdır.

Taşıyıcı materyallerin seçimi elektrosprey yönteminde oldukça fazla önem taşımaktadır. Çünkü kullanılacak materyalin polielektrolit doğasının bilinmesi gerekmektedir. Aljinat, akasya zamkı ve kitosan gibi farklı polisakkaritler ile soya proteini konsantresi, patates proteini ve peynir altı suyu proteini gibi protein çeşitleri elektrosprey yönteminde taşıyıcı materyal olarak kullanılabilir (González-Ferrero vd., 2018; Zaeim vd., 2018; Zaeim vd., 2019; Mendes ve Chronakis vd., 2021).

Zaeim vd., (2018), yaptıkları çalışmada *Lb. plantarum* ATCC 8014 bakterisini farklı oranlarda (%20-25-30-35 ve 40) hazırlanmış akasya zamkı çözeltisi ile 19 kV voltaj kullanarak enkapsüle etmişlerdir. Enkapsülasyon sonunda probiyotik canlılığı ve morfoloji incelenmiştir. Analizler sonucunda taşıyıcı olarak %30'luk akasya zamkı kullanılan kapsüllerin maksimum iletkenliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Morfoloji analizi sonuçlarına göre ise en düzgün küresel yapıya %35 akasya zamkı çözeltisi kullanılan kapsüllerin

sahip olduğu belirlenmiştir. Probiyotik bakteri canlılığı ise %96 oranında tespit edilmiştir.

SONUÇ

Bilim ve teknolojinin gelişmesiyle birlikte gıda endüstrisinde probiyotik kullanımı ve probiyotik içeren fonksiyonel gıda üretimi popüler hale gelmiştir. Probiyotik bakterilerin canlılıklarının gıda işleme ve depolama süresince korumak amacıyla çeşitli mikroenkapsülasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin temeli probiyotik hücreyi, proses sırasında ve gastrointestinal sistemde ekstrem koşullardan korumak ve bakterilerden vücuda sağlayacağı en yüksek verimlilikte yarar sağlamaktır. Enkapsülasyon yöntemleri kullanılan sıcaklık, taşıyıcı materyal, ekipman ve uygulama kolaylığı, zorluğu gibi özellikler ile birbirinden ayrılmaktadır. Son üründe istenen özelliklere bağlı olarak mikroenkapsülasyon yöntemi seçilebilir ya da birbiri ile kombine olarak kullanılabilir. Literatür incelendiğinde çeşitli gıda ürünlerine enkapsüle probiyotik bakterilerin eklendiği görülmektedir ve gelecek yıllarda da konu ile ilgili çalışmaların artış göstereceği öngörülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZAR KATKILARI

Her iki yazar da makalenin yazılmasında ve düzenlenmesinde eşit katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

Abedinia, A., Alimohammadi, F., Teymori, F., Razgardani, N., Saedi Asl, M. R., Ariffin, F., roslan, j. (2021). Characterization and cell viability of probiotic/prebiotics film based on duck feet gelation: a novel poultry gelatin as a suitable matrix for probiotics. *Foods*, 10(8), 1761.

Albert, C., Beladjine, M., Tsapis, N., Fattal, E., Agnely, F., Huang, N. (2019). Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release*, 309, 302-332.

- Altamirano-Ríos, A. V., Guadarrama-Lezama, A. Y., Arroyo-Maya, I. J., Hernández-Álvarez, A. J., Orozco-Villafuerte, J. (2022). Effect of encapsulation methods and materials on the survival and viability of *Lactobacillus acidophilus*: A review. *International Journal of Food Science Technology*, 57(7), 4027-4040.
- Arslan-Tontul, S., Erbaş, M. (2017). Biyoaktif gıda bileşenlerinin püskürterek dondurma yöntemi ile mikroenkapsülasyonu. *GIDA*, 43(1), 11-20.
- Arslan-Tontul, S. (2017). Probiyotik mikroorganizmaların püskürterek dondurma ve kurutma teknikleriyle mikroenkapsüle edilerek probiyotik kek üretiminde kullanım imkanlarının araştırılması. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Antalya, Türkiye, 153s.
- Azam, M., Saeed, M., Pasha, I., Shahid, M. (2020). A prebiotic-based biopolymeric encapsulation system for improved survival of *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Bioscience*, 37, 100679.
- Balcı-Torun, F. (2019). Farklı enkapsülasyon yöntemleri kullanılarak elde edilen aroma kapsüllerinin depolama stabilitesinin ve gıda katkı maddesi kullanımının araştırılması. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Antalya, Türkiye, 211s.
- Bampi, G.B., Backes, G.T., Cansian, R.L. de Matos, F.E., Ansolin, I.M.A., Poletto, B.C., Favaro-Trindade, C.S. (2016). Spray chilling microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and its use in the preparation of savory probiotic cereal bars. *Food and Bioprocess Technology*, 9(8), 1422-1428.
- Barat, A., Özcan, T. (2016). Fermente süt ieeğinde probiyotik bakterilerin gelişimi üzerine meyve ilavesinin etkisi. *Journal of Agriculture Faculty of Ege University*, 53(3), 259-267.
- Bilginer, H., etin, B. (2019). Probiyotikler ve belirlenmelerinde kullanılan in vitro testler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(3), 312-325.
- Cai, S., Zhao, M., Fang, Y., Nishinari, K., Phillips, G. O., Jiang, F. (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* CGMCC1.2686 via emulsification/internal gelation of alginate using Ca-EDTA and CaCO₃ as calcium sources. *Food hydrocolloids*, 39, 295-300.
- Campos, R.C.D.A.B., Martins, E.M.F., de Andrade Pires, B., Peluzio, M.D.C.G., da Rocha Campos, A.N., Ramos, A.M., Martins, M. L. (2019). In vitro and in vivo resistance of *Lactobacillus rhamnosus* GG carried by a mixed pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill) and jussara (*Enterpe edulis* Martius) juice to the gastrointestinal tract. *Food Research International*, 116, 1247-1257.
- Castro-Rosas, J., Gómez-Aldapa, C. A., Chávez-Urbiola, E. A., Hernández-Bautista, M., Rodríguez-Marín, M. L., Cabrera-Canales, Z. E., Falfán-Cortés, R. N. (2021). Characterisation, storage viability, and application of microspheres with *Lactobacillus paracasei* obtained by the extrusion technique. *International Journal of Food Science Technology*, 56(4), 1809-1817.
- Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, C., Marzo, F., del Carmen Villarán, M. (2010). Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1-2), 185-189.
- Chen, H., Tian, M., Chen, L., Cui, X., Meng, J., Shu, G. (2019). Optimization of composite cryoprotectant for freeze-drying *Bifidobacterium bifidum* BB01 by response surface methodology. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 47(1), 1559-1569.
- Cozentino, I.D.S.C., de Paula, A.V., Riberio, C.A. Alonso, J.D., Grimaldi, R., Luccas, V., Cavallini, D.C.U. (2022). Development of a potentially functional chocolate spread containing probiotics and structured triglycerides. *LWT-Food Science and Technology*, 154, 112746.
- am, G., Akın, N., Konak Göktepe, ., Demirci, T. (2022). Pea (*Pisum sativum* L.) pod powder as a potential enhancer of probiotic *Enterococcus faecium* M74 in ice cream and its physicochemical, structural, and sensory effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(6):3184-3193.
- De Lara Pedroso, D., Thomazini, M., Heinemann, R.J.B., Favaro-Trindade, C.S. (2012).

- Protection of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* by microencapsulation using spray-chilling. *International Dairy Journal*, 26(2), 127-132.
- De Lara Pedroso, Dogenski, M., Thomazini, M., Heinemann, R.J.B., Favaro-Trindade, C.S. (2013). Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and *Lactobacillus acidophilus* in cocoa butter using spray chilling technology. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(3), 777-783.
- Da Silva, T. M., Lopes, E. J., Codevilla, C. F., Cichoski, A. J., de Moraes Flores, É. M., Motta, M. H., ... de Menezes, C. R. (2018). Development and characterization of microcapsules containing *Bifidobacterium* Bb-12 produced by complex coacervation followed by freeze drying. *LWT-Food Science and Technology*, 90, 412-417.
- El-Salam, A., Mohamed, H., El-Shibiny, S. (2015). Preparation and properties of milk proteins-based encapsulated probiotics: a review. *Dairy Science and Technology*, 95(4), 393-412.
- Enayati, M., Chang, M. W., Bragman, F., Edirisinghe, M., Stride, E. (2011). Electrohydrodynamic preparation of particles, capsules and bubbles for biomedical engineering applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 382(1-3), 154-164.
- Eratte, D., Dowling, K., Barrow, C. J., Adhikari, B. (2018). Recent advances in the microencapsulation of omega-3 oil and probiotic bacteria through complex coacervation: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 71, 121-131.
- Ezekiel, O. O., Okechie, I.D., Adedeji, O. E. (2020). Visibility of *Lactobacillus rhamnosus* GG in simulated gastrointestinal conditions and after baking White pan bread at different temperature and time regimes. *Current Microbiology*, 77(12), 3869-3877.
- Ezhilarasi, P.N., Karthik, P., Chhanwal, N., Anandharamkrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 63(3), 628-647.
- FAO, 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. World Health Organization-Food and Agriculture Organization of the United Nations, London, Ontario, Canada.
- Favaro-Trindade, C.S., de Matos Junior, F. E., Okuro, P. K., Dias-Ferreira, J., Cano, A., Severino, P., Souto, E. B. (2021). Encapsulation of active pharmaceutical ingredients in lipid micro/nanoparticles for oral administration by spray-cooling. *Pharmaceutics*, 13(8), 1186.
- Figueiredo, J., dePaula Silva, C. R., Oliveira, M. F. S., Norcino, L. B., Campelo, P. H., Botrel, D. A., Borges, S. V. (2021). Microencapsulation by spray chilling in the food industry: Opportunities, challenges and innovations. *Trends in Food Science Technology*, 120, 274-287.
- Frakolaki, G., Kekes, T., Lympaki, F., Giannou, V., Tzia, C. (2021). Use of encapsulated *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* through extrusion or emulsification for the production of probiotic yogurt. *Journal of Food Process Engineering*, e13792.
- Ghasemi, L., Nouri, L., Mohammadi Nafchi, A., Al-Hassan, A.A. (2022). The effects of encapsulated probiotic bacteria on the physicochemical properties, staling and viability of probiotic bacteria in gluten-free bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(3), e16359.
- González-Ferrero, C., Irache, J. M., González-Navarro, C. J. (2018). Soybean protein-based microparticles for oral delivery of probiotics with improved stability during storage and gut resistance. *Food Chemistry*, 239, 879-888.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15(7-8), 330-347.
- Guo, Q., Li, S., Tang, J., Chang, S., Qiang, L., Du, G., Yuan, Y. (2022). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* by spray drying: Protective effects during simulated food processing, gastrointestinal conditions, and in kefir. *International Journal of Biological Macromolecules*, 194, 539-545.
- Hadidi, M., Majidiyan, N., Jelyani, A. Z., Moreno, A., Hadian, Z., Mousavi Khanegah, A. (2021). Alginate/fish gelatin* encapsulated *Lactobacillus*

- acidophilus*: A study on viability and technological quality of bread during baking and storage. *Foods*, 10(9), 2215.
- Hernández-Barrueta, T., Martínez-Bustos, F., Castaño-Tostado, E., Lee, Y., Miller, M. J., Amaya-Llano, S. L. (2020). Encapsulation of probiotics in whey protein isolate and modified huauzontle's starch: An approach to avoid fermentation and stabilize polyphenol compounds in a ready-to-drink probiotic green tea. *LWT-Food Science and Technology*, 124, 109131.
- Homayoni Rad, A., Vaghef Mehrabany, E., Alipoor, B., Vaghef Mehrabany, L. (2016). The comparison of food and supplement as probiotic delivery vehicles. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, (56)6, 896-909.
- Hossain, M.N., Ranadheera, C.S., Fang, Z., Ajlouni, S. (2021). Impact of encapsulation probiotics with cocoa powder on the viability of probiotics during chocolate processing, storage, and in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Food Science*, 86(5), 1629–1641.
- Huang, X. N., Zhu, J. J., Xi, Y. K., Yin, S. W., Ngai, T., Yang, X. Q. (2019). Protein-based Pickering high internal phase emulsions as nutraceutical vehicles of and the template for advanced materials: A perspective paper. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(35), 9719-9726.
- Huq, T., Khan, A., Khan, R. A., Riedl, B., Lacroix, M. (2013). Encapsulation of probiotic bacteria in biopolymeric system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(9), 909-916.
- Jaworek, A., Sobczyk, A. T. (2008). Electro spraying route to nanotechnology: An overview. *Journal of Electrostatics*, 66(3–4), 197–219.
- Jiang, T., Charcosset, C. (2022). Encapsulation of curcumin within oil-in-water emulsion prepared by premix membrane emulsification: Impact of droplet size and carrier oil type on physicochemical stability and in vitro bioaccessibility. *Food Chemistry*, 375, 131825.
- Kanat, S., Gülel, G.T. (2021). Mikroenkapsülasyon ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları. *Aydın Gastronomy*, 5(1), 81-89.
- Karagül, M. S., Altuntaş, B. (2018). Liyofilizasyon: genel proses değerlendirmesi. *Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 29(1), 62-69.
- Kaushik, P., Dowling, K., McKnight, S., Barrow, C. J., Adhikari, B. (2016). Microencapsulation of flaxseed oil in flaxseed protein and flaxseed gum complex coacervates. *Food Research International*, 86, 1-8.
- Kawasaki, H., Shimanouchi, T., Kimura, Y. (2019). Recent development of optimization of lyophilization process. *Journal of Chemistry*, 9502856.
- Koşay, R. (2020). Antosiyanin ekstraktlarının çift emülsiyon yöntemiyle enkapsülasyonu. Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüleri Ortak Yüksek Lisans Programı Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Osmaniye, Türkiye, 105s.
- Lipan, L., Rusu, B., Sendra, E., Hernández, F., Vázquez-Araújo, L., Vodnar, D.C., Carbonell-Barrchina, A.A. (2020). Spray drying and storage of probiotic-enriched almond milk: probiotic survival and physicochemical properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(9).
- Loyeau, P. A., Spotti, M. J., Vinderola, G., Carrara, C. R. (2021). Encapsulation of potential probiotic and canola oil through emulsification and ionotropic gelation, using protein/polysaccharides maillard conjugates as emulsifiers. *LWT-Food Science and Technology*, 150, 111980.
- Mendes, A. C., Chronakis, I. S. (2021). Electrohydrodynamic encapsulation of probiotics: a review. *Food Hydrocolloids*, 117, 106688.
- Meybodi, N. M., Mortazavian, A. (2017). Probiotic supplements and food products: a comparative approach. *Biochemical Pharmacology*, 6(2), 1-7.
- Miranda, J. S., Costa, B. V., de Oliveira, I. V., de Lima, D. C. N., Martins, E. M. F., Júnior, B. R. D. C. L., ... Martins, M. L. (2020). Probiotic jelly candies enriched with native Atlantic Forest fruits and *Bacillus coagulans* GBI-30 6086. *LWT-Food Science and Technology*, 126, 109275.

- Misra, S., Pandey, P., Mishra, H. N. (2021). Novel approaches for co-encapsulation of probiotic bacteria with bioactive compounds, their health benefits and functional food product development: a review. *Trends in Food Science Technology*, 109, 340-351.
- Mollakhalili, M. N., Mortazavian, A. M., SOHRABVANDI, S., CRUZ, A. G. D., Mohammadi, R. (2017). Probiotic supplements and food products: Comparison for different targets. *Applied Food Biotechnology*, 4(3), 123-132.
- Moreno, J. S., Dima, P., Chronakis, I. S., Mendes, A. C. (2021). Electrosprayed ethyl cellulose core-shell microcapsules for the encapsulation of probiotics. *Pharmaceutics*, 14(1), 7.
- Mwangi, W. W., Lim, H. P., Low, L. E., Tey, B. T., Chan, E. S. (2020). Food-grade Pickering emulsions for encapsulation and delivery of bioactives. *Trends in Food Science Technology*, 100, 320-332.
- Nami, Y., Lornezhad, G., Kiani, A., Abdullah, N., Haghshenas, B. (2020). Alginate-Persian gum-prebiotics microencapsulation impacts on the survival rate of *Lactococcus lactis* ABRIINW-N19 in orange juice. *LWT-Food Science and Technology*, 124, 109190.
- Okuro, P.K. de Matos Junior, F.E., Favaro-Trindade, C.S. (2013). Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. *Food Technology and Biotechnology*, 51(2), 171.
- Özdemir, E.E., Görgüç, A., Gençdağ, E., Yılmaz, F.M. (2021). Püskürtmeli kurutma ve dondurarak kurutma yöntemlerinin temelleri ve bu yöntemler ile gıda atıklarından toz ürünlerin üretimi. *Gıda*, 46(3), 583-607.
- Özgüner-Kabak, M. (2019). Meyan kökünde bulunan bazı biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu üzerine farklı yöntemlerin etkisinin araştırılması. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Antalya, Türkiye, 91s.
- Pérez-Masiá, R., Lagaron, J. M., & López-Rubio, A. (2014). Development and optimization of novel encapsulation structures of interest in functional foods through electrospraying. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 3236-3245.
- Pickering, S. U. (1907). Cxcvi.—emulsions. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 91, 2001-2021.
- Qin, X. S., Gao, Q. Y., Luo, Z. G. (2021). Enhancing the storage and gastrointestinal passage viability of probiotic powder (*Lactobacillus plantarum*) through encapsulation with pickering high internal phase emulsions stabilized with WPI-EGCG covalent conjugate nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 116, 106658.
- Rajagukguk, Y. V., Arnold, M., Sidor, A., Kulczyński, B., Brzozowska, A., Schmidt, M., Gramza-Michalowska, A. (2022). Antioxidant activity, probiotic survivability, and sensory properties of a phenolic-rich pulse snack bar enriched with *Lactiplantibacillus plantarum*. *Foods*, 11(3), 309.
- Radulavić, Z., Miočinović, N., Mirković, M., Paunović, D., Ivanović, M., Seratlić, S. (2017). Survival of spray-dried and free-cells of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* 564 in soft goat cheese. *Animal Science Journal*, 88(11), 1849-1854.
- Ramsden, W. (1904). Separation of solids in the surface-layers of solutions and 'suspensions' (observations on surface-membranes, bubbles, emulsions, and mechanical coagulation).—Preliminary account. *Proceedings of the Royal Society of London*, 72(477-486), 156-164.
- Riaz, Q. U. A., Masud, T. (2013). Recent trends and applications of encapsulating materials for probiotic stability. *Critical Reviews in Food Science And Nutrition*, 53(3), 231-244.
- Rizzoli, R., Biver, E. (2020). Are probiotics the new calcium and vitamin D for bone health? *Current Osteoporosis Reports*, 18(3), 273-284.
- Rodrigues, F. J., Cedran, M. F., Bicas, J. L., Sato, H. H. (2020). Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications—A narrative review. *Food Research International*, 137, 109682.
- Romero-Chapol, O.O., Varela-Pérez, A., Castillo-Olmos, A.G., García, H.S., Singh, J., García-

- Ramírez, P.J., Cano-Sarmiento, C. (2022). Encapsulation of *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG: Probiotic survival, in vitro digestion and viability in apple juice and yogurt. *Applied Sciences*, 12(4), 2141.
- Romyasamit, C., Saengsuwan, P., Boonserm, P., Thamjarongwong, B., Singkhamanan, K. (2022). Optimization of cryoprotectants for freeze-dried potential probiotic *Enterococcus faecalis* and evaluation of its storage stability. *Drying Technology*, 40:11, 2283-2292.
- Santos Monteiro, S., Albertina Silva Beserra, Y., Miguel Lisboa Oliveira, H., Pasquali, M.A.D.B. (2020). Production of probiotic passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Deg.) drink using *Lactobacillus reuteri* and Microencapsulation via spray drying. *Foods*, 9(3),335.
- Silva, M. P., Tulini, F. L., Marinho, J. F., Mazzocato, M. C., De Martinis, E. C., Luccas, V., Favaro-Trindade, C. S. (2017). Semisweet chocolate as a vehicle for the probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA3 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BLC1: Evaluation of chocolate stability and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 640-647.
- Silva, R., Pimentel, T.C., de Matos Junior, F.E., Esmerino, E.A., Freitas, M.Q., Fávoro-Trindade, C.S., Cruz, A.G. (2022). Microencapsulation with spray-chilling as an innovative strategy for probiotic low sodium rewueijão cremoso processed chesee processing. *Food Bioscience*, 46, 101517.
- Silva, K.K.D.P., de Souza Queirós, M., Riberio, A. P. B., Gigante, M. L. (2022). Modified milk fat as encapsulating material for the probiotic microorganism *Lactobacillus acidophilus* LA3. *International Dairy Journal*, 105237.
- Sornsenee, P., Chimplee, S., Saengsuwan, P., Romyasamit, C. (2022). Characterization of probiotic properties and development of banana powder enriched with freeze-dried *Lactocaseibacillus paracasei* probiotics. *Heliyon*, 8(10), e11063.
- Sun, W.; Nguyen, Q.D.; Süli, B.K.; Alarawi, F.; Szécsi, A.; Gupta, V.K.; Friedrich, L.F.; Gere, A.; Bujna, E. (2023). Microencapsulation and Application of Probiotic Bacteria *Lactiplantibacillus plantarum* 299v Strain. *Microorganisms*, 11, 947.
- Tao, T., Ding, Z., Hou, D., Prakash, S., Zhao, Y., Fan, Z., Han, J. (2019). Influence of polysaccharide as co-encapsulant on powder characteristics, survival and viability of microencapsulated *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 252,10-17.
- Ünal-Turhan, E., Erginkaya, Z., Benli, H., Akın, M.B., Agcam, E. (2019a). The effects of microencapsulated *L. rhamnosus* and storage on biogenic amine amount of sucuk. *GIDA*, 44(5), 819-825.
- Ünal Turhan, E., Erginkaya, Z., Sarkodal, E., Özkütük, S. T., Konuray, G. (2019b). Probiyotik bitter çikolata üretiminde mikroenkapsüle *Lactobacillus Rhamnosus* kullanımı. *GIDA*, 44(2), 238-247.
- Ünal-Turhan, E. (2021). Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik kültür ilavesiyle fonksiyonel keçiyoynuzu pekmezi üretimi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 11(1), 307-317.
- Yeşilova Y, Sula B, Yavuz E, Uçmak D. (2010). Probiyotikler. *Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 49-56.
- Zaeim, D., Sarabi-Jamab, M., Ghorani, B., Kadkhodae, R., Tromp, R. H. (2018). Electrospray-assisted drying of live probiotics in acacia gum microparticles matrix. *Carbohydrate polymers*, 183, 183-191.
- Zaeim, D., Sarabi-Jamab, M., Ghorani, B., Kadkhodae, R. (2019). Double layer co-encapsulation of probiotics and prebiotics by electro-hydrodynamic atomization. *LWT-Food Science and Technology*, 110, 102-109

TENEKE TULUM PEYNİRLERİNİN BAZI FİZİKOKİMYASAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Cengiz Şen, Muhammed Ali Doğan, Yonca Karagül Yüceer*

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

Geliş/Received: 23.04.2023; Kabul /Accepted: 11.08.2023; Online baskı /Published online: 13.10.2023

Şen, C., Doğan, M. A., Karagül Yüceer, Y. (2023). Teneke Tulum Peynirlerinin bazı fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi. GIDA (2023) 48 (6) 1160-1171 doi: 10.15237/ gida.GD23048

Şen, C., Doğan, M. A., Karagül Yüceer, Y. (2023). Determination of some physicochemical and sensory properties of Tulum Cheese. GIDA (2023) 48 (6) 1160-1171 doi: 10.15237/ gida.GD23048

ÖZ

Çalışmada, İzmir ve Çanakkale’de bulunan üreticilerden sağlanan İzmir Teneke Tulum peynirlerinin bazı karakteristik özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Peynirlerin kurumaddesinin ve yağ içeriğinin sırasıyla %48.59-61.18 ve %20.72-30.46 arasında değiştiği belirlenmiştir. Peynirlerde olgunlaşma süresi uzadıkça kurumadde, yağ, titrasyon asitliği ve hidrolitik ransidite değerlerinin arttığı ortaya konmuştur. Peynirlerin L^* değerleri 78.41-88.80, sertlik değerleri ise 430-5213.75 arasında değişmektedir. Tanımlayıcı duyuşal analizler sonucunda ‘pişmiş’, ‘peyniraltı suyu’, ‘kremamsı’, ‘sülfür’, ‘ransit’, ‘tuzlu’, ‘ekşi’, ‘umami’ ve ‘keskin’ terimleri panelistlerce geliştirilmiş bazı terimlerdir. En yoğun hissedilen aroma ve tat terimleri; pişmiş, peyniraltı suyu, kremamsı ve tuzludur. Duyusal analiz sonuçlarına göre seçilen altı peynirde uçucu bileşen analizi gerçekleştirilmiş olup asit ve ester grubu bileşenlerin yüksek konsantrasyonlarda olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Tulum Peyniri, olgunlaşma, bileşim, uçucu bileşen, duyuşal

DETERMINATION OF SOME PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES OF TULUM CHEESE

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine some characteristic properties of İzmir Teneke Tulum cheeses obtained from producers in İzmir and Çanakkale. It was determined that the dry matter and fat content of the cheeses varied between 48.59-61.18%, and between 20.72-30.46%, respectively. It was stated that the dry matter, fat, titratable acidity and hydrolytic rancidity values increased as the ripening time increased in the cheeses. L^* values of the cheeses vary between 78.41-88.80, and hardness values between 430-5213.75. The terms ‘cooked’, ‘whey’, ‘creamy’, ‘sulfur’, ‘rancid’, ‘salty’, ‘sour’, ‘umami’ and ‘bite’ were some terms generated by the panelists as a result of descriptive sensory analysis. The most intensely perceived aroma and taste terms were cooked, whey, creamy and salty. Volatile compounds were determined in six cheeses based on the results of sensory analysis, and acid and ester group components were found to be in high concentrations.

Keywords: Tulum Cheese, ripening, composition, volatile compound, sensory

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author;

✉: yoncayuceer@comu.edu.tr

☎: (+90) 286 218 0018/20051

☎: (+90) 286 218 0541

Cengiz Şen; ORCID no: 0000-0002-8640-4641

Muhammed Ali Doğan; ORCID no: 0000-0002-5524-7567

Yonca Karagül Yüceer; ORCID no: 0000-0002-9028-2923

GİRİŞ

Türkiye’de Beyaz peynir, Kaşar peyniri ve Tulum peyniri yaygın olarak üretilmekte ve tüketilmektedir. Tulum adı Türkçe’de ‘keçi ya da koyun derisi’ anlamına gelmekte olup peynirin ambalajı ve olgunlaştırılması için kullanılan materyal olarak kullanılmaktadır (Hayaloglu vd., 2007). Tulum peyniri beyaz ya da krem renğinde, ufalanan, yarı sert dokuya sahip, yağ ve kurumadde oranı yüksek, ağızda tereyağımsı ve keskin tat bırakan karakteristik özelliğe sahip peynir olarak bildirilmektedir (Kurt vd., 1991). Bölgelere göre farklı adlarla anılmakta olan Tulum peynirinin yaygın olarak bilinenleri İzmir, Erzincan, Divle, Selçuklu ve Çimi Tulum peynirleridir (Yaygın, 1971; Arslaner ve Bakırcı, 2016). İzmir Teneke Tulum peyniri genel olarak çığ koyun sütünden veya koyun-keçi-inek sütleri kullanılarak çoğunlukla İzmir, Aydın, Muğla, Manisa ve Denizli gibi Batı Anadolu’da üretilen ve tüketilen bir peynir çeşididir. Salamuralı Tulum peyniri olarak da bilinen bu peynir üretim yöntemi ve niteliklerindeki farklılıklarla diğer Tulum peynirlerinden ayrılmaktadır. Sert, sarımsı renkte ve küçük gözeneklere sahip tuzlu bir peynirdir (Yaygın, 1971). Bu peynirin diğer Tulum peynirlerinden farkı salamurada olgunlaştırılmasıdır (Tulukoglu, 2019). İzmir Tulum peynirinin üretiminde özellikle koyun sütünün yanı sıra keçi ve inek sütlerinin karışımı da kullanılmaktadır (Kamber, 2008). Son yıllarda bazı üreticiler peynirin olgunlaştırılması için teneke kutular kullanmışlardır. Bundan dolayı peynire Teneke Tulum adı verilmiştir (Akınar vd., 2017). Ege bölgesinde üretilen Salamuralı Tulum peyniri ya da diğer ismiyle İzmir Tulum peyniri üretim ve özellikleri ile diğer peynirlere göre farklılık göstermektedir. Yapımında kullanılan inek, koyun ve/veya keçi sütleri 60-68°C’ye ısıtıldıktan sonra mayalama işleminin yapıldığı sıcaklığa (27-37°C) soğutulup 45-60 dakika süresince pıhtılaşmaya bırakılmaktadır (Koca, 1996). Teleme kırıldıktan sonra peyniraltı suyu ayrılarak şekil verilmekte ve tuzlama işlemi uygulanmaktadır. Belirli zaman aralıklarında alt üst edildikten sonra, istenilen asitliğe gelen peynirler peyniraltı suyundan (PAS) hazırlanmış %12-14’lük salamura içinde teneke ambalajda 4-

6°C’de yaklaşık 90-180 gün olgunlaştırılmaktadır (Üçüncü, 2004).

Bu çalışmada, İzmir ve Çanakkale illerinde bulunan üreticilerden sağlanan farklı oranlarda koyun, keçi ve/veya inek sütleri kullanılarak üretilmiş ve farklı sürelerde olgunlaştırılmış Teneke Tulum peynirlerinin karakteristik bazı fizikokimyasal ve duyuşsal özellikleri ile uçucu bileşen profillerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Farklı tür sütler kullanılarak üretilen ve farklı olgunluk seviyelerine sahip 23 adet Teneke Tulum peyniri İzmir ve Çanakkale’de faaliyet gösteren yerel üretici firmalardan alınmıştır. Peynirlerden biri (T12) inek ve keçi sütleri, beşi (T3, T6, T16, T21 ve T22) inek-koyun, altı tanesi de (T8, T9, T14, T15, T19, T23) koyun, keçi ve inek sütleri kullanılarak üretilmiş olup diğer peynirlerin üretiminde sadece inek sütü kullanılmıştır. Peynirlerin olgunlaşma süreleri 5 ve 23 ay arasında değişmektedir.

Fizikokimyasal analizler

Peynirlerde titrasyon asitliği (% laktik asit) (Metin, 2006), kurumadde (%) (TS 591, 2013), yağ oranı (%) (TS 3046, 1978), tuz içeriği (%) (Bradley vd., 1992) ve pH değerleri belirlenmiştir. Hidrolitik ransidite titrimetrik metotla belirlenmiştir (Renner, 1986). Peynirin renk analizinde Minolta Renk Ölçüm cihazı (CR-400, Minolta. Co. Ltd., Tokyo, Japonya) kullanılmış olup her bir peynir kalıbından 7 ölçüm alınmıştır (Bhale vd., 2003). Peynir örneklerinin tekstürel özellikleri Tekstür Analizörü (Brookfield CT3, İngiltere) kullanılarak 4 tekrarlı ölçülmüştür. Cihazın koşulları; TA11/1000 alüminyum silindirik prob (25.4 mm çapında); test hızı 0.4 mm/s; ilk test hızı 1 mm/s; son test hızı 1mm/s; baskı %40; tutma zamanı 5 s olarak uygulanmıştır.

Duyusal analizler

Peynirlere ait tanımlayıcı duyuşsal özellikler, 25-50 yaş aralığındaki eğitimli 8 panelist tarafından (6 kadın, 2 erkek) SpectrumTM yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Meilgaard vd., 1999). Ürünlerin değerlendirilmesi sırasında 15 puanlı skala kullanılmış olup skalanın en solu belirtilen özelliğin

olmadığını en sağı ise çok fazla olduğunu ifade etmektedir. Analizler dört oturumda tamamlanmıştır.

Uçucu bileşen analizi

Uçucu bileşen analizleri, duyuşal özelliklerine göre seçilen altı peynir örneğinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) kullanılmıştır. Ayrım DB-5 (30 m uzunluk×0,32 mm iç çap (i.d.)×0.25 µm film kalınlığı) kolon (J&W Scientific, Folsom, California, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. GC şartları; taşıyıcı gaz akışı 1.2 mL/dk, fırın programının başlangıç sıcaklığı 40°C'de 1 dakika olup dakikada 4°C ile son sıcaklık 250°C'ye ulaşılıp 15 dakika süresince bekletilmiştir. MS şartları ise; kapiler ara yüzü sıcaklığı 280°C, iyonizasyon enerjisi: 70 eV: kütle aralığı 35-350 amu, tarama hızı 4.45 scan/s'dir. Uçucuların belirlenmesinde (NIST, 2008) ve (Wiley, 2005) Registry of Mass Spectral Data kütüphanelerinden yararlanılmış ve miktarları belirlenmiştir (Avsar vd., 2004).

İstatistiksel Analiz

Üretici firmalardan temin edilen peynirler arasındaki fizikokimyasal farklılıkların ve benzerliklerin belirlenmesi amacıyla Çok Boyutlu Ölçeklendirme Analizi kullanılmıştır (Kruskal, 1964; Başpınar vd., 2000). Tüm analizler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Peynir örneklerinin asitlik, genel bileşim ve hidrolitik ransidite değerleri Çizelge 1'de sunulmuştur. Peynirlerin asitliği ve genel bileşimi incelendiğinde titrasyon asitliğinin %0.69-1.14, pH değerlerinin 4.96-5.82, kurumadde oranının %48.59-61.18, tuz içeriğinin %1.89-5.72 ve yağ miktarının %20.72-30.46 arasında değiştiği görülmektedir (Çizelge 1). pH değerleri incelendiğinde, T3 numaralı peynir 5.82 pH değeri ile en yüksek, T13 numaralı peynir ise 4.96 pH ile en düşük pH değerine sahiptir. Olgunlaşma dönemi uzun olan peynirlerin pH değerlerinin genel olarak düşük olduğu belirlenmiştir. Örneğin T6, T13 ve T21 peynirleri sırasıyla 19, 18 ve 21 ay olgunlaştırılmış olup pH değerleri de genel olarak diğer peynirlerden düşük bulunmuştur (Çizelge 1). Peynirlerde en yüksek titrasyon asitliği T17 kodlu

peynirde, en düşük titrasyon asitliği T5 kodlu peynirde belirlenmiştir. Peynirde asitlik gelişimi çiğ sütün pıhtılaşması aşaması ile başlayarak olgunlaşma dönemi boyunca sürmekte ve peynirin olgunluğuna bağlı olarak artmaktadır. Laktik asit bakterilerinin laktoz fermantasyonu sonucunda laktik asit vb. organik asitleri üretmesi sonucunda pH değerlerinde düşüş ve titrasyon asitliğinde artış meydana gelmektedir (Goncu ve Alpkent, 2005). Titrasyon asitliği değerleri olgunlaşma süresi uzun olan peynirlerde genel olarak yüksek bulunmuştur. Olgunlaşma süresi 23 ay olan T17 kodlu peynirin titrasyon asitliğinin diğer peynirlerden yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 1). Peynirde olgunlaşma esnasında gerçekleşen bazı biyokimyasal tepkimeler asitlikte artışa neden olmaktadır. Koca (1996), Yerlikaya (2012), Akpınar vd., (2017) ve Kısak (2021) tarafından İzmir Teneke Tulum peynirinde yapılan çalışmalarda benzer bulgular elde edilmiştir.

Peynirin kalitesini, yapısını ve besin değerlerini etkileyen en önemli etkenlerin başında kurumadde gelmektedir. Peynirlerin kurumadde içeriklerinin %48.59-61.18 arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 1). Kurumadde içeriği en yüksek olan peynir T19 kodlu, en düşük olan peynir ise T20 kodlu peynir olarak tespit edilmiştir. Düşük pH değerleri peynirlerin üretim aşamasında pıhtıdan su kaybını arttırmaktadır. Peynirlerde % kurumadde-pH arasında ters ilişki olduğu bildirilmektedir. Bu sayede pH değerleri düşük peynirlerde kurumadde oranı yüksek, pH değerleri yüksek olan peynirlerde ise kurumadde oranı düşük olmaktadır (Walstra vd., 1987). Genel olarak pH değerleri düşük bulunan T2, T6, T13, T21 ve T22 kodlu peynirlerde % kurumadde yüksek bulunmuştur. Olgun peynirlerin kurumadde oranının (Çizelge 1) genel olarak arttığı görülmektedir. Yüksek kurumadde oranına (%58.04-61.18) sahip olan T9, T17, T19 ve T21 kodlu peynirlerin uzun olgunlaşma sürelerine (19 ve 23 ay) sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer kurumadde değerleri İzmir Teneke Tulum peyniri üzerine yapılan diğer çalışmalarda da belirlenmiştir (Eralp, 1967; Yaygın, 1971; Koca, 1996; Gülsün, 2005; Akpınar vd., 2017; Tulukoğlu, 2019).

Çizelge 1. Teneke Tulum peynirlerinde asitlik ve bileşim (n=23) (ortalama±standart hata)
 Table 1. Acidity and composition in Teneke tulum cheeses (n=23) (Mean±S.E)

Peynir Cheese	pH	% T. A T.A %	% KM DM %	% Yağ Fat %	% Tuz Salt %	Hidrolitik Ransidite Hydrolytic Rancidity (meq KOH/100 g yağ/fat)
T1	5.28	0.95	54.34±0.49	22.32±0.36	5.04±0.01	2.67±0.00
T2	5.07	1.03	57.11±0.63	26.59±0.40	3.76±0.01	2.07±0.03
T3	5.82	0.96	55.90±0.68	26.23±0.24	2.46±0.01	3.20±0.03
T4	5.38	1.00	54.07±0.46	24.35±0.38	4.10±0.00	2.15±0.03
T5	5.51	0.69	58.18±0.42	25.61±0.12	3.62±0.01	4.44±0.07
T6	5.05	0.92	57.77±0.56	26.57±0.11	5.72±0.00	3.84±0.03
T7	5.30	0.89	57.21±0.24	27.55±0.10	4.00±0.02	4.30±0.07
T8	5.11	0.92	55.02±0.45	25.34±0.11	1.89±0.02	3.31±0.07
T9	5.58	0.95	58.04±0.64	28.92±0.00	3.22±0.01	5.56±0.07
T10	5.32	1.06	58.98±0.48	26.55±0.13	4.23±0.00	4.37±0.00
T11	5.36	1.03	54.18±0.15	25.81±0.14	3.92±0.02	1.55±0.00
T12	5.28	0.95	53.56±0.62	21.31±0.12	3.37±0.03	4.40±0.03
T13	4.96	0.94	57.17±0.61	22.46±0.23	4.26±0.01	4.86±0.07
T14	5.26	1.09	52.21±0.50	23.71±0.22	4.22±0.00	2.29±0.03
T15	5.31	0.86	57.77±0.61	24.70±0.23	3.72±0.00	3.20±0.03
T16	5.26	0.96	56.66±0.56	24.19±0.01	4.54±0.02	2.60±0.07
T17	5.32	1.14	60.69±0.62	28.21±0.23	3.37±0.01	3.77±0.03
T18	5.45	0.89	56.68±0.44	26.31±0.39	4.23±0.02	2.99±0.03
T19	5.37	1.06	61.18±0.29	30.46±0.00	2.74±0.02	3.27±0.03
T20	5.24	1.04	48.59±0.52	20.72±0.27	2.39±0.02	3.56±0.03
T21	5.11	0.95	59.30±0.47	23.96±0.01	3.74±0.01	2.43±0.03
T22	5.23	0.96	56.11±0.32	25.86±0.13	4.12±0.02	3.20±0.03
T23	5.05	1.00	53.88±0.56	26.47±0.23	3.78±0.02	3.10±0.07
Min.	4.96	0.69	48.59±0.52	20.72±0.27	1.89±0.02	1.55±0.00
Mak./Max.	5.82	1.14	61.18±0.29	30.46±0.00	5.72±0.00	5.56±0.07

T: Teneke Tulum peyniri, S. E. :Standart hata, T.A: Titrasyon Asitliği, KM: Kurumadde, Min: Minimum, Mak.: Maksimum.

T: Teneke Tulum cheese, S.E. : Standard error, T.A. : Titratable acidity, DM.: Dry matter, Min. : Minimum, Max. : Maximum.

Peynirlerde yağ oranları %20.72-30.46 arasındadır. En yüksek yağ oranına sahip peynir T19 kodlu, en düşük yağ oranı ise T20 kodlu peynirlerdir. Salamura peynirlerde değişken su içeriğine bağlı olarak yağ oranı da değişmektedir. T9, T10, T17 ve T19 kodlu peynirlerde hem kurumadde hem de yağ oranları yüksek bulunmuştur (Çizelge 1). Olgun peynirlerde yağ oranının genel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşma süreleri uzun olan T6, T9, T10, T17 ve T19 kodlu peynirlerin aynı zamanda yağ oranları da yüksektir. İzmir Teneke Tulum peyniri üzerine yapılan diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar belirlenmiştir (Koca, 1996; Akpınar vd., 2017).

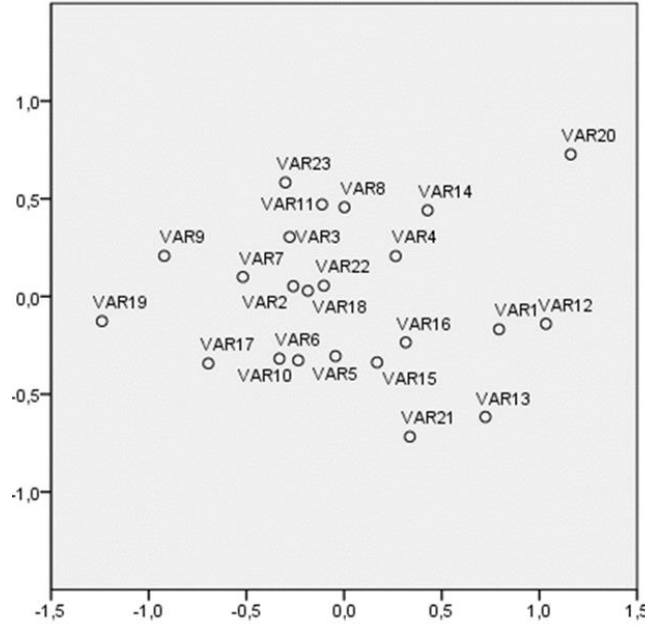
Tuz, peynirde lezzeti, reolojiyi, tekstürü ve kaliteyi önemli ölçüde etkilemektedir (Guinee, 2004). Tuz

oranı en yüksek olan peynir T6 kodlu, tuz oranı en düşük olan ise T8 kodlu peynirlerdir (Çizelge 1). Olgunlaşma süresinin uzun olmasının etkisi ile su kaybının nispi olarak tuz oranını arttırdığı düşünülmektedir. Olgunlaşma süresi uzun olan T6, T10, T13, T16 ve T18 kodlu peynirlerde tuz oranı da ortalamanın üzerindedir (Çizelge 1). Peynirlerin tuz oranları %1.89-5.72 arasında değişmektedir. Benzer sonuçlar diğer çalışmalarda da elde edilmiştir (Koca, 1996; Akpınar vd., 2017; Tulukoğlu, 2019; Kısak, 2021).

Lipoliz, en önemli biyokimyasal reaksiyonlardan biri olup peynirdeki tat ve aroma oluşumunu sağlamaktadır. Hidrolitik ransidite, peynirlerdeki lipoliz seviyesi olup süt yağındaki serbest yağ asidi miktarı ile belirlenmektedir. Hidrolitik ransidite değeri en yüksek olan peynir T9 kodlu, en düşük

olan ise T11 kodlu peynirlerdir. Olgunluk düzeyleri yüksek olan T9, T10, T12 ve T13 kodlu

peynirlerin hidrolitik ransidite değerleri de yüksek bulunmuştur.



Şekil 1. Farklı Teneke Tulum peynirlerinin kimyasal analizlerinin çok boyutlu ölçeklendirme analizi ile değerlendirilmesi

Figure 1. Geometric distribution of Teneke Tulum cheese according to the results of chemical analysis.

VAR: Teneke Tulum peynirini göstermektedir.

VAR: represents each cheese.

Uygulanan kimyasal analiz sonuçları bakımından peynirlerin geometrik dağılımı Şekil 1’de yer almaktadır. T2, T18 ve T22 kodlu peynirlerin yakın geometrik dağılım gösterdiği ancak T20 kodlu peynirin diğer peynirlerden farklı bir konumda bulunduğu belirlenmiştir. Bulgular incelendiğinde T2, T18 ve T22 kodlu peynirlerinin genel bileşiminin birbirine yakın olduğu saptanmıştır. Özellikle T18 ve T22 kodlu peynirlerinin %kurumadde, yağ, tuz, hidrolitik ransidite ve titrasyon asitliği değerlerinin benzer olduğu görülmektedir. Ancak T20 kodlu peynirin geometrik düzlemdeki yerinin diğer peynirlerden daha uzak bir konumda yer almasının sebebi % kurumadde ve yağ oranları en düşük peynir olmasına bağlanabilir. Peynirlerin üretim şekli, kullanılan farklı sütler ve karışım oranları, olgunlaşma düzeyi peynirlerin geometrik dağılımında farklara neden olabilmektedir.

Peynirlerin tekstür profil ve renk analizi sonuçları Çizelge 2’de verilmiştir. Analizi yapılan 23 peynirden T3, T8, T14 ve T16 numaralı peynirlere baskı uygulanması sonucu bütünlüğün bozulması sebebiyle tekstürel özellikler belirlenememiştir. Diğer peynirlerin tekstürel özellikleri incelendiğinde; sertlik değeri en yüksek peynir T7 kodlu, sertlik değeri en düşük peynir T20 kodlu peynirdir. İç yapışkanlık değerlerinin 0.17-0.93, elastikiyet değerlerinin ise 1.56-7.34 mm arasında değiştiği saptanmıştır.

Sertlik; gıdanın yapısında belirli oranda deformasyon olması için uygulanan kuvvet olarak tanımlanmaktadır. Olgunlaşma süresi ilerledikçe ortamdaki suyu bağlayan iyonik gruplar peynirdeki yapının sert bir hal almasına neden olmaktadır. Peynirde olgunlaşma süresi ile sertlik değeri arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır (Hayaloğlu vd., 2011). T13 ve T19 kodlu peynirlerin olgunlaşma süreleri uzun olup aynı

peynirlerin sertlik değerlerinin de (Çizelge 2) yüksek olduğu saptanmıştır. Tuz miktarı ile sertlik değerleri arasında da pozitif bir ilişki olduğu belirtilmektedir (Tunick vd., 1993). Tuz oranı yüksek olan T6, T7 ve T23 kodlu peynirlerin (Çizelge 1) sertlik değerleri de (Çizelge 2) yüksek

bulunmuştur. Aynı analiz metodunu kullanan Tulukoğlu (2019) tarafından İzmir Teneke Tulum peyniri üzerine yapılan çalışmada, sertlik, iç yapışkanlık, elastikiyet ve sakızimsılık değerleri sırasıyla; 700-4630 g, 0.29-0.76, 6.15-7.63 mm ve 430-2720 g değerleri arasında bulunmuştur.

Çizelge 2. Tekstür profil analizi ve renk analiz sonuçları (n=23) (ortalama±standart hata)
Table 2. Texture profile analysis and color analysis results (n=23) (Mean±S.E)

Peynir Cheese	Sertlik (g) Hardness	İç yap. Coh.	Elastikiyet (mm) Springiness	Sakızimsılık (g) Gumminess	L*	b*
T1	2017±393	0.85±0.00	1.82±0.01	1729.22±329	84.92±0.44	15.42±0.95
T2	3071.50±506	0.85±0.02	1.74±0.07	2615.62±426	85.05±0.43	16.54±0.79
T3	-	-	-	-	79.48±0.28	20.81±0.50
T4	1178.12±221	0.88±0.02	1.83±0.00	1036.45±182	82.94±0.89	18.44±0.13
T5	1226.37±205	0.79±0.02	1.64±0.12	986.25±189	78.41±0.38	21.55±0.35
T6	3350.25±623	0.76±0.03	1.56±0.11	1916±560	86.32±0.36	14.26±0.82
T7	5213.75±33.8	0.61±0.06	7.34±0.17	3212.87±312	86.87±0.76	13.21±0.24
T8	-	-	-	-	85.04±0.33	15.16±0.60
T9	1279.62±306	0.84±0.00	1.65±0.03	1085.05±263	78.77±0.31	15.71±0.22
T10	2955±476	0.89±0.03	1.89±0.05	2647.05±404	81.51±0.41	19.29±0.35
T11	1643.12±192	0.85±0.01	1.75±0.01	1389.37±152	84.08±0.33	17.97±0.26
T12	729.62±154	0.93±0.01	1.82±0.00	677.70±144	84.32±0.40	14.91±0.16
T13	4791.75±137	0.19±0.04	5.34±0.02	932.52±195	88.80±0.41	14.22±0.28
T14	-	-	-	-	86.98±0.21	15.06±0.75
T15	3868.87±357	0.59±0.08	6.99±0.17	2254.90±284	85.99±0.23	16.17±0.19
T16	-	-	-	-	84.23±0.24	16.11±0.20
T17	2957.12±563	0.74±0.04	1.62±0.07	2284.70±558	81.39±0.35	15.91±0.20
T18	2460.12±510	0.82±0.02	1.68±0.05	2023.40±416	82.46±0.30	16.00±0.18
T19	3922.12±826	0.84±0.01	1.82±0.01	3330.02±723	85.52±0.30	16.37±0.16
T20	430±25.6	0.92±0.01	1.80±0.01	397.95±22.6	78.56±0.39	20.98±0.15
T21	2148.87±642	0.72±0.06	1.62±0.16	1601.85±521	81.44±0.27	19.65±0.31
T22	2643.5±772	0.82±0.02	1.72±0.05	2221.72±686	83.58±0.43	16.21±0.18
T23	5058.66±38.6	0.17±0.08	5.75±0.61	1158.86±443	83.58±0.77	18.74±0.17
Min.	430±25.6	0.17±0.08	1.56±0.11	397.95±22.6	78.41±0.38	13.21±0.24
Mak./Max.	5213.75±33.8	0.93±0.01	7.34±0.17	3330.02±723	88.80±0.41	21.55±0.35

T: Teneke Tulum peyniri, İç yap. : İç yapışkanlık, Min: Minimum, Mak. : Maksimum, -: belirlenemedi
T: Teneke Tulum cheese, Coh. : Cohesiveness, Min. : Minimum, Max. : Maximum, -: not determined.

Peynirlerin nem ve yağ oranları sertlik değerlerini etkilemektedir. Yağ miktarı ile sertlik arasında ters ilişki olduğu belirtilmektedir (Hayaloğlu vd., 2011). Yağ oranı düşük olan T13 ve T15 kodlu peynirlerin (Çizelge 1) sertlik değerleri (Çizelge 2) ortalamadan yüksek bulunmuştur. Sertlik değeri ile sakızimsılık ve çignenebilirlik değerleri arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır (Çınar, 2015). Sertlik değeri yüksek olan T7, T10, T15, T19 ve T22 kodlu peynirlerin aynı zamanda sakızimsılık

değerleri de yüksek bulunmuştur. Sertlik ve sakızimsılık değerleri düşük olan (Çizelge 2), T12 ve T20 kodlu peynirlerde kurumadde oranları da (T12=%53.56, T20=%48.59) (Çizelge 1) düşüktür. Sakızimsılık değeri tuz oranı arttıkça azalmaktadır (Soltanı, 2013). Tuz oranı yüksek olan T9 ve T23 kodlu peynirlerin (Çizelge 1) sakızimsılık değerleri düşük bulunmuştur. Sakızimsılık değeri en yüksek T19 kodlu peynir, en düşük ise T20 kodlu peynirlerdir. İç yapışkanlık;

gıdanın yapısında bulunan iç bağların gücüdür. İç yapışkanlık sonuçları yüksek olan T2, T10, T19 ve T22 kodlu peynirlerde sakızimsilik değerleri de yüksektir. İç yapışkanlık değeri olgunluk süresi ve tuz oranı arttıkça azalmaktadır (Soltani, 2013). İç yapışkanlık sonuçları ortalama değerden düşük bulunan T13 kodlu peynirin olgunlaşma dönemi de uzundur (18 ay). Tuz oranı yüksek olan T7, T17 ve T23 kodlu peynirlerin (Çizelge 1) iç yapışkanlık değerleri (Çizelge 2) düşüktür. Peynirlerde elastikiyet sonuçları 1.56-7.34 mm arasında saptanmıştır. T7, T13, T15 ve T23 kodlu peynirlerin (Çizelge 1) tuz oranı yüksek olup elastikiyet değeri (Çizelge 2) yüksek olarak belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada da elastikiyet değerinin tuz oranı arttıkça arttığı belirtilmektedir (Zheng vd., 2016).

Peynirlerde L^* değeri parlaklığı ve beyazlığı, b^* değeri sarı-mavi renkleri gösteren renk parametreleridir. L^* ve b^* değerleri peynirin önemli kalite göstergesidir. Peynirlerin renk ölçüm değerleri Çizelge 2'de yer almaktadır. En yüksek L^* değeri 88.80 ile T13 kodlu peynirdir. Tuz oranı peynirin rengini etkileyen etmenlerden biridir. Peynirde tuz miktarı artış gösterdikçe L^* değeri azalmaktadır (Khosrowshahi vd., 2006). L^* değeri sonuçlarının yüksek olduğu (Çizelge 2), T8 ve T19 kodlu peynirlerde tuz oranı düşük bulunmuştur. Sonuçta renk ölçüm sonuçlarında farklılıkların görülmesine tuz dağılımının homojen olmaması sebep olabilmektedir. Peynirde renkteki parlaklığın, olgunluk seviyesi arttıkça artış gösterdiği belirlenmiştir. Olgunluk dönemleri uzun olan T8, T16 ve T19 kodlu peynirlerde (sırasıyla 9, 16 ve 20 ay) L^* değerlerinin de yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). Peynirlerde b^* değeri sonuçlarının geniş bir dağılım gösterdiği, en yüksek b^* değerine T5 kodlu peynirin, en düşük b^* değerine ise T7 kodlu peynirin sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada sarı renk yoğunluğu peynirlerdeki olgunlaşma periyodu uzadıkça genel olarak artış göstermiştir. b^* değeri sonuçları yüksek olan T3, T4, T10 ve T20 kodlu peynirlerin olgunluk süreleri de uzundur. Peynir rengindeki farklılıkta kullanılan sütün çeşidi, hayvanların beslenmesindeki farklılıklar, peynirdeki yağ oranı, mevsimsel faktörler, olgunlaşma derecesi, β -

karoten ve laktoflavinin miktarındaki farklılıklar etkili nedenlerdir (Üçüncü, 2004).

Eğitilmiş sekiz panelist tarafından peynirlerde belirlenen bazı duyuşsal tanımlayıcı terimler; "pişmiş", "kremamsı", "peyniraltı suyu", "sülfür", "ransit", "ekşi", "umami", "keskin" ve "tuzlu" terimleri olup sonuçlar Çizelge 3'te yer almaktadır. Aromatik terimler içinde yoğunluğu en fazla algılanan özellikler; pişmiş, kremamsı ve ransittir. Temel tat özelliklerinden ise tuzlu ve umami yoğun olarak algılanan özelliklerdir.

Genellikle olgun peynirlerde yoğun algılanan sülfür aroması T2 kodlu peynirde ve ransit ise T21 kodlu peynirlerde yüksek bulunmuştur. Peynirde tat ve aromada en önemli etken tuzdur. Peynirde tuzlu tat oluşumuna küçük inorganik iyonlar sebep olmaktadır. Tuzlu tat proses esnasında eklenen sodyum klorürden kaynaklanmaktadır. Peynirde tuzluluğu etkileyen diğer bir etmen de olgunlaşmadır. Olgunlaşma süresince tuzluluk artış göstermektedir (Fox vd., 2001). Tuzlu tat algısı yüksek olan T1, T10, T18, T19 ve T20 kodlu peynirlerde (Çizelge 3) olgunlaşma süresi de uzundur. Tuzlu tat değeri 19.37 puan ile T20 kodlu peynirde en yüksek, 7.93 puan ile T17 kodlu peynirde en düşük olarak belirlenmiştir. Belirlediğimiz duyuşsal terimlere benzer duyuşsal tanımlayıcı terimler mihaliç, kaşar ve keçi peyniri üzerine yapılan çalışmalarda da belirlenmiştir (Aday, 2010; Uzkuç, 2014; Doğan ve Karagül Yüceer, 2019).

Tanımlayıcı duyuşsal analiz sonuçlarına göre altı adet peynir örneği (T3, T8, T9, T11, T17 ve T21 kodlu peynirler) seçilerek uçucu bileşenler GC-MS kullanılarak belirlenmiştir (Çizelge 4). Bu bileşenler keton, asit, ester, alkol ve terpen grubunda yer almaktadır. Akpınar vd., (2017), Tulukoğlu (2019) ve Kısak (2021) tarafından İzmir Teneke Tulum peyniri üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda da benzer uçucu bileşenler tespit edilmiştir. Peynir üretiminde kullanılan sütlerin çeşidi, karışımda bulunan süt oranları, olgunlaşma periyodu ve uygulanan analiz yöntemi peynirlerde belirlenen uçucu bileşiklerin çeşidini ve miktarını etkilemektedir.

Çizelge 3. Peynirlerin duysal özellikleri (n=23)
Table 3. Sensory properties of the cheeses (n=23)

Peynir	Pişmiş Cooked	PAS Whey	Kremamsı Cream	Sülfür Sulfur	Ransit Rancid	Tuzlu Salty	Ekşi Sour	Umami	Keskin Bite
T1	2.18±0.37	2.12±0.35	1.93±0.68	5.37±0.51	2.18±0.53	14.62±0.74	0.68±0.37	1.43±0.17	1.00±0.00
T2	2.12±0.44	1.43±0.32	1.93±0.17	6.06±0.68	3.62±0.51	11.62±1.06	1.06±0.41	3.93±0.56	2.75±0.38
T3	2.68±0.26	2.31±0.46	3.62±0.51	2.87±0.83	1.31±0.59	9.31±0.59	0.93±0.41	1.5±0.53	0.43±0.32
T4	1.25±0.38	2.56±0.73	2.18±0.53	0.81±0.75	0.87±0.35	10.75±1.75	0.75±0.53	1.31±0.46	0.25±0.11
T5	1.81±0.46	2.12±0.64	2.5±0.53	2.37±1.27	1.81±0.70	15.43±2.89	1.68±0.26	3.75±1.16	0.56±0.17
T6	1.93±0.17	2.12±0.35	2.18±0.53	3.25±0.46	1.62±0.35	9.62±2.19	1.56±0.62	1.00±0.84	1.31±0.59
T7	2.18±0.37	3.00±0.53	2.62±0.51	1.93±1.32	1.25±0.46	16.25±0.88	2.06±0.73	3.18±0.80	1.75±0.46
T8	2.18±0.53	2.37±0.58	2.25±0.88	1.37±0.35	0.56±0.17	9.18±0.99	1.75±0.46	1.93±0.94	0.68±0.46
T9	2.18±0.37	2.00±0.00	2.43±0.73	2.12±0.44	1.87±0.35	10.62±0.91	1.62±0.44	3.43±1.05	1.93±0.62
T10	2.25±0.53	2.62±0.74	2.37±0.44	2.81±0.75	1.06±0.68	17.25±3.15	1.62±0.69	2.00±0.75	0.87±0.69
T11	2.37±0.87	2.93±1.01	3.50±0.53	0.81±0.70	0.93±0.82	12.25±1.38	3.06±1.89	1.31±0.53	0.68±0.59
T12	2.31±0.59	2.68±0.46	2.81±0.37	2.75±1.00	1.75±1.28	13.62±1.50	2.25±1.03	2.37±1.32	1.50±1.16
T13	2.25±0.38	2.62±0.51	2.37±0.58	2.06±0.90	3.12±1.21	11.62±1.50	1.81±0.26	2.06±1.21	0.50±0.31
T14	2.62±0.51	3.00±0.00	3.43±0.41	0.93±0.49	0.50±0.26	10.37±0.51	3.00±0.26	1.18±0.46	0.87±0.23
T15	2.12±0.35	1.62±0.23	2.81±0.37	1.37±0.79	4.06±0.56	8.31±0.46	1.37±0.23	2.93±0.41	3.06±0.73
T16	2.43±0.49	3.75±0.88	3.00±0.75	0.43±0.17	-	8.75±0.38	1.12±0.44	0.75±0.37	1.12±0.44
T17	2.00±0.00	2.87±0.35	3.87±0.35	0.50±0.38	0.18±0.11	7.93±0.49	0.93±0.62	2.37±0.87	0.62±0.23
T18	2.37±0.51	2.75±0.75	2.06±0.73	1.00±0.53	0.37±0.44	16.5±0.92	2.37±0.87	1.5±0.84	0.25±0.19
T19	1.87±0.35	2.25±0.38	2.50±0.56	1.68±0.86	2.56±1.37	15.37±1.18	1.93±0.88	3.56±0.17	2.31±0.37
T20	2.18±0.37	2.31±0.46	2.18±0.37	2.00±1.03	2.31±1.03	19.37±1.30	1.75±0.59	3.06±1.26	2.68±0.65
T21	2.06±0.17	2.31±0.46	2.62±0.74	3.00±1.03	4.75±0.70	12.37±1.40	2.00±0.92	4.37±0.87	2.50±1.28
T22	2.00±0.00	1.89±0.35	3.06±0.86	2.06±0.68	1.31±0.46	7.38±0.58	1.75±0.38	2.81±1.00	0.56±0.32
T23	1.94±0.42	1.94±0.18	4.18±1.19	2.81±0.65	1.50±0.76	8.88±0.83	2.25±0.46	1.19±0.70	2.00±1.07
Min.	1.25±0.38	1.43±0.32	1.93±0.68	0.43±0.17	-	7.93±0.49	0.68±0.37	0.75±0.37	0.25±0.19
Mak.	2.68±0.26	3.75±0.88	4.18±1.19	6.06±0.68	4.75±0.70	19.37±1.30	3.06±1.89	4.37±0.87	3.06±0.73

T: Teneke Tulum peyniri, PAS: Peyniraltı suyu, Min. : Minimum, Mak. : Maksimum, -: belirlenemedi.

T: Teneke Tulum cheese, PAS: Whey, Min. : Minimum, Max. : Maximum, -: not determined

Çizelge 4. Analiz edilen peynir örneklerinde bulunan uçucu bileşenler (n=6)
Table 4. Volatile compounds found in analyzed cheese samples (n=6)

Uçucu Bileşenler Volatile Compounds	RI	Peynirler/ Cheeses (µg/ 100 g)					
		T3	T8	T9	T11	T17	T21
2-Butanon/ 2-Butanone	<600	68.15±7.28	-	169.93±21.21	-	65.00±40.9	103.74±23.51
Asetik Asit/ Acetic acid	600	-	-	-	778.26±157.76	-	-
Etil Asetat/ Ethyl acetate	605	-	-	-	-	36.92±12.65	-
3-Metil-1-Butanol/ 3-methyl-1-butanol	645	-	-	2.67±0.22	-	-	-
1-Butanol/ 1-Butanol	654	8.51±1.67	0.29±0.05	1.97±0.28	4.85±0.74	14.14±3.02	10.3±3.01
2-Pentanon/ 2-Pentanone	684	15.99±3.51	5.16±0.37	-	32.16±2.97	18.67±4.12	-
2-Pentanol/ 2-Pentanol	698	-	-	-	-	-	13.15±2.41
3-Hidroksi-2-Butanon/ 3-Hydroxy-2-Butanone	703	-	-	3.21±0.29	5.11±0.15	-	10.90±0.22
3-Metil-1-Butanol/ 3-Methyl-1-Butanol	726	7.74±2.55	7.29±0.07	17.52±4.25	30.83±8.56	2.70±0.96	2.83±0.38
Toluen/ Toluene	758	-	0.52±0.14	1.94±0.73	2.72±0.75	0.43±0.18	0.80±0.21
2,3-Butandiol/ 2,3-Butandiol	776	0.71±0.25	-	-	0.71±0.22	-	3.82±0.31
Butanoik Asit Etil Ester/ Butanoic acid ethyl ester	800	73.00±14.50	88.33±14.20	89.14±34.26	111.38±41.22	182.63±30.15	84.28±16.47
Butanoik Asit/ Butanoic acid	810	755.02±156.98	159.82±22.46	-	179.82±14.32	190.24±5.04	2028.82±202.09
3-Metil-Butanoik Asit/ 3-Methyl Butanoic Acid	842	-	-	2.10±0.82	-	0.23±0.04	-
2-Metil-Butanoik Asit/ 2-Methyl Butanoic Acid	851	-	-	1.06±0.41	-	-	0.20±0.03
1-Hekzanol/ 1-Hexanol	864	4.87±1.32	0.54±0.04	1.50±0.34	3.46±1.42	2.86±1.20	-

Uçucu Bileşenler <i>Volatile Compounds</i>	RI	Peynirler/ <i>Cheeses</i> (µg/ 100 g)					
		T3	T8	T9	T11	T17	T21
2-Heptanon/2- <i>Heptanone</i>	886	0.45±0.12	0.37±0.08	6.73±2.35	3.97±0.78	1.50±0.37	1.61±0.31
2-Heptanol/2- <i>Heptanol</i>	899	-	0.71±0.21	2.35±0.41	4.64±1.50	3.78±0.40	4.30±0.75
Oksime Metoksi Fenil/ <i>Oxime Methoxy Phenyl</i>	906	4.96±1.40	2.43±0.46	5.85±2.67	10.84±2.87	5.88±1.20	-
Hekzanoik Metil Ester	922	0.54±0.17	-	0.80±0.18	-	0.43±0.05	0.84±0.16
α-Pinen/ <i>α-Pinene</i>	929	-	0.17±0.05	1.86±0.53	4.38±0.31	0.30±0.12	0.29±0.05
β-Pinen/ <i>β-Pinene</i>	971	-	-	0.19±0.05	1.71±0.83	-	-
Hekzanoik Asit Etil Ester/ <i>Hexanoic acid Ethyl Ester</i>	998	39.59±6.91	4.49±1.94	2.74±0.29	73.40±17.42	83.08±15.81	15.00±5.52
Hekzanoik Asit/ <i>Hexanoic acid</i>	1012	973.95±30.82	513.64±79.03	-	-	-	2453.06±123.03
D-Limonen/ <i>D-Limonene</i>	1025	1.14±0.41	0.38±0.11	1.03±0.39	6.19±0.85	5.03±0.79	12.72±2.27
Okalıptol/ <i>Eucalyptol</i>	1027	-	0.20±0.02	0.31±0.11	0.99±0.18	0.92±0.39	1.53±0.34
2-Nonanon/2- <i>Nonanone</i>	1090	0.43±0.07	0.10±0.02	2.51±0.98	0.67±0.31	0.30±0.07	-
Fenil Etil Alkol/ <i>Phenyl Ethyl Alcohol</i>	1108	-	-	2.86±1.15	-	-	-
Oktanoik Asit Metil Ester/ <i>Octanoic Acid Methyl Ester</i>	1123	1.68±0.69	0.56±0.11	1.46±0.55	-	-	2.62±1.08
Oktanoik Asit/ <i>Octanoic Acid</i>	1186	413.64±62.02	-	1215.05±148.49	-	623.40±36.79	432.09±37.13
Oktanoik Asit Etil Ester/ <i>Octanoic Acid Ethyl Ester</i>	1196	4.21±0.68	0.98±0.16	2.78±0.58	6.60±1.90	16.84±2.37	10.15±1.98
Dekanoik Asit/ <i>Decanoic Acid</i>	1374	5.52±0.48	-	-	-	-	-
Dekanoik Asit Etil Ester/ <i>Decanoic Acid Ethyl Ester</i>	1396	0.60±0.14	0.16±0.04	0.58±0.24	1.26±0.29	2.29±0.38	1.25±0.68

RI: Alıkonma indeksi, -: belirlenemedi.

RI: *Retention index*, -: *not determined*.

Esterler, kısa ve orta zincirli yağ asitlerinin alkoller ile etkileşimi sonucunda oluşmaktadır (McSweeney ve Sousa, 2000). İçinde buldukları ortama meyvemsi aroma sağlamaktadırlar (Gatfield, 1988). Analiz edilen peynirlerde belirlenen ve ester grubunda yer alan bazı bileşikler butanoik asit etil ester, hekzanoik asit etil ester, oktanoik asit etil ester ve dekanolik asit etil esterdir.

Peynirlerde ketonların indirgenmesi, laktoz ve aminoasit metabolizması vb. metabolik faaliyetlerle alkoller oluşmaktadır (Collins vd., 2003). Peynirlerde belirlenen alkol grubundaki bazı bileşikler 1-butanol, 1-hekzanol, 2-heptanol ve 3-metil-1-butanol'dür. Kısak (2021) tarafından İzmir Teneke Tulum peynirinde de 1-butanol ve 3-metil-1-butanol belirlenmiştir.

Ketonlar, süt ve ürünlerinde mikroorganizmaların yağ asidi katabolizması veya laktik asit

bakterilerinin sitrat metabolizma yolu ile oluşabilmektedir (Urbach, 1993). Yüksek keton miktarına sahip olan T9 ve T17 kodlu peynirlerin (Çizelge 4) olgunluk dönemleri de uzundur. İzmir Teneke Tulum peynirlerinde belirlenen bazı ketonlar; 2-nonanon ve 2-heptanonur.

Terpenler, özellikle hayvanın beslenmesi ile ilgili bilgi vermesi nedeniyle önemli bileşenlerdir (Viallon vd., 2000). Peynir örneklerinde belirlenen bazı terpenler; D-limonen, α-pinen ve β-pinendir. Olgunlaşma sırasında dört ve daha fazla karbon içeren yağ asitleri genelde sütte bulunan trigliseritlerin parçalanması sonucu meydana gelmektedir (Urbach, 1993). Peynirlerde belirlenen bazı asidik bileşenler butanoik, hekzanoik, oktanoik ve dekanolik asittir. T21 kodlu peynirde özellikle butanoik ve hekzanoik asit miktarları yüksek bulunmuştur. Akpınar vd., (2017) tarafından yapılan çalışmada da benzer uçucu bileşen profili belirlenmiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, İzmir ve Çanakkale’de faaliyet gösteren üreticilerden sağlanan Teneke Tulum peynirlerinin bazı fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri tespit edilmiştir. Bu amaçla toplam 23 adet Teneke Tulum peynirinde renk, tekstür, kimyasal ve duyuşal özellikler belirlenmiştir. Peynirlerde ‘pişmiş’, ‘kremamsı’, ‘sülfür’, ‘tuzlu’, ‘umami’, ‘ekşi’ ve ‘keskin’ (bite) en yoğun algılanan duyuşal özellikler olarak belirlenmiştir. Peynirlerde yoğun olarak belirlenen karakteristik uçucu bileşikler özellikle ester grubunda yer alan bileşikler olup butanoik asit etil ester, hekzanoik asit etil ester, oktanoik asit etil ester ve dekanıik asit etil ester bu grup için örnek verilebilir. Ek olarak butanoik, hekzanoik ve oktanoik asitler bazı peynirlerde yüksek miktarlarda belirlenen önemli asidik bileşiklerdendir. Peynirlerde belirlenen fizikokimyasal ve duyuşal farklar peynirlerin üretiminde kullanılan sütlerin türünden, bileşiminden ve peynir yapımında kullanılan süt oranlarından, peynirlerin üretim koşullarından, bölgesel ve mevsimsel farklardan, peynir üretim teknolojilerinden, olgunlaşma koşullarından ve mikrobiyal floradan kaynaklanmış olabilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Cengiz Şen, peynir analizlerin gerçekleştirilmesi ve takibi, sonuçların değerlendirilmesi ve istatistiksel analizler; Muhammed Ali Doğan bazı analizlerin gerçekleştirilmesi ve makale yazımı konularında katkı sağlamıştır. Yonca Karagül Yüceer araştırmanın süreç yönetiminde, analizlerin metodolojisini ve makale taslağının oluşturularak düzenlenmesinde görev almıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın gerçekleştirilmesinde desteklerini esirgemeyen üretici firmalara ve duyuşal değerlendirmeler katkı sağlayan panelistlere teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Aday, S. (2010). Mihaliç peynirinin karakteristik özelliklerinin belirlenmesi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale, Türkiye, 57 s.

Akpınar, A., Yerlikaya, O., Kınık, Ö., Korel, F., Kahraman, C., Uysal, H.R. (2017). Some physicochemical characteristics and aroma compounds of İzmir tulum cheese produced with different milk types. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 54(1): 27-35, doi: 10.20289/zfdergi.297939.

Arslaner, A., Bakırcı, İ. (2016). Effect of milk type, pasteurization and packaging materials on some physicochemical properties and free fatty acid profiles of Tulum Cheese. Akademik Gıda, 14(2): 98-104.

Avsar, Y.K., Karagul-Yuceer, Y., Drake, M.A., Singh, T.K., Yoon, Y., Cadwallader, K.R. (2004). Characterization of nutty flavor in Cheddar cheese. Journal of Dairy Science, 87: 1999-2010, doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)70017-X.

Baspınar, E., Mendes, M., Camdeviren, H. (2000). Multidimensional scaling analysis and its usage. Biyoteknoloji (KUKEM) Dergisi, 24: 89-98, doi: 10.3906/tar-2109-45.

Bhale, S., No, H.K., Prinyawiwatkul, W., Farr, A.J., Nadarajah, K., Meyers, S.P. (2003). Chitosan coating improves shelf life of eggs. Journal of Food Science, 68(7): 2378-2383, doi: 10.1111/j.1365-2621.2003.tb05776.x.

Bradley, Jr. R.L., Arnold, Jr. E., Barbano, D.M., Semerad, R.G., Smith, D.E., Vines, B.K. (1992). Chemical and physical methods. In standard methods for the examination of dairy products. (ed: Marshall, R.T), American Public Health Association, Washington D.C., 433-531 p.

Collins Y.F., McSweeney P.L.H., Wilkinson, M.G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese; a review of current knowledge. International Dairy Journal, 13(11): 841-866, doi: 10.1016/S0958-6946(03)00109-2.

Çınar, K. (2015). Membran filtrasyonun beyaz peynir üretiminde bileşim ve kalite üzerine

- etkisinin incelenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 72 s.
- Doğan, M. A., Karagül Yüceer, Y. (2019). Ezine eski kaşar peynirinin karakteristik bazı özellikleri. *Gıda*, 44(5): 849-860, doi: 10.15237/gida.GD19052.
- Eralp, M. (1967). İzmir ili süt mamulleri üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 304, Ankara, Türkiye, 535 s.
- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H., (2001). *Fundamentals of cheese science*. An Apsen Publication, Maryland, pp. 514-522.
- Gatfield, I.L. (1988). Production of flavor and aroma compounds by biotechnology. *Food Technology*, 42(10): 110-121.
- Goncu, A., Alpkent, Z. (2005). Sensory and chemical properties of White pickled cheese produced using kefir, yoghurt or a commercial cheese culture as a starter. *International Dairy Journal*, 15: 771-776, doi: 10.1016/j.idairyj.2004.10.008.
- Guinee, T.P. (2004). Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57: 99-109, doi: 10.1111/j.1471-0307.2004.00145.x.
- Gülsün, D. (2005). Yağı azaltılmış süttten üretilen İzmir tulum peynirinde protein kaynaklı yağ ikame maddesinin (Simplese® 100) kullanımı. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 116 s.
- Hayaloğlu, A.A., Fox, P.F., Guven, M., Cakmakci, S. (2007). Cheeses of Turkey: 1. Varieties ripened in goat-skin bags. *Lait*, 87 (2): 79-95, doi: 10.1051/lait:2007006.
- Hayaloğlu, A. A., Topçu, A., Koca, N. (2011). *Peynir Biliminin Temelleri*. (Hayaloğlu, A.A., Özer, B. Eds.), Sidas Yayıncılık, İzmir.
- Kamber, U. 2008. The traditional cheeses of Turkey: The Aegean region. *Food Reviews International*, 24(1): 39-61, doi: 10.1080/87559120701762195.
- Khosrowshahi, A., Madadlou, A., Mousavi, M.E., Emam-Djomeh, Z. (2006). Monitoring the chemical and textural changes during ripening of Iranian white cheese made with different concentrations of starter. *Journal of Dairy Science*, 89: 3318-3325, doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72368-2.
- Kısak, E.Y. (2021). Koyun ve keçi sütlerinden üretilen İzmir Tulum peynirinin biyoaktif özelliklerinin ve uçucu bileşiklerinin belirlenmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Malatya, Türkiye, 129 s.
- Koca, N. (1996). Çeşitli starter kültür kombinasyonlarının İzmir teneke tulum peynirinin nitelikleri üzerine etkileri. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 101 s.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A., Akyüz, N. (1991). Erzincan Tulum (Şavak) peynirinin yapılışı, duysal, fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerinde bir araştırma. *Gıda*, 16(5): 295-302.
- Kruskal, J.B. (1964). Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika*, 2: 1-27, doi: 10.1007/BF02289565.
- McSweeney, P L.H., Sousa, M.J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening. *Le Lait*, 80(3): 293-324, doi: 10.1051/lait:2000127.
- Meilgaard, M., Civille, G.V., Carr, B.T. (1999). *Descriptive analysis techniques. Sensory evaluation techniques*. (3. Edition CRC Press), Inc. Boca Raton, FL, 161-170 p.
- Metin, M. (2006). Süt Teknolojisi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Yayın No: 33, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, s. 623.
- NIST, (2008). NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 08). National institute of standards and technology standard reference data program, Gaithersburg, M.D 20899.

- Renner, E. (1986). Milchpraktikum. Fachgebiet Milchwissenschaft Justic-Liebing Universität, Giessen, 57 p.
- Soltani, M. (2013). İran'da üretilen ultrafiltre beyaz peynirin özellikleri üzerine tuz oranı ve depolama süresinin etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Adana, Türkiye, 197 s.
- TS (1978). Türk Standartları Enstitüsü. Peynirde yağ miktarı tayini (Van Gulik Metodu). TS 3046. Ankara.
- TS (2013). Türk Standartları Enstitüsü. Beyaz Peynir Standardı. TS 591. Ankara.
- Tulukoğlu, G.B. (2019). İzmir Tulum peyniri yapımında peyniraltı suyu (PAS) kültürünün kullanımı. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 125 s.
- Tunick, M.H., Malin, E.L., Smith, P.W, Shich, J.J., Sullivan, B.C., Mackey, K.L., Holsinger, V.H. (1993). Proteolysis and rheology of low fat and full fat Mozzarella cheeses prepared from homogenized milk. *Journal of Dairy Science*, 76: 3621–3628, doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77703-6.
- Urbach, G. (1993). Relations between cheese flavour and chemical composition. *International Dairy Journal*, 3: 389-422, doi: 10.1016/0958-6946(93)90025-U.
- Uzkuç, H. (2014). Keçi peynirinin bazı kalite kriterleri üzerine hızlı olgunlaşmanın etkileri. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale, Türkiye, 113 s.
- Üçüncü, M. (2004). Peynirlerin Sınıflandırılması. A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi. Meta Basım, Bornova, İzmir, s. 748-758.
- Viallon, C., Martin, B., Verdier-Metz, I. (2000). Transfer of monoterpenes and sesquiterpenes from forages into milk fat. *Le Lait*, 80(6): 635–641, doi: 10.1051/lait:2000150.
- Walstra, P., Vandijk, H.J.M., Geurts, T.J. (1987). The syneresis of curd. In: P.F. Fox, Cheese: Chemistry, Physic and Microbiology. (Ed: Fox, P.F.), Elsevier Applied Science, New York, 135-179 p.
- Wiley, (2005). Wiley registry of mass spectral data. 7. Edition (Fred. W. McLafferty), ISBN: 978-0471473251, (CD-ROM).
- Yaygın, H. (1971). Salamuralı tulum peyniri yapılışı ve özellikleri üzerine araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8: 91-124.
- Yerlikaya, O. (2012). Süt ve geleneksel süt ürünlerinden probiyotik özellikleri Enterococcus türlerinin izolasyonu, tanılanması ve İzmir Tulum peyniri üretiminde destek kültür olarak kullanım olanaklarının araştırılması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, Türkiye, 237 s.
- Zheng, Y., Liu, Z., Mo, B. (2016). Texture profile analysis of sliced cheese in relation to chemical composition and storage temperature. *Journal of Chemistry*, 1: 1-10, doi: 10.1155/2016/8690380.

KATIK KEŞİ ÜRETİMİ İÇİN EN UYGUN KURUMADDE VE YAĞ ORANININ BELİRLENMESİ*

Kübra Özcan, Hayri Coşkun**

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu, Türkiye

Geliş/Received: 11.08.2023; Kabul /Accepted: 11.10.2023; Online baskı /Published online: 13.10.2023

Özcan, K., Coşkun, H. (2023). Katık Keşi üretimi için en uygun kurumadde ve yağ oranının belirlenmesi. GIDA (2023) 48 (6) 1172-1184 doi: 10.15237/ gida.GD23092

Özcan, K., Coşkun, H. (2023). Determination of the most suitable dry matter and fat ratios for "Katık Keş" production. GIDA (2023) 48 (6) 1172-1184 doi: 10.15237/ gida.GD23092

ÖZ

Bu çalışmada, geleneksel bir süt ürünü olan Katık Keşi üretimi için en uygun kuru madde ve yağ oranının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmadan elde edilen kurutma süresi ve yağ oranları dikkate alınarak yeniden üretilen Keş örnekleri 90 gün buzdolabı sıcaklığında depolanarak bazı kimyasal, biyokimyasal, fiziksel, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri incelenmiştir. Keş örneklerinde 42 saat kurutma (kuru madde % 74.37) ve %30 yağ oranı ideal parametreler olarak belirlenmiştir. Katık Keşi örneklerinin 90 günlük depolaması sonunda kuru madde %72.81, yağ % 28.50, protein %27.36, tuz %6.67, asitlik % 0.77, pH 4.17 ve su aktivitesi 0.76 olarak tespit edilmiştir. Depolama boyunca örneklerin proteoliz (WSN) ve lipoliz (ADV) değerlerinde önemli bir değişim olmamıştır ($P > 0.05$). Depolama sonunda örneklerde koliform ve maya-küfe rastlanmamıştır. Katık Keşi örneklerinin L^* ve a^* renk değerlerinde depolama boyunca önemli bir değişim olmazken ($P > 0.05$), b^* değeri depolamanın başında yüksek çıkmıştır ($P < 0.05$). Yapılan duyuşal değerlendirmelerde genel beğeni puanı 3.94 olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Katık Keş, Keş üretimi, Kurut

DETERMINATION OF THE MOST SUITABLE DRY MATTER AND FAT RATIOS FOR "KATIK KEŞ" PRODUCTION

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine ideal dry matter and fat ratios for production of traditional dairy product "Katık Keş". By consideration of the drying time and fat ratio obtained from the study, the samples were reproduced and some chemical, biochemical, physical, microbiological and sensory properties were investigated during storage at refrigerator for 90 days. The ideal dry matter ratio was determined as 74.37% and fat ratio as 30%, by drying 42 hours. At the end of the 90-day storage of "Katık Keş" samples, dry matter was obtained as 72.81%, fat 28.50%, protein 27.36%, salt 6.67%, acidity 0.77%, pH 4.17 and water activity 0.76. There were no significant changes in proteolysis (WSN) and lipolysis (ADV) values of the samples during storage ($P > 0.05$). At the end of storage, coliforms and yeasts-molds were not detected in the samples. While there were no significant changes

* Bu makale Kübra ÖZCAN'ın, "Katık Keşi üretiminde önemli bazı parametrelerin optimizasyonu" isimli yüksek lisans tezinden hazırlanmıştır / This article was prepared from Kübra ÖZCAN's master's thesis titled "Optimization of some important parameters in Katık Keş production"

** Sorumlu yazar /Corresponding author:

✉:coskunhayri@ibu.edu.tr

☎: (90) 374 254 1000/5829

Kübra Özcan; ORCID no: 0000-0002-3580-5744

Hayri Coşkun; ORCID no: 0000-0001-9813-0046

in L* and a* color values of the samples during storage ($P > 0.05$), b* value was the highest at the beginning of storage ($P < 0.05$). In sensory evaluations, the general appreciation score was determined as 3.94.

Keywords: ‘Katkı Keş’, ‘Keş’ production, ‘Kurut’

GİRİŞ

“Keş” veya “Kurut”, Türklerin Orta Asya ve Anadolu’da yüzyıllardır üretilip tüketmekte olduğu geleneksel bir süt ürünüdür. Kaşgarlı Mahmud (1008-1105), "Kurut" kelimesini kuru peynir veya yağsız süttten veya ayrandan elde edilen "çökelek" olarak açıklamıştır (Erdi ve Yurtsever, 2005). Türkiye’de birçok Kurut veya Keş çeşidi bulunmaktadır. Bolu’da üretilen Makarnalık Keş, Kızartmalık Keş, Katık Keşi (Coşkun vd., 2008), yine diğer bazı yörelerde üretilen Taze Keş, Sarı Keş, Kuru Keş, Deri Keş, Gök (küflü) Keş, Kars kaymaklı Kurut, Hatay usulü baharatlı Sürük, Bitlis Kurutu ve Giresun Keşi bunlara örnek olarak verilebilir (Ünsal, 2007; Kalender ve Güzeler, 2013). Keş; benzer şekilde İran’da Kaşk, Lübnan’da Kishk, Suriye’de Jub-Jub ve Irak’ta Kuşuk olarak bilinir. Kurut veya Keş Kırgız, Kazak, Tatar ve Özbek Türkleri tarafından yaygın olarak üretilen bir süt ürünüdür (Soltani ve Güzeler, 2009). Bu ürünler kendi aralarında farklı özellik ve lezzetlere sahip olabilmektedirler.

Keş yapımında ilk olarak inek sütünün kaymağı alınarak ısıtılır ve yoğurda işlenir. Sonra yoğurt soğutulur ve bez torbalarda bir gece dinlendirilerek süzülmesi sağlanır. Süzülen yoğurda istenen miktarda tuz katılarak şekil verilir ve güneşte kurutulur. Farklı bir yöntemde ise, yoğurt yayıklanarak tereyağı alınır, geriye kalan ayranın ısıtılmasıyla çökelek elde edilir. Elde edilen çökelek süzülür, tuzlanır ve şekil verilerek kurutulur (Coskun vd., 2008).

Ülkemizde hemen her yörede üretilen Keş veya Kurut örneklerinin kimyasal, biyokimyasal, mikrobiyolojik özellikleri ortaya konmuştur. Akyüz ve Gülümser (1987) Kurut örneklerinde kuru maddeyi %79.69, yağı %10.58, proteini % 52.89, tuzu %9.66, asitliği 59.75 °SH olarak bulmuşlardır. Örneklerde maya-küf sayısı 3.70 log KOB/g şeklinde tespit edilmiştir. Van ve Yöresinde üretilen Kurut örneklerinde yapılan bir araştırmada ortalama kuru madde % 85.51, asitlik % 1.18, tuz % 12.18, yağ % 8.52, protein % 54.64

şeklinde bulunmuştur (Akyüz vd., 1993). Çakır vd. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, Bolu yöresinden alınan 20 Keş örneğinin ortalama pH değerini 3.81, kuru madde oranını %61.59, kül oranını %13.66, protein oranını %32.42, yağ değerini %6.30, tuz oranını %13.26, asitlik değerini %0.22, olgunlaşma derecesini %5.76 ve lipoliz değerini 3.62 ADV şeklinde vermektedirler. Güven ve Karaca (2009) Van ve Şırnak yöresinden aldıkları 22 adet Kurut örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada, kuru madde miktarını %86.86, protein oranını %53.41, yağ oranını %8.44 ve tuz oranını %10.44 olarak bulmuşlardır. Kars ve çevresinde 50 adet Kurut örneği ile yapılan bir araştırmada, örneklerin pH değeri 4.2, asitliği %2.9, tuz miktarı %6.7, nem miktarı %12.1, yağ oranı %45.9 ve protein oranı %25.5 olarak elde edilmiştir (Dinçel ve Alçay, 2017). Mollabashi ve Aydemir Atasever (2018) tarafından yapılan bir çalışmada; geleneksel Kurutun su aktivitesi 0.598 olarak tespit edilmiştir. Gürbüz vd. (2018) Bışkek pazarlarından aldıkları 90 Kurut örneğinin nem oranını %15.54 ve tuz oranını %12.51 olarak rapor etmişlerdir.

Tarakçı vd. (2001) Ordu yöresinden topladıkları 20 Keş örneğinde maya-küf sayısını 4.68 log KOB/g olarak bulmuşlar ve örneklerde koliform grubu bakteriye rastlamamışlardır. Patır ve Ateş (2002) Elazığ bölgesinden aldıkları 25 Kurut örneğinde koliform bakteri sayısını 2.45 log KOB/g ve maya-küf sayısını 4.05 log KOB/g şeklinde tespit etmişlerdir. Erzurum ve Bingöl çevresinde 43 Kurut örneğinde maya-küf sayısı 5.20 log KOB/g ve koliform grubu mikroorganizma sayısı 2.57 log KOB/g şeklinde bulunmuştur (Atasever, 2007). Kars ilinden alınan 50 Kurut örneğinde koliform bakteriye rastlanmamıştır (Kamber, 2008). İran’da üretilen Kurut örneklerinin 3’ünde koliform, 2 örnekte *Staphylococcus aureus* saptanmış ve *Escherichia coli* tespit edilememiştir (Soltani ve Güzeler, 2009).

Makarnalık Keşin üretim prosesinin optimize edilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, yoğurt üretiminde iki farklı yöntem dikkate alınmıştır. Birinci yöntemde nihai pH 4.00 olacak şekilde yoğurt elde edilmiş ve süzölmüş, ikinci yöntemde ise pH 4.60 olduğunda fermentasyona son verilmiş ve yoğurtlar ısıtılarak süzölmüştür. Çalışmada pH değeri 4.60 olan yoğurtlar için 600 devir 60 dakika, pH 4.00 olan yoğurtlar için 600 devir 90 dakika en uygun santrifüj parametreleri olarak kaydedilmiştir. İlaveten ideal tuz oranının %3, kurutmanın ise 25 °C'de ve 1.50 m/sn hava akım hızında ideal olduğu rapor edilmiştir (Yaman ve Coşkun, 2017). Emirmustafaoğlu ve Coşkun, (2017a) tarafından Kızartmalık Keş üretim parametrelerinin optimizasyonu üzerine yapılan çalışmada; süt yağının %3, yoğurt inkübasyon pH'sının 4.80'de sonlandırılması gerektiği ve yoğurttan serum uzaklaştırılması için en uygun santrifüj yönteminin sıralı bir şekilde 200 devirde 1 saat, 400 devirde 1 saat, 600 devirde 1 saat olduğu saptanmıştır. En ideal tuz oranının %1, ayrıca en ideal kurutma parametrelerinin 25 °C'de 0.5 m/s fan hızında 10 saat olarak tespit etmişlerdir.

Bolu'da üretilen Katı Keşi ve özellikleri üzerinde yapılan bir çalışmada; pH 3.90, kuru madde %67.05 (%44.90-85.12 arasında), yağ %8.78 (%1.50-20.00 arasında), protein %36.59, tuz %5.20, asitlik %1.35 ve su aktivitesi (aw) 0.76 olarak bulunmuştur. Araştırmacılar maya-küf sayısını 5.98 log KOB/g ve koliform grubu mikroorganizma sayısını 3.36 log KOB/g olarak tespit etmişlerdir (Coşkun vd., 2020). Görüldüğü üzere ürünün kalite özelliklerine önemli etkisi olan kuru madde ve yağ değerleri oldukça değişkenlik göstermektedir.

Katık Keşi üretiminde ideal kuru madde ve yağ oranlarının belirlenmesi üzerine çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, Bolu'da geleneksel olarak üretilen Katık Keşi üretimi için en uygun kuru madde ve yağ oranının belirlenmesi ve depolama boyunca üründe meydana gelen değişmelerin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada kuru madde standardizasyonu için %3.1 yağlı UHT süt (kuru madde %11, pH 6.87);

yağ standardizasyonu için %3.1 yağlı UHT süt, %1.4 yağlı UHT süt (kuru madde %10, pH 6.54), %0.5 yağlı UHT süt (kuru madde %9, pH 6.38) ve depolama çalışması için de %3.1 yağlı UHT süt kullanılmıştır. Yoğurt yapımında starter kültür olarak *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Chr. Hansen Holding A/S, Danimarka) laktik asit bakterileri içeren hazır toz kültür aktive edilerek kullanılmıştır.

Katık Keşi üretimi için en uygun kuru madde oranının belirlenmesi

Katık Keşi üretiminde, genel olarak Emirmustafaoğlu ve Coşkun (2017a) tarafından Kızartmalık Keş için verilen yöntem, bazı parametreler modifiye edilerek takip edilmiştir. En ideal kuru madde için, piyasadan alınan %3.1 yağlı UHT sütün sıcaklığı 44 °C'ye getirilmiş ve daha önceden aktive edilen yoğurt starteri ile %2 oranında inoküle edilerek inkübasyona bırakılmıştır. Ortamın pH'sı 4.80'e düştüğünde örnekler 7 °C'de bir gece dinlendirilmiştir. Ertesi gün yoğurt santrifüj tamburunun içindeki süzme bezine aktararak bir müddet kendi haline bırakılmıştır. Bilahare santrifüj 200 rpm'de 2 saat, 400 rpm'de 1.5 saat ve 600 rpm'de 1 saat çalıştırılarak serum uzaklaştırılmıştır. Santrifüjlemeden sonra elde edilen süzölmüş yoğurdun tuz oranı %3 olacak şekilde kuru tuz ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Daha sonra tuzlanmış süzme yoğurt kalıplara (çap 7 cm ve yükseklik 4 cm silindirik kalıp) yaklaşık 156 g olacak şekilde sıkıca doldurulmuştur. Ardından kalıplar oda sıcaklığında bir gece (yaklaşık 14 saat) dinlendirilmiş, bilahare örnek alınarak öngörülen analizler yapılmıştır. Keş örnekleri, sıcaklığı 25 °C ve fan hızı 0.5 m/s olan endüstriyel kurutucuda (Eksis Endüstriyel Kurutma Sistemleri, Isparta) kurutulmuştur. Katık Keşi örnekleri önce 12 saat kurutulmuş, daha sonra çatlamaları önlemek için streçlenerek buzdolabı sıcaklığında 12 saat dinlendirilmiştir. Bu işlem kurutma bitene kadar tekrar edilmiştir. Kuruma esnasında örnekler altı saatte bir alt-üst edilmiştir. Kurutmanın 6., 18., 30., 42. ve 54. saatlerinde örnekler alınarak hedeflenen analizler yapılmıştır. Analizler bitene kadar örnekler buzdolabında saklanmıştır. En uygun kuru madde oranına sahip Katık Keşi örnekleri duyuşal analizlerle belirlenmiştir.

Böylece en ideal kurutma süresi de elde edilmiştir. Çalışma iki tekerrürlü yürütülmüştür.

Katkı Keşi üretimi için en uygun yağ oranının belirlenmesi

En uygun yağ oranı tespiti için Katık Keşi üretimi yukarıda anlatıldığı gibi yapılmıştır. Üretimde aynı üretici firmanın %3.1 yağlı, %1.4yağlı ve %0.5 yağlı UHT sütleri kullanılarak, üç farklı yağ oranına sahip Katık Keşi örnekleri üretilmiştir. Örnekler sıcaklığı 25 °C ve fan hızı 0.5 m/s olan endüstriyel kurutucuda, 12 saat arayla 42 saat tutularak kurutulmuştur. Katık Keşi örneklerinden kurutma öncesi ve sonrası örnekler alınarak hedeflenen analizler yapılmıştır. Çalışma sonunda yapılan duyu analizlerinde en beğenilen yağ oranına sahip örnek dikkate alınarak bir sonraki aşamaya geçilmiştir. Üretim iki tekerrürlü yapılmıştır.

Depolama çalışması

Çalışmadan elde edilen en ideal parametreler (kurutma sıcaklığı 25 °C, fan hızı 0.5 m/s, süre 42 saat ve süt yağ oranı % 3.1) dikkate alınarak depolama çalışması için tekrar Katık Keşi üretilmiş ve üretilen örnekler 4 °C'de 3 ay depolanmıştır. Depolanmanın 0., 30., 60. ve 90. günlerinde öngörülen analizler yapılmıştır. Çalışma iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Uygulanan Analizler

Çalışmada kullanılan hammadde süt ve Katık Keşi örneklerinde kuru madde gravimetrik yöntemle, yağ tayini Gerber yöntemiyle, tuz miktarı tayini, pH ve % asitlik tayini Kurt vd. (1996)'nin belirttiği yöntemlere göre; protein tayini Metin (2016)'e göre Kjeldahl yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Katık Keşi örneklerinde su aktivitesi (a_w) tayininde Novasina marka (LabMASTER-aw, İsviçre) cihaz kullanılmıştır. Suda çözünen azot (WSN) Bütikofer vd. (1993) tarafından bildirilen yöntemle, asitlik derecesi değeri (acid degree value) (ADV) Salji ve Kroger (1981) ile Case vd. (1985)'nin belirttiği yöntemle yapılmıştır. Mikrobiyolojik analizler için dilüsyonlar Halkman ve Akçelik (2000)'e göre hazırlanmıştır. Koliform grubu bakteri sayımında Violet Red Bile Agar (VRBA) kullanılmış, petripler 35 °C'de 48 saat inkübasyondan sonra etrafında zon oluşan mor-kırmızı renkteki koloniler sayılmıştır (Frank vd.,

1985). Maya-küf sayımında Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar kullanılmış ve ekimi yapılan petriplerin 25 °C'de 3-5 gün inkübasyonu sonunda oluşan koloniler sayılmıştır (Halkman, 2005). Katık Keşi örneklerinin CIE L*, a* ve b* değerleri, renk tayin cihazı (Konica Minolta CR400, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. En uygun kuru madde ve yağ oranı belirleme çalışmasının duyu analizlerinde tercih testi, depolama çalışması duyu analizlerinde puantajla derecelendirme testi kullanılarak 10 kişilik eğitilmiş bir grup tarafından gerçekleştirilmiştir (Metin, 1977). Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi kullanılmıştır (Devore ve Peck, 1993). İstatistiksel analizlerde SPSS Statistics 25.0 programı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Katkı Keşi üretimi için ideal kuru madde oranı

Üretilen Katık Keşi örneklerinin farklı sürelerde kurutulması neticesinde alınan örneklerde yapılan bazı kimyasal analiz sonuçları Çizelge 1'de sunulmuştur.

Katkı Keşi örneklerinin Kuru madde değeri kurutma öncesinde yaklaşık %40 iken, 54 saatlik kurutma sonunda yaklaşık %77'ye çıkmıştır ($P < 0.05$) (Çizelge 1). Bu değerler; Güven ve Karaca (2009)'nın Şırnak bölgesine ait Kurut örnekleri için rapor ettikleri ortalama %87.87 değerinden düşük; Tarakçı vd. (2001)'nin Ordu ve yöresi Keş örnekleri için tespit ettikleri en düşük kuru madde oranı %60.69 ve en yüksek %78.40 değerlerine benzerlik göstermektedir.

Yağ değerleri kurutma başlangıcında %16.63'ten, 54 saatlik kurutma sonunda %29.75'e çıkmıştır ($P < 0.05$). Kurutmanın da etkisiyle kuru madde değerlerinde meydana gelen artışa paralel olarak yağ değerleri de artış göstermiştir. Çalışmadan elde edilen yağ oranları Akyüz vd. (1993)'nin elde ettiği yağ oranlarından (ortalama %8.52) yüksektir. Katık Keşi örneklerinde kurumaya bağlı olarak tuz değerleri de artmıştır ($P < 0.05$). Tuz oranları başlangıçta %3.29 iken, kurutmanın sonunda %5.42'ye çıkmıştır. Tuz değerleri Kamber (2008) ile Tarakçı vd. (2001) tarafından

Kurut örnekleri için bildirilen ortalama değerden düşüktür. Örneklerin % asitlik değerleri kurutma boyunca artış göstermiş ve 54. saatin sonunda %0.80 olmuştur. Kurutma boyunca asitlik değerleri artarken, pH değerleri düşüş göstermiş ($P > 0.05$) ve kurutmanın 54. saatinde en düşük pH değeri (4.30) elde edilmiştir. Elde edilen pH ve asitlik değerleri, Patır ve Ateş (2002) tarafından verilen pH (ortalama 4.26) ve asitlik (%2.40) değerlerinden düşüktür. Katık Keşi örneklerinin kurutulmasıyla su aktivitesi (a_w) değerleri, kurutma boyunca su kaybıyla beraber düşüş göstermiştir (P

< 0.05). Su aktivitesi değeri kurutma başlangıcında 0.93, kurutmanın 54. saatinde 0.75 olmuştur. Kurutma sonunda elde edilen değer (54. saat), Coşkun vd. (2008)'nin 20 gün kurutulan Keş örnekleri için bildirdikleri değer (0.75) ile benzerdir.

Katık Keşi örneklerinin kurutulması esnasında iç ve dış yüzeyde meydana gelen renk değişimleri Çizelge 2'de bir araya getirilmiştir.

Çizelge 1. İdeal kuru madde oranının belirlenmesi sırasında Katık Keşi örneklerinin bazı kimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler

Table 1. Changes in some chemical properties of 'Katık Keş' samples during determination of the ideal dry matter ratio

Özellikler Properties	Kurutma süreleri (saat) ($\bar{x} \pm SD, n=2$)					
	Drying times (hour) ($\bar{x} \pm SD, n=2$)					
	0	6	18	30	42	54
Kuru madde (%) Dry matter (%)	39.90 \pm 0.085 ^{a*}	44.07 \pm 2.256 ^a	58.38 \pm 3.663 ^b	70.45 \pm 1.188 ^c	74.37 \pm 1.315 ^c	77.20 \pm 0.092 ^c
Yağ (%) Fat (%)	16.63 \pm 0.530 ^a	17.13 \pm 0.177 ^a	20.38 \pm 3.359 ^{ab}	28.63 \pm 1.59 ^{bc}	29.63 \pm 3.359 ^c	29.75 \pm 1.061 ^c
Tuz (%) Salt (%)	3.29 \pm 0.082 ^a	3.17 \pm 0.408 ^a	4.73 \pm 0.653 ^{ab}	4.79 \pm 0.571 ^{ab}	5.66 \pm 0.490 ^b	5.42 \pm 0.326 ^b
Asitlik (%) Acidity (%)	0.37 \pm 0.064 ^a	0.48 \pm 0.019 ^a	0.61 \pm 0.038 ^a	0.76 \pm 0.198 ^a	0.77 \pm 0.269 ^a	0.80 \pm 0.256 ^a
pH	4.52 \pm 0.071 ^a	4.52 \pm 0.014 ^a	4.55 \pm 0.057 ^a	4.45 \pm 0.085 ^a	4.38 \pm 0.141 ^a	4.34 \pm 0.113 ^a
Su aktivitesi (a_w) Water activity (a_w)	0.93 \pm 0.000 ^d	0.92 \pm 0.001 ^d	0.88 \pm 0.013 ^{cd}	0.83 \pm 0.029 ^{bc}	0.78 \pm 0.017 ^{ab}	0.75 \pm 0.009 ^a

n: Tekerrür sayısı, \bar{x} : Ortalama değer, SD: Standart sapma, *: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0,05$), aynı harf taşıyanlar farksızdır ($P > 0,05$).

n: Number of repetitions, \bar{x} : Average value, SD: Standard deviation, *: Means with different letters in the same row are different from each other ($P < 0.05$), means with the same letter are not ($P > 0.05$).

Çizelge 2. Katık Keşi örneklerinin kurutulması esnasında iç ve dış yüzeyde meydana gelen renk değişimleri

Table 2. Color changes on the inner and outer surfaces during the drying of 'Katık Keş' samples

Renk Color	Kurutma süresi (saat) ($\bar{x} \pm SD, n=2$)					
	Drying times (hour) ($\bar{x} \pm SD, n=2$)					
	0	6	18	30	42	54
L*-dış L*-outer	93.01 \pm 0.092 ^{d*}	91.94 \pm 0.827 ^{cd}	87.40 \pm 1.754 ^{bc}	83.21 \pm 1.612 ^{ab}	81.18 \pm 0.976 ^a	79.57 \pm 0.863 ^a
a*-dış a*-outer	-0.06 \pm 0.226 ^a	-0.17 \pm 0.099 ^a	0.00 \pm 0.368 ^a	0.55 \pm 0.325 ^a	0.60 \pm 0.431 ^a	0.87 \pm 0.226 ^a
b*-dış b*-outer	12.89 \pm 0.467 ^a	15.19 \pm 1.499 ^{ab}	23.36 \pm 1.69 ^{bc}	30.46 \pm 4.89 ^c	26.28 \pm 2.05 ^c	26.52 \pm 0.170 ^c
L*-iç L*-inner	92.44 \pm 0.693 ^c	92.09 \pm 1.252 ^c	89.10 \pm 0.339 ^{bc}	86.68 \pm 0.778 ^b	80.27 \pm 0.721 ^a	81.24 \pm 2.751 ^a
a*-iç a*-inner	-0.12 \pm 0.198 ^a	0.04 \pm 0.233 ^a	0.45 \pm 0.021 ^{ab}	0.73 \pm 0.007 ^{abc}	1.22 \pm 0.14 ^{bc}	1.47 \pm 0.445 ^c
b*-iç b*-inner	13.19 \pm 0.410 ^a	14.18 \pm 1.386 ^{ab}	15.22 \pm 0.60 ^{ab}	17.36 \pm 1.810 ^{abc}	19.60 \pm 2.355 ^{bc}	21.52 \pm 1.690 ^c

L*: Siyah (0) - beyaz (100+), a*: Yeşil (-) - kırmızı (+), b*: Mavi (-) - sarı (+). *: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0,05$), aynı harf taşıyanlar farksızdır ($P > 0,05$).

L*: Black (0) -white (100+), a*: Green (-) -red (+), b*: blue (-) - yellow (+). *: Means with different letters in the same line are different from each other ($P < 0.05$), means with the same letter are not ($P > 0.05$).

Çizelgeden izleneceği üzere, örneklerin gerek iç yüzey ve gerekse dış yüzey L (açıklık-koyuluk) değerleri kurutma süresince düşüş eğilimi göstermiştir ($P < 0.05$). Kurutma işlemi Katık Keşi örneklerinin rengini koyulaştırmıştır. Kurutma esnasında iç yüzeyde daha fazla olmak üzere ($P < 0.05$), hem dış yüzeyde ve hem de iç yüzeyde a^* değerlerinde (yeşil-kırmızı) artış meydana gelmiştir. Katık Keşi örneklerinin b^* renk değerleri (mavi-sarı) gerek iç yüzeyde ve gerekse dış yüzeyde kurutma süresi boyunca artmıştır ($P < 0.05$). Artış dış yüzeyde daha fazla olmuştur. Yaman ve Coşkun (2017) Makarnalık Keş

üzerinde yaptıkları çalışmada, pH değeri 4.60 olan yoğurt ile üretilen örneklerde kurutma sonunda L^* değerini 92.56 olarak bulmuşlardır. Bu değer, çalışmamızda kurutma boyunca elde edilen değerlerden yüksektir.

Kuru madde standardizasyonunda, kurutma süresi boyunca Katık Keşi örnekleri duyu test sonuçları Çizelge 3’de sunulmuştur. Çizelgede sonuçlar iki tekrürün tercih toplamı olarak verilmiştir.

Çizelge 3. Kurutma süresi boyunca duyu olarak ilk sırada tercih edilen Katık Keşi örnekleri
Table 3. The samples of 'Katık Keş' preferred in the first place sensorially during the drying period

Özellikler Properties	Kurutma süresi (saat) Drying time (hour)					
	0	6	18	30	42	54
Renk ve görünüş Color and appearance	-	2	6	7	6	4
Yapı ve kıvam Structure and consistency	-	-	-	6	8	6
Lezzet Flavor	-	-	3	6	11	1
Genel beğeni General appreciation	-	-	1	4	12	1

Duyusal renk ve görünüş bakımından, örneklerin ilk sırada tercih edilmiş sayıları kurutmanın 30. saatinde alınan örneklerde en yüksektir. Nitekim renk L^* değeri kurutma boyunca düşüş göstermiştir (Çizelge 2). Yapı ve kıvam bakımından ise kurutmanın 42. saatinde alınan örnekleri birinci sırada tercih eden panelist sayısı en yüksektir. Benzer durum lezzet ile genel beğeni de tespit edilmiştir. Panelistler ayrıca kurutma başlangıcından sonuna doğru örneklerde beyaz renkten koyu renge değişim gösterdiğini ve genel olarak tüm örneklerde yapışkanlık, 42 saat kurutmada kuruluk, doku ve tekstür ile ağızda bıraktığı hissin/tadın iyi olduğunu belirtmişlerdir. Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre lezzet ve genel beğeni bakımından 42 saat kurutulan örnekler en fazla tercih edilmiştir. Çizelge 1’in incelenmesinden anlaşılacağı üzere, 42 saat kurutulan örneklerin kuru madde oranının %74.37, yağ oranının %29.63, tuz oranının %5.66, asitlik değerinin %0.77 ve pH değerinin 4.38 olduğu görülmektedir. Bu değerler Katık Keşi üretimi için en uygun kuru madde oranı belirleme

çalışmaları sonucunda elde edilen en ideal özellikler olarak değerlendirilmiştir.

Katkı Keş üretimi için en uygun yağ oranı

Bu aşamada örnekler 12 saat aryla 42 saat kurutulmuştur. Kurutma öncesi ve 42 saat kurutma sonrası alınan örneklerde yapılan analiz sonuçları Çizelge 4’de bir araya getirilmiştir.

Katkı Keşi örnekleri kuru madde değerleri tüm örneklerde kurutma öncesi yaklaşık %34-40 ve 42 saatlik kurutma sonunda yaklaşık %74-76 arasında olmuştur (Çizelge 4). En yüksek kuru madde değeri, 42 saatlik kurutma sonunda %76.37 ile %1.4 yağlı sütte yapılan örneklerden elde edilmişse de kurutma sonrası her üç örnekte elde edilen kuru madde değerleri arasındaki fark önemsiz ($P > 0.05$) çıkmıştır. Kurutma sonunda %3.1 yağlı sütte yapılan örneklerin yağ değeri %29.63, %0.5 yağlı sütte yapılan örneklerin yağ değeri %8.13 olmuştur ($P < 0.05$). Coşkun vd. (2020) Katık Keşi örnekleri yağ değerini en düşük %1.50, en yüksek %28.00 ve ortalama %8.78

olarak bulmuşlardır. Yağ oranı farklı sütlerden yapılan Katık Keşi örneklerinin kurutma sonrasında asitlik değerlerinde artış meydana gelmiştir. En yüksek asitlik değeri 42 saatlik kurutma sonrasında %0.5 yağlı süttten yapılan örneklerden elde edilmiştir ($P > 0.05$). Benzer sonuçlar pH değerlerinde de tespit edilmiştir. Örneklere ait tuz değerleri kurutmanın etkisiyle artış göstermiştir. Katık Keşi örneklerinde kurutma sonrası en yüksek tuz değeri %0.5 yağlı

sütten yapılan örneklerden (%7.39) elde edilmiştir ($P > 0.05$). Su aktivitesi (a_w) değeri tüm örneklerde başlangıçta 0.93 iken, kurutma sonunda a_w değerleri düşüş göstermiştir ($P > 0.05$).

En uygun yağ oranı tespit çalışmasında, farklı yağ oranlarına sahip sütlerden elde edilen Katık Keşi örneklerinin renk değerlerindeki değişimler Çizelge 5’de bir araya getirilmiştir.

Çizelge 4. İdeal yağ oranı tespiti çalışmalarında farklı yağ oranlarına sahip Katık Keşi örneklerinin bazı kimyasal özellikleri

Table 4. Some chemical properties of ‘Katık Keş’ samples with different fat ratios during determination of the ideal fat ratio studies

Özellikler	Kurutma öncesi ve sonrası değişimler (saat) ($\bar{x} \pm SD$, n=2)					
	Changes before and after drying (hour) ($\bar{x} \pm SD$, n=2)					
	%3.1 Yağlı 3.1% Fat		%1.4 Yağlı 1.4% Fat		%0.5 Yağlı 0.5% Fat	
	0	42	0	42	0	42
Kuru Madde (%) Dry matter (%)	39.90±0.085 ^B	74.37±1.315 ^a	36.00±0.375 ^A	76.38±0.686 ^a	34.69±0.820 ^A	74.92±3.06 ^a
Yağ (%) Fat (%)	16.63±0.530 ^C	29.63±3.359 ^c	10.03±0.035 ^B	18.25±0.000 ^b	4.13±0.177 ^A	8.13±0.17 ^a
pH	4.52±0.071 ^B	4.38±0.141 ^a	4.19±0.064 ^A	4.18±0.078 ^a	4.30±0.000 ^{AB}	4.30±0.00 ^a
Asitlik (%) Acidity (%)	0.37±0.064 ^A	0.77±0.269 ^a	0.68±0.090 ^B	0.90±0.09 ^a	0.52±0.039 ^{AB}	1.11±0.19 ^a
Tuz (%) Salt (%)	3.29±0.081 ^{AB}	5.66±0.490 ^a	3.41±0.082 ^B	6.93±0.000 ^a	3.06±0.081 ^A	7.39±0.97 ^a
Su aktivitesi (a_w) Water activity (a_w)	0.93±0.000 ^A	0.78±0.017 ^a	0.93±0.001 ^A	0.71±0.010 ^a	0.93±0.004 ^A	0.76±0.03 ^a

*: Aynı satırda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar ile farklı küçük harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı büyük harf ya da küçük harf taşıyanlar farksızdır ($P > 0.05$).

*: Means with different capital letters and with lowercase letters in the same line are different from each other ($P < 0.05$), means with the same capital letters and with the same lowercase letters are not ($P > 0.05$).

Çizelge 5. Farklı yağ oranlarına sahip Katık Keşi örneklerinin renklerinde meydana gelen değişimler

Table 5. Changes in the colors of ‘Katık Keş’ samples with different fat ratios

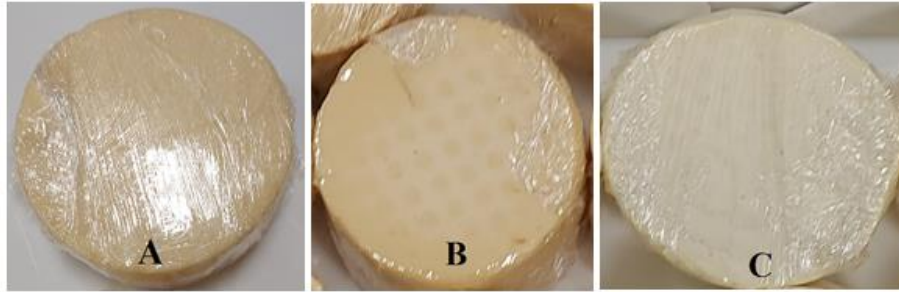
Renk Color	Kurutma öncesi ve sonrası değişimler (saat) ($\bar{x} \pm SD$, n=2)					
	Changes before and after drying (hour) ($\bar{x} \pm SD$, n=2)					
	%3.1 Yağlı 3.1% Fat		%1.4 Yağlı 1.4% Fat		%0.5 Yağlı 0.5% Fat	
	0	42	0	42	0	42
L*-dış L*-outher	93.01±0.092 ^{C*}	81.18±0.976 ^{a*}	91.60±0.488 ^B	77.93±0.226 ^a	94.95±0.170 ^A	86.52±1.018 ^b
a*-dış a*-outher	-0.06±0.226 ^C	0.60±0.431 ^c	0.61±0.064 ^B	2.64±0.212 ^b	-1.67±0.035 ^A	-3.02±0.269 ^a
b*-dış b*-outher	12.89±0.467 ^C	26.28±2.051 ^a	14.19±0.127 ^B	27.82±1.280 ^a	10.68±0.184 ^A	23.72±0.007 ^a
L*-iç L*-inner	92.44±0.693 ^{AB}	80.27±0.721 ^a	90.72±0.785 ^A	75.20±4.596 ^a	94.37±0.672 ^B	84.28±0.559 ^a
a*-iç a*-inner	-0.12±0.198 ^C	1.22±0.141 ^b	0.74±0.071 ^B	3.02±0.742 ^b	-1.77±0.148 ^A	-1.87±0.191 ^a
b*-iç b*-inner	13.19±0.410 ^A	19.60±2.355 ^a	15.09±0.417 ^B	23.13±2.574 ^a	12.01±0.318 ^A	19.33±0.141 ^a

L*: Siyah (0) - beyaz (100+), a*: Yeşil (-) - kırmızı (+), b*: mavi (-) - sarı (+), *: Aynı satırda farklı büyük harf ve küçük harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı büyük harf ve küçük harf taşıyanlar farksızdır ($P > 0.05$).

L*: Black (0)-white (100+), a*: Green (-)-red (+), b*: Blue (-) - yellow (+), *: Means with different capital and lowercase letters in the same line are different from each other ($P < 0.05$), means with the same capital and lowercase letters are not ($P > 0.05$).

Çizelge 5'in incelenmesinden anlaşılacağı üzere, farklı yağ oranlarına sahip Katık Keşi örneklerinin gerek iç ve gerekse dış yüzey L^* değerleri 42 saatlik kurutma süresi sonunda, başlangıç değerine kıyasla düşüş göstermiştir ($P < 0.05$). Başlangıçta daha porselen benzeri renk, kurutma süresi sonunda koyu kremi bir renge dönüşmüştür. Örneklerin a^* değerleri de hem iç ve hem dış yüzeylerde kurutma esnasında artış

göstermiştir ($P < 0.05$). Örneklerin iç ve dış sarılık (b^*) değerleri, kurutma süresi sonunda artmıştır. Kurutma sonunda en düşük iç ve dış sarılık (b^*) değerleri ile en yüksek L^* değerleri %1.4 yağlı örneklerden elde edilmiştir ($P > 0.05$). Kurutma süresi sonunda örneklerin renk değişimleri Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1. Kurutma sonrası farklı yağ oranlarına sahip Katık Keşi örnekleri (soldan sağa A: %3.1 yağlı, B: %1.4 yağlı, C: %0.5 yağlı)

Figure 1. Samples of 'Katık Keş' with different fat ratios after drying (from left to right A: 3.1% fat, B: 1.4% fat, C: 0.5% fat)

En uygun yağ oranını belirleme çalışmalarında gerçekleştirilen duyu analiz sonuçları Çizelge 6'da sunulmuştur. Renk ve görünüş bakımından en çok beğenilen örnekler %0.5 yağlı süttten

yapılanlar olmuştur. Bunu %3.1 yağlı süttten yapılan örnekler takip etmiştir.

Çizelge 6. İdeal yağ oranı tespiti sonucunda duyu olarak en fazla tercih edilen örnekler

Table 6. Sensorially the most preferred samples as a result of ideal fat determination

Özellikler <i>Properties</i>	Örnekler <i>Samples</i>		
	%3.1 Yağlı <i>3.1% Fat</i>	%1.4 Yağlı <i>1.4% Fat</i>	%0.5 Yağlı <i>0.5% Fat</i>
Renk ve görünüş <i>Color and appearance</i>	9	2	10
Yapı ve kıvam <i>Structure and consistency</i>	11	5	4
Lezzet <i>Flavor</i>	11	6	3
Genel beğeni <i>General appreciation</i>	10	6	4

Yapı ve kıvam bakımından en çok tercih edilen Katık Keşi örnekleri ise %3.1 yağlı süttten yapılan örnekler olmuştur. Lezzet bakımından %3.1 yağlı süttten yapılan örnekler birinci sırada tercih edilmiştir. Duyusal panele katılan panelistlerin çoğu, genel beğeni bakımından da %3.1 yağlı süttten yapılan Katık Keşi örneklerini tercih

etmişlerdir. Panelistlerin yaptığı açıklamalarda; 1) %1.4 yağlı süttten yapılan örneklerin yapı ve kıvam bakımından iyi olduğu, ancak tuzlu bulunduğu ve renginin çok sarı olduğu; 2) %0.5 yağlı süttten yapılan örneklerin çok sert ve kırılğan olduğu, ancak renginin iyi olduğu ve 3) %3.1 yağlı süttten yapılan örneklerin yapı olarak kahvaltuya daha

uygun olduğu ifade edilmiştir. Bu aşamada yapılan tüm değerlendirmeler dikkate alındığında %3.1 yağlı Katık Keşi örnekleri en çok tercih edilen örnekler olmuştur.

Depolama boyunca meydana gelen değişimler

En uygun kuru madde oranı için tespit edilen 42 saatlik kurutma ve en uygun yağ oranı için

belirlenen %3.1 yağlı süt kullanımı dikkate alınarak yeniden üretilen Katık Keşi örnekleri üç ay depolanmış ve depolamanın, 0., 30., 60. ve 90. günlerinde analizleri yapılmıştır. Katık Keşi örneklerinin depolanması esnasında kimyasal özelliklerde meydana gelen değişimler Çizelge 7'de sunulmuştur.

Çizelge 7. Depolama boyunca Katık Keşi örneklerinin bazı kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişimler

Table 7. Changes in some chemical, biochemical and microbiological properties of 'Katık Keşi' samples during storage

Özellikler Properties	Depolama zamanı (gün) ($\bar{x} \pm SD$, n=2)			
	Storage time (day) ($\bar{x} \pm SD$, n=2)			
	0	30	60	90
Kuru madde (%) Dry matter (%)	73.55±0.84 ^{a*}	72.73±0.608 ^a	73.05±1.393 ^a	72.81±1.075 ^a
Yağ (%) Fat (%)	26.75±0.354 ^a	27.25±0.000 ^a	28.50±0.354 ^b	28.50±0.000 ^b
Protein (%)	29.41±0.84 ^a	29.55±0.601 ^a	28.50±0.757 ^a	27.36±0.163 ^a
Tuz (%) Salt (%)	6.32±0.33 ^a	5.56±0.579 ^a	5.75±0.079 ^a	6.67±0.827 ^a
Asitlik (%) Acidity (%)	0.79±0.178 ^a	0.76±0.076 ^a	1.03±0.127 ^a	0.77±0.235 ^a
pH	4.19±0.163 ^a	4.17±0.120 ^a	4.19±0.127 ^a	4.17±0.191 ^a
Su aktivitesi (a _w) Water activity (a _w)	0.75±0.006 ^a	0.77±0.001 ^a	0.78±0.006 ^a	0.76±0.021 ^a
WSN (%)	0.09±0.005 ^a	0.08±0.008 ^a	0.06±0.035 ^a	0.09±0.010 ^a
ADV (%)	2.17±0.065 ^a	2.76±0.196 ^b	2.37±0.056 ^{ab}	2.12±0.106 ^a
Koliform (Log KOB/g) Coliforms (Log KOB/g)	<1	<1	<1	<1
Maya-küf (Log KOB/g) Yeasts-molds (Log KOB/g)	3.29±0.049 ^c	3.36±0.445 ^c	1.78±0.247 ^b	0.00±0.000 ^a

*: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harf taşıyanlar farksızdır ($P > 0.05$).

WSN: Suda eriyen azot, ADV: Asitlik derecesi değeri.

*: Means with different letters in the same line are different from each other ($P < 0.05$), means with the same letter are not ($P > 0.05$).

WSN: Water-soluble nitrogen, ADV: Acid degree value.

Depolama boyunca örneklerde kuru madde değerlerinde önemli değişim meydana gelmemiştir ($P > 0.05$). Emirmustafaoğlu ve Coşkun (2017b) tarafından 4 ay depolanan Kızartmalık Keş örneklerinde de kuru madde değerlerindeki değişim önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Çalışmadan elde edilen kuru madde değerleri, Coşkun vd. (2020)'nin bulduğu ortalama değerin (%67.05) üzerindedir. Benzer şekilde protein, tuz, asitlik (%), pH ve su aktivitesi değerlerinde de önemli bir değişim gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Yağ değerleri

depolamanın 60. ve 90 günlerinde benzer çıkmıştır. Coşkun vd. (2020) Katık Keşi örneklerinde; ortalama olarak yağ oranını %28, protein değerini %36.59, tuz oranını %5.20, pH değerini 3.90, asitlik değerini %1.35 ve su aktivitesi değerini 0.76 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre yağ değeri ve su aktivitesi değerleri araştırmacıların buldukları sonuçlarla benzerdir; protein oranı ve asitlik değeri araştırmacıların elde ettikleri değerlerden düşük, tuz oranı ve pH değeri ise yüksek bulunmuştur.

Proteinlerin parçalanma düzeyini gösteren suda çözünen azot (WSN) değerlerinde depolama boyunca önemli bir değişim gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Asitlik derecesi değerleri (ADV) ise 30. güne kadar artmış ($P < 0.05$), sonraki dönemlerde düşüş göstermiştir. Her iki değer in depolama boyunca hemen hemen stabil kalması Katık Keşinin buzdolabı sıcaklığında üç aya kadar tat ve aromasının değişmeden saklanabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda 90. günde elde edilen proteoliz (WSN) değeri (%0.09), Çakır vd. (2009) tarafından verilen ortalama değere (%0.06) yakındır. Lipoliz değerleri ise, Çakır vd. (2009) tarafından 20 Keş örneği için bulunan ortalama (%3.62 ADV) değerinden düşük, Emirmustafaoğlu ve Coşkun (2017b) tarafından kızartmalı Keş örnekleri için bulunan lipoliz değerlerinden (%0.70 ile 1.03 ADV arasında) yüksektir.

Depolama boyunca örneklerde koliform grubu mikroorganizmaya rastlanmamıştır (Çizelge 7). Örneklerde koliform bulunmayışı çalışmanın hijyenik şartlarda üretilmiş olması bakımından önemlidir. Benzer şekilde Emirmustafaoğlu ve Coşkun (2017b) depolama boyunca koliform grubu bakteriye rastlamamışlardır. Örneklerde

maya-küf sayıları 3.29 log KOB/g ile başlamış, depolama sonunda < 1 log KOB/g'a düşmüştür. Çakır vd. (2009) 20 Keş örneği üzerinde yaptıkları bir çalışmada, maya-küf sayısını en düşük 1.69 log KOB/g, en yüksek 6.86 log KOB/g ve ortalama 3.99 log KOB/g olarak bulmuşlardır. Katık Keşi örneklerinin vakum paketlenerek buzdolabı sıcaklığında depolanması maya-küf gelişimini de baskıladığı düşünülmektedir. Netice olarak Katık Keşi örneklerinde mikrobiyel aktivitenin yavaşlaması, ürünün daha uzun süre depolanmasına olanak sağlamaktadır.

Katkı Keşi örneklerinin depolama boyunca iç ve dış yüzey renk değişimleri Çizelge 8'de gösterilmiştir. Depolamanın sonuna doğru örneklerde iç ve dış yüzey L^* değerleri daha yüksek çıkmışsa da, değişim önemsizdir ($P > 0.05$). Aynı şekilde iç ve dış yüzey a^* değerlerinde depolama boyunca artış kaydedilmiş, ancak bu artış önemsizdir ($P > 0.05$). Depolama boyunca dış ve iç yüzey b^* değerlerindeki değişim de önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur. Sonuç olarak, depolama boyunca diğer pek çok parametrede olduğu gibi örneklerin renk değerlerinde önemli bir değişim meydana gelmemiştir.

Çizelge 8. Depolama boyunca Katık Keşi örneklerinde meydana gelen renk değişimleri
Table 8. Color changes in 'Katık Keş' samples during storage

Renk Color	Depolama zamanı (gün) ($\bar{x} \pm SD$, n=2)			
	Storage time (day) ($\bar{x} \pm SD$, n=2)			
	0	30	60	90
L^* -dış L^* -outer	81.97±0.750 ^{a*}	83.02±0.728 ^a	82.65±0.544 ^a	83.97±0.071 ^a
a^* -dış a^* -outer	0.89±0.064 ^a	1.18±0.120 ^a	1.31±0.318 ^a	1.50±0.163 ^a
b^* -dış b^* -outer	22.13±0.537 ^b	18.79±0.219 ^a	18.42±0.629 ^a	17.51±0.396 ^a
L^* -iç L^* -inner	79.76±0.686 ^a	78.85±1.902 ^a	81.09±2.079 ^a	82.40±1.230 ^a
a^* -iç a^* -inner	1.65±0.113 ^a	1.89±0.134 ^a	1.93±0.007 ^a	1.89±0.014 ^a
b^* -iç b^* -inner	18.96±0.983 ^a	20.87±0.007 ^a	20.05±1.047 ^a	19.01±0.134 ^a

L^* : Siyah (0) - beyaz (100+), a^* : Yeşil (-) - kırmızı (+), b^* : Mavi (-) - sarı (+),*: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ($P < 0.05$), aynı harf taşıyanlar farksızdır ($P > 0.05$).

L^* : Black (0) - white (100+), a^* : green (-) - red (+), b^* : blue (-) - yellow (+),*: Means with different letters in the same line are different ($P < 0.05$), means with the same letter are not ($P > 0.05$).

Depolama boyunca çalışmamızdan elde edilen dış yüzey L* değerleri, Emirmustafaoğlu ve Coşkun (2017b)'un elde ettikleri dış yüzey L* değerlerinden (93.81-94.30) düşük, dış yüzey a* ve b* değerleri ise araştırmacılarımızinkinden (ortalama a*:-2.78, b*:14.18) yüksektir. İç yüzey L* değeri araştırmacılarımızın verdiği ortalama değerden (94.89) düşük, iç yüzey a* ve b* değerleri ise araştırmacılarımızın verdiği ortalama değerlerden (a*:-2.11, b*: 11.69) daha yüksektir.

Depolamanın son gününde yapılan duyu analizlerinde Katık Keşi örnekleri 5 puan (Peki) üzerinden değerlendirilmiş ve buna göre örneklerin görünüm puanı 3.83 ± 0.857 , yapı puanı 4.22 ± 0.732 , koku puanı 4.00 ± 1.085 , tat puanı 4 ± 0.840 ve genel beğeni puanı 3.94 ± 0.802 olmuştur. Özetle hemen her duyu özellik bakımından örneklerin iyi puan aldıklarını söylemek mümkündür. Panelistler ayrıca yaptıkları ilave açıklamalarda örneklerde damağa yapışma olduğunu, ancak örneklerin gayet lezzetli ve tuzluluk oranlarının iyi olduğunu beyan etmişlerdir. Kızartmalık Keş üzerinde Emirmustafaoğlu ve Coşkun (2017b) tarafından yapılan çalışmada benzer sonuçlar bulunmuştur.

Bu çalışmada, geleneksel üretim yöntemlerine ve ürün özelliklerine bağlı kalınarak, standart özellikte Katık Keşi üretimi için ideal kuru madde ve yağ oranının belirlenmesi, ayrıca depolama sürecinde meydana gelen değişikliklerin ortaya konması amaçlanmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, Katık Keşi örnekleri üretiminde 12 saat aralıklarla 42 saatlik kurutma neticesinde en ideal kuru madde oranına (yaklaşık %75) ulaşılacağı ve ayrıca en beğenilen örnek %3.1 yağlı süt kullanılarak üretilen Katık Keşi (Katık Keşindeki yağ oranı % 30) örnekleri olmuştur. İlâveten, raf ömrü çalışması sonuçları örneklerin buzdolabı sıcaklığında üç ay rahatlıkla saklanabileceğini göstermiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar dikkate alınarak her daim standart kalitede Katık Keşi üretimi mümkündür. Kısaca çalışma, süt sanayicisinin geleneksel ürünümüz olan Katık Keşini gelecek nesillere aktarmada faydalanabileceği önemli sonuçlar içermektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makalede, diğer kişiler ve kurumlar arasında herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

Kübra Özcan, Katık Keşi örneklerinin üretimi ve analizlerin yapılmasında; Hayri Coşkun, projenin hazırlanması, yürütülmesi ve makalenin yazımında katkıları olmuştur.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı (proje no: BAP – 2020.09.04.1464) maddi olarak destekleyen Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Akyüz, N., Coşkun, H., Bakırcı, İ., Çon, A. H. (1993). Van ve yöresinde imal edilen Kurutlar üzerinde bir araştırma. *GIDA*, 18(4): 253-257.

Akyüz, N., Gülümser, S. (1987). Kurutun yapılışı ve bileşimi üzerine bir araştırma. *GIDA*, 12(3): 185-191.

Atasever, M. A. (2007). Erzurum ve Bingöl yöresinden toplanan Kurut örneklerinin mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Erzurum; Türkiye, 64s.

Bütikofer, U., Rüegg, M., Ardö, Y. (1993). Determination of nitrogen fractions in cheese: Evaluation of a collaborative study. In *LWT - Food Science and Technology*, 26(3): 271-275.

Çakır, I., Coşkun, H., Akoğlu, I. T., İşleyen, M. F., Kırılan, M., Bayrak, A. (2009). Introducing a traditional dairy product Keş: Chemical, microbiological, and sensorial properties and fatty acid composition. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 7(3-4): 116-119.

Case, R.A., Bradley, R.L., Williams, R.R. (1985). *Chemical and physical methods. In: Standard methods for the examination of dairy products.* Richardson, G. H. (chief ed.), Volume 15, American Public Health Association, Washington, pp. 327-404.

Coşkun, H., Bayrak, A., Çakır, İ., Akoğlu, I. T., Kırılan, M., İşleyen, F. (2008). Bolu ve çevresinde

- üretilen ve geleneksel bir süt ürünü olan Keş'in yapılışı. *Dünya Gıda Dergisi*, 2: 42-47.
- Coşkun, H., Sarıca, E., Büyüktanır, B., Baş, N., Tanrıkulu, E., Bıçak, K. N., Güzel, C., Emecen, B. (2020). Some characteristics of "Katkı Keş" a traditional Turkish dairy product. *GIDA*, 45(3): 564-571.
- Devore, J., Peck, R. 1993. *Statistics: The exploration and analysis of data*, Duxbury Press, An imprint of Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, USA, 881 p.
- Dinçel, E., Alçay, A. Ü. (2017). Kurut ve Türk Mutfağında Kullanımı. *Aydın Gastronomy* 1(2): 31-39.
- Emirmustafaoğlu, A., Coşkun, H. (2017a). Kızartmalık Keş Üretim Teknolojisinin Optimizasyonu. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(3): 357-369.
- Emirmustafaoğlu, A., Coşkun, H. (2017b). Üretim parametreleri optimize edilmiş Keş örneklerinde depolama boyunca meydana gelen değişimler. *GIDA*, 42(6): 643-653.
- Erdi, S., Yurtsever, S.T. (2005). *Dîvânü Lügâti't Türk* (Kaşgarlı Mahmud). Kabcacı Yayınevi, Himaye-i Etfal Sok. 8-B Cagaloğlu 34110, İstanbul, Türkiye, 725 s.
- Frank, J.F., Hankin, L., Koburger, J.A., Marth, E.H. (1985). *Test for groups of microorganisms. In Standart methods for the examination of dairy products* (Ed. Gary H. Richardson), 15th edition, APHA, Washington D.C, USA, 412 p.
- Gürbüz, Ü., İstanbullugil, F. R., Biçer, Y. (2018). Kurut Üretim Teknolojisi ve Kalite Niteliklerinin Belirlenmesi. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 8(1): 59-67.
- Güven, M., Karaca, O. B. (2009). Van ve Şırnak illerinden temin edilen kurutulmuş yoğurtların (Kurut) bileşim özellikleri. *GIDA*, 34(6), 367-372.
- Halkman, A.K (ed). (2005). *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Merck, Başak Matbaacılık, Ankara, Türkiye, 358s.
- Halkman, K., Akçelik, M. 2000. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları: 05. Gıdaların mikrobiyolojik analizi 1. temel ilkeler*, Sim Matbaacılık Ltd Şti., Ankara, Türkiye, s 203-228.
- Kalender, M., Güzeler, N. (2013). Anamur Yöresi Keş Çeşitleri ve Bazı Kimyasal Özellikleri. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2): 1-10.
- Kamber, U. (2008). The manufacture and some quality characteristics of Kurut, a dried dairy product. *Food Reviews International*, 24(1): 95-118.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (1996). *Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları no: 18, Erzurum, Türkiye, 238s.
- Metin, M. 1977. *Süt ve Mamullerinde Kalite Kontrolü*. Ankara Ticaret Borsası Yayınları No: 1, Ankara, Türkiye, 352 s.
- Metin, M. 2016. *Süt ve Mamullerinde Analiz Yöntemleri*, Ege Üniversitesi Rektörlük Yayınları No:9, İzmir, Türkiye, 439 s.
- Mollabashi, N. M., Atasever, M. A. (2018). İran'da Satışa Sunulan Kurutların (Kishk) Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 13(1): 70-76.
- Patır, B., Ateş, G. (2002). "Kurut" un mikrobiyolojik ve kimyasal bazı nitelikleri üzerine araştırmalar. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26(4): 785-792.
- Salji, J.P., Kroger, M. 1981. Proteolysis and lipolysis in ripening cheddar cheese made with conventional bulk starter and with frozen concentrated direct-to-the vat starter culture, *Journal of Food Science*, 46: 1345-1348.
- Soltani, M., Güzeler, N. (2009). İran'da Üretilen Kurutların Bazı Kalite Özellikleri. *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 20(1): 168-176.
- Tarakçı, Z., Küçüköner, E., Bayram, Y. (2001). Ordu ve yöresinde imal edilen Keşin yapılışı ve bazı özellikleri üzerinde bir araştırma. *GIDA*, 26(4): 295-300.
- Ünsal, A. 2007. *Silivrim kaymak-Türkiye'nin yoğurtları*, 2.baskı, Yapı Kredi Kültür Sanat Yayınları 2535, İstanbul, Türkiye, 375 s.

Yaman, H., Coşkun, H. (2017). Optimization of production technology of Keş for frying. *Indian Journal of Dairy Science*, 70(2): 167-177.

POTANSİYEL BİR FONKSİYONEL GIDA OLARAK FARKLI TURP (*RAPHANUS SATIVUS*) ÇEŞİTLERİNE AİT TOZLARIN KİMYASAL VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Tekmile Cankurtaran-Kömürcü*

Necmettin Erbakan Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya, Türkiye

Geliş/Received: 02.05.2023; Kabul /Accepted: 09.10.2023; Online baskı /Published online: 16.10.2023

Cankurtaran Kömürcü, T. (2023). Potansiyel bir fonksiyonel gıda olarak farklı turp (*Raphanus sativus*) çeşitlerine ait tozların kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin değerlendirilmesi. GIDA (2023) 48 (6) 1185-1198 doi: 10.15237/gida.GD23057

Cankurtaran Kömürcü, T. (2023). Evaluation of the chemical and functional properties of powders of different radish (Raphanus sativus) cultivars as a potential functional food. GIDA (2023) 48 (6) 1185-1198 doi: 10.15237/gida.GD23057

ÖZ

Bu çalışmada, altı farklı turp çeşidinin (Daikon beyaz uzun, Daikon pembe uzun, karpuz, siyah, şalgam ve Antep turp) toz ürün formuna dönüştürülmesi ve gıda katkı maddesi olarak kullanılması üzerine turp çeşitlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda farklı turp çeşitlerinin kurutulmasıyla elde edilen tozların renk, pH, nem, bazı kimyasal özellikleri, DSC, fonksiyonel ve toz özellikleri belirlenmiştir. Elde edilen turp tozları arasında Daikon beyaz uzun turp örneklerinin parlaklık ve sarılık değerleri diğer turp örneklerinden daha yüksek bulunmuştur. Şalgam turp örneği toplam fenolik madde, DPPH ve CUPRAC antioksidan aktivite ve su absorpsiyon değeri en yüksek turp çeşidi olarak belirlenmiştir. En yüksek ıslanabilirlik ve çözünübilirlik değerleri Daikon pembe uzun turp örneklerinde (107.0 s ve 59.51 s), en yüksek yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk değerleri is siyah turp örneklerinde (0.51 ve 2.02 g/cm³) belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Turp, antioksidan, DSC, fonksiyonel

EVALUATION OF THE CHEMICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF POWDERS OF DIFFERENT RADISH (*RAPHANUS SATIVUS*) CULTIVARS AS A POTENTIAL FUNCTIONAL FOOD

ABSTRACT

In this study, it was aimed to compare six different radish varieties (Daikon white long, Daikon pink long, watermelon, black, turnip and Antep radish) by converting them into powder product form and using them as food additives. For this purpose, color, pH, moisture, some chemical properties, thermal, functional and powder properties of the different radish powders obtained by drying were determined. Among the radish powders, Daikon white long radish samples were brighter and more yellow than other radish powder. Turnip radish sample was determined as the radish variety with the highest ash, total phenolic substance, DPPH and CUPRAC antioxidant activity and water absorption value. The highest wettability and solubility values were determined in Daikon pink long radish samples (107.0 s and 59.51 s), and the highest bulk and tapped density values were determined in black radish samples (0.51 and 2.02 g/cm³).

Keywords: Radish, antioxidant, DSC, functional

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: tcankurtaran@erbakan.edu.tr

☎: (+90) (332) 325 20 24 (4125)

Cankurtaran Kömürcü T.; ORCID no: 0000-0001-7281-209X

GİRİŞ

Sağlıklı işlenmiş gıdaların üretimindeki artış, tüketicilerin diyet ve riskli hastalıkların azaltılması arasındaki korelasyona ilişkin algısı nedeniyle artmaktadır. Böylece, yeni içerik ve katkı maddeleri arayışı, endüstrinin ve araştırmacıların ana odak noktası haline gelmiştir (Ozaki vd., 2020). Bununla birlikte tarımsal alandaki yenilikler, toplumların sağlıklı beslenmesini sağlamak için besin içeriği ve fonksiyonelliği iyileştirilmiş sebzelerin yetiştirilmesine yönelik çaba göstermektedir. Bitkiler, polifenoller, terpenler, indoller ve kükürt içeren bileşikler gibi kanser önleyici fitokimyasal çeşitleri sağlamaktadır (Zitvogel vd., 2017). Bu nedenle tüketicilerin yoğun ilgisini çekmektedir. Turp, Brassicaceae familyasının yaygın olarak yetiştirilen, hızlı büyüyen, soğuğa dayanıklı ancak sıcaklığa duyarlı en eski kök sebzelerinden biridir. Başta Doğu Asya'da (Çin, Japonya ve Kore) üretilen ve tüketilen turpun anavatanı Asya kıtası olup, Anadolu'da, Akdeniz ülkelerinde ve Avrupa'da da üretimi yapılmaktadır. Vejetasyon süresinin kısalığından dolayı ülkemizdeki bütün tarımsal bölgelerde turp yetiştiriciliği yapılabilmekle birlikte, üretimin büyük bir kısmı Akdeniz, Ege ve İç Anadolu Bölgesi'nde yoğunlaşmıştır (Solmaz vd., 2017). Osmaniye ili tek başına turp üretiminin yaklaşık %75'ini gerçekleştirmektedir (Solmaz ve Sarı, 2012). Turp bitkisinin tamamı yenilebilirdir. Turpun çoğunlukla kökleri sebze olarak tüketilmekle birlikte, yaprakları tüketilen çeşitleri de mevcuttur. Turpun yağ bitkisi olarak da kullanıldığı bilinmektedir (Shen vd., 2013). Kökler yemeklerle birlikte çiğ olarak tüketilebildiği gibi; Güneydoğu Asya ve bazı Avrupa ülkelerinde kaynatılarak, buharda pişirilerek veya kızartılarak tüketilebilmektedir. Tıbbi ilaç sanayinde (özellikle siyah turp) de kullanılabilir. Turpun rengi beyazdan siyaha değişmektedir (Solmaz ve Sarı, 2012).

Turp, hardal ve lahananın içerisinde yer aldığı turpgil sebzeleri ve özellikle turp izotiyosiyanatların suda çözünür bir öncüsü olan biyoaktif bileşikler (Glukosinola) sağlayarak kansere karşı koruma sağladığı bilinmektedir (Tafrihi ve Nakhaei Sistani, 2017). Bu biyoaktif bileşenler, mantar hastalıklarına ve haşere

istilasına karşı savunma mekanizmasının yanı sıra kükürt ve nitrojen metabolizmasının düzenlenmesinde görev alırlar. Yapılan çalışmalarda; turp tüketiminin kandaki toplam lipitlerin, trigliseritlerin ve toplam kolesterolün fekal atılımındaki artış ve kardiyovasküler hastalıklar üzerine olumlu etkileri bulunmuş ve tümör büyümesini inhibe ederek kanserin oluşumunu %30-50 oranında önleyerek yaşlanmayı geciktirdiği bildirilmiştir (Al-Shehbaz vd., 2006). İyi bir potasyum kaynağı olduğu için kan basıncını korumaya yardımcı olduğu bulunmuştur (Walde ve Bamnikar, 2022). Turpun, kan damarlarını güçlendiren ve böylece ateroskleroz riskini azaltan kolajen oluşumuna yardımcı olduğu rapor edilmiştir (Khedr ve El Sheikh, 2016). Turp, 1878 ile 6260 mg/kg arasında değişen yüksek nitrat içeriğine sahiptir (Raczuk vd., 2014). Ayrıca askorbik asit, polifenoller ve flavonoidler gibi biyoaktif bileşikler içerir (Lyu vd., 2015).

Bu çalışmanın amacı, dünyada ve ülkemizde en çok tüketilen farklı turp örneklerinden elde edilen turp tozlarının fiziksel, besleyici ve fonksiyonel özelliklerinin yanı sıra termal ve toz özelliklerini ortaya koymaktır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

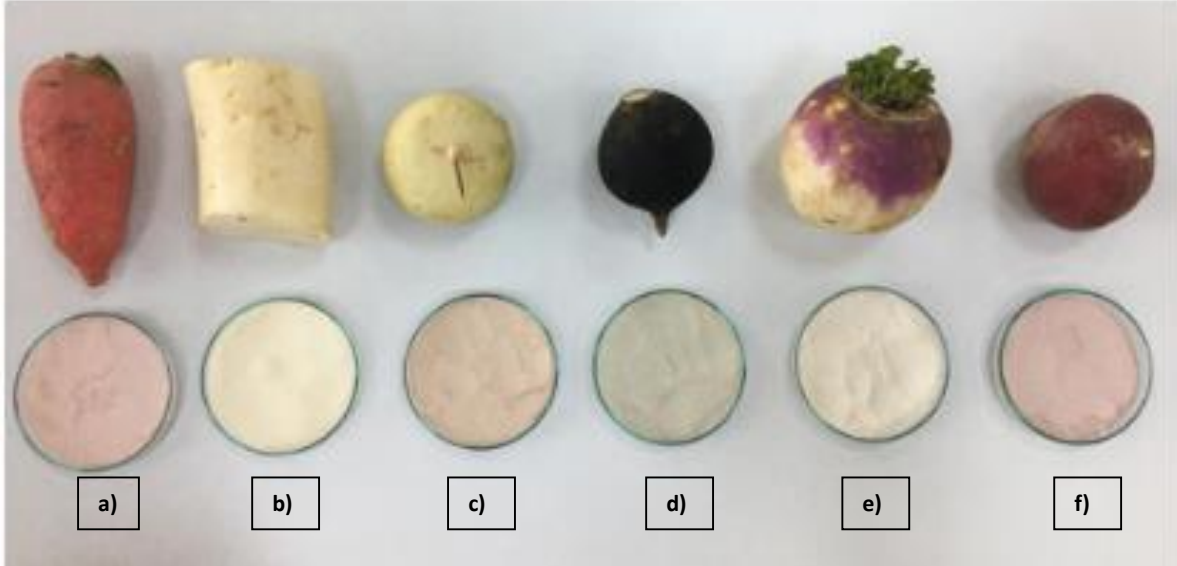
Çalışmada kullanılan Daikon uzun beyaz turp, Daikon uzun pembe turp, karpuz turp, siyah turp, şalgam turp ve Antep turp örnekleri Konya'da faaliyet gösteren farklı marketlerden temin edilmiştir (Şekil 1).

Metot

Turp tozlarının hazırlanması

Temin edilen turp örnekleri akar bir su altında yıkanarak yüzeylerindeki kirlilik faktörleri uzaklaştırılmıştır. Yüzeylerindeki fazla su giderildikten sonra kabukları soyulmadan dilimleme aparatı ile 1 cm kalınlığındaki dilimlenen turp örnekleri 40 °C'de 12 saat etüvde (Nüve KD-200, Ankara, Türkiye) kurutulmuştur. Kuru turp dilimleri kahve öğütücüsünde (Sinbo, 2909 model, İstanbul, Türkiye) öğütüldükten sonra 500 µm gözenek aralığına sahip elekten geçirilerek analizlerde kullanılmak üzere kilitli polietilen

ambalajlarda -18 °C de buzdolabında (Vestel, CD6001-E, Manisa, Türkiye) muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Turp örnekleri (a: Daikon uzun pembe turp, b: Daikon uzun beyaz turp, c: karpuz turp, d: siyah turp, e: şalgam turp, f: Antep turp)

Figure 1. Radish samples (a: Daikon long pink radish, b: Daikon long white radish, c: watermelon radish, d: black radish, e: turnip radish, f: Pistachio radish)

Turp tozlarında yapılan analizler

Renk analizi

Turp tozlarının L*, a* ve b* renk değerleri Minolta CR 400 renk ölçüm cihazı (Chroma Meter, Osaka, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Boyutları 9 x 50 mm olan petri kabının içerisine koyulan örneklerin 5 farklı noktasından renk ölçümü yapılmıştır. Numuneler de Hue ve SI değerleri aşağıdaki Eşitlik 1 ve Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanmıştır (Ayala-Silva vd. 2005; Pedišić vd. 2009).

$$\text{Hue} = \arctan (b^*/a^*) \quad (1)$$

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

pH ölçümü

Örneklerin pH analizi için, turp tozları 10 kat saf su ile homojenize edildikten sonra pH metre (Mettler-Toledo Seven Compact Duo, Columbus, OH, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Nem, kül, protein ve yağ analizleri

Turp örneklerine ait toz numunelerin nem, kül, protein ve yağ miktarlarının belirlenmesinde

sırasıyla AACC 44-19, AACC 08-01, AACC 46-30 ve AACC 30-25 metotları kullanılmıştır (AACC, 1990).

Fitik asit analizi

Turp tozlarının fitik asit içeriği için örnekler 0.2 N hidroklorik asit çözeltisi ile ekstrakte edilmiş ve daha sonra belirli miktarda Fe⁺³ çözeltisi ile muamele edilerek çöktürülmüştür. Serum kısmında kalan demir miktarı spektrofotometrik (Biochrom Libra S22, Cambridge, Birleşik Krallık) olarak belirlenmiş ve elde edilen sonuçlardan $y = -0.0343x + 1.0686$ denklemi kullanılarak fitik asit miktarı hesaplanmıştır. Sonuçlar mg/100g olarak verilmiştir (Haug ve Lantzsch, 1983).

Fenolik madde analizi

Serbest ve bağlı fenolik içeriği için, Vitali vd. (2009) tarafından kullanılan yöntem kısmen modifiye edilerek ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Serbest fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için; belirli miktardaki örneğin (1 g) üzerine, 10 mL %1 asitleştirilmiş (HCl) metanol:su çözeltisi (80:20, v/v) eklenmiştir. Ekstraksiyon oda sıcaklığındaki

(24±1 °C) çalkalamalı su banyosunda (Daihan Wisebath WSB-30, Gangwon, Güney Kore) 2 saat çalkalanarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyondan sonra karışım 3000 rpm'de santrifüj (Hermle Z 326 K, Wehingen, Almanya) edilmiş ve ayrılan süpernatant, analiz için -20°C'de muhafaza edilmiştir. Bağlı fenolik ekstraksiyon için; serbest fenolik ekstraksiyondan sonra kalan kalıntıya 20 mL metanol/H₂SO₄ (10:1) ilave edilerek, karışım 80°C'de 20 saat çalkalamalı su banyosunda inkübe edilmiştir, ardından oda sıcaklığına soğutulan süpernatant santrifüj edilerek ayrılmış ve analiz edilinceye kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Her ekstraktın serbest ve bağlı fenolik içeriği, Naczk ve Shahidi (2004) tarafından gerçekleştirilen Folin-Ciocalteu kolorimetrik yöntemine göre belirlenmiştir. Deney tüplerine koyulan 0.1 mL örnek üzerine 1.9 mL saf su ve 2.5 mL Lowry C ilave edilip karıştırıldıktan sonra, 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre sonunda, 1:10 oranında saf su ile seyreltilmiş Folin-ciocalteu reaktifinden 0.25 mL ilave edilerek karıştırılmış ve oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dk bekletilmiştir. Örneklerin absorbans değerleri spektrofotometrede (Biochrom Libra S22, Cambridge, Birleşik Krallık) 760 nm dalga boyunda okunmuştur. Toplam fenolik madde (TFM), serbest ve bağlı fenolik madde miktarlarının toplanmasıyla elde edilmiştir. Fenolik madde miktarı, gallik asit eşdeğerleri (mg GAE/kg kuru madde) cinsinden ifade edilmiştir.

Antioksidan aktivite analizi

Örneklerin antioksidan aktivitelerini belirlemek için Yılmaz ve Koca (2017) tarafından tanımlanan ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Ekstraksiyon, 1 g numunenin 10 mL metanol-su karışımı (metanol/su, 80:10, v/v) ile karıştırılmasının ardından serbest fenolik madde ekstraksiyonundaki prosedür uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

Turp örneklerinin antioksidan aktivitesi, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radikalının inhibisyonu (DPPH) (Gyamfi vd., 1999; Beta vd., 2005), Ferrik iyonlarını indirgeme kuvveti (FRAP) (Yılmaz, 2019) ve bakır iyonlarını indirgeme

kuvveti (CUPRAC) (Apak vd., 2004) metodları kullanılarak belirlenmiştir.

Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi Farklı turplardan elde edilen tozların termal özelliklerini incelemek amacıyla diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) cihazı (DSC 25, TA Instruments, New Castle, DE, ABD) kullanılmıştır. Toz formundaki turp örnekler hermetik alüminyum tavalara 5-10 mg arasında tartılmıştır. Analiz 10°C/dk sıcaklık artış hızı ile azot atmosferinde 10°C'den 100°C'ye kadar ısıtılarak gerçekleştirilmiştir. Örneğe verilen enerji (mW), sıcaklık ve zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilmiştir. Referans örneği olarak temiz ve boş bir hermetik kap kullanılmıştır. Analiz iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Fonksiyonel özellikler

Turp örneklerinin su ve yağ absorpsiyon değerleri Hayta vd. (2002) tarafından belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. 5 g numune 25 ml distile su/ayçiçek yağı ile karıştırılarak elde edilen karışım 4000xg'de 20 dakika santrifüj edilmiş (Hermle Z 326 K, Wehingen, Almanya) ve kalan numune süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra tartılmış (Ohaus model T30; Ohaus Scale Corporation, Union, NJ, ABD) ve gram toz örneğin yağ/su absorpsiyon miktarı hesaplanmıştır.

Turp örneklerinin köpük özellikleri Hayta vd. (2002) tarafından belirtilen yöntemle test edilmiştir. 10 g toz örnek 25 mL distile su ile karıştırıldıktan sonra 4000xg'da 20 dakika santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatant, Whatman no:1 filtre kağıdından süzüldükten sonra bir homojenizatörde (WiseTis Homogenizer, Wisd Laboratory Instruments, Kore) yüksek hızda 2 dakika karıştırılmıştır. Ölçüm silindire aktarılan karışımın hacmi 10 saniye sonra ölçülmüştür. Sonuç, köpük hacminin silindirdeki toplam çözelti hacmine (mL/mL) bölünmesiyle belirlenmiştir. Köpük stabilitesi, ilk köpük hacminin yarı yarıya azalması için geçen süre olarak belirlenmiştir.

Toz özellikleri

Turp örneklerine ait tozların ıslanabilirlik ve çözünürlük süreleri Gong vd. (2007), higroskopite (%), dağılıbilirlik (%), yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk değerleri Goula ve Adamopoulos (2008) tarafından açıklanan prosedüre göre belirlenirken, numunelerdeki akışkanlık [Carr indeksi (CI)] değeri Cai ve Corke (2000)'e göre ve koheziflik [Hausner oranı (HR)] değerleri Jinapong vd. (2008)'nin metodu kullanılarak ölçülmüştür.

İstatistik analiz

İstatistik analizler için SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) istatistik programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testleri ile istatistik analizleri gerçekleştirilmiştir. Ortalamalar $P < 0.05$ önem düzeyinde karşılaştırılmıştır.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Turp tozlarının renk özellikleri

Farklı turp örneklerinden elde edilen tozlarının renk değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. Turp örneklerinin L^* , a^* ve b^* renk değerleri sırasıyla 78.50-92.35, -5.44-5.48 ve 10.22-17.21 arasında değişmiştir. Turp tozları arasında en yüksek L^* değeri Daikon beyaz uzun turp örneklerinde (92.35 ± 0.09) belirlenmiş olup, bu örnekleri sırasıyla şalgam (91.28 ± 0.07), Daikon pembe uzun (83.70 ± 0.18), siyah (79.56 ± 0.10) ve karpuz turp tozlarının (79.16 ± 0.25) L^* değerleri izlemiştir. a^* renk değeri en düşük Daikon beyaz

uzun turp tozlarında (-5.44 ± 0.01), en yüksek yerli Antep turp tozlarında (5.48 ± 0.04) ölçülmüştür. Turp örnekleri arasında istatistiksel olarak en yüksek sarılık değeri Daikon beyaz uzun turp örneklerinde (17.21) ölçülmüştür ($P < 0.05$). Turp tozlarının Hue ve SI değerleri sırasıyla 61.78 ile 110.50 ve 11.60 ile 18.05 arasında değişim göstermiştir. Örnekler arasında Daikon pembe uzun ve Antep turp örneklerine ait tozlar diğer örneklerden daha düşük Hue ve SI değerlerinin ölçüldüğü örnekler olarak belirlenmiştir. Turp çeşitlerinin başlangıçtaki karakteristik renk değerlerinin farklı olması elde edilen toz örneklerin de renk değerlerinin birbirinden farklı olmasına neden olmuş olabilir. Bununla birlikte Daikon beyaz uzun turpunun başlangıç renginin beyaz-krem olması bu turp örneğinden elde edilen turp tozunun diğer örneklerden daha parlak ve sarı olmasına, Antep turpunun ise pembe kabuk rengi bu örneğe ait tozların diğer turp örneklerinden daha yüksek kırmızılık değeri göstermesinin açıklaması olabilir. Yapılan bir çalışmada; Joo vd. (2017) 50 °C'de kurutulan karpuz ve bordo turp tozlarından elde edilen çay örneklerinin L^* , a^* ve b^* renk değerlerini sırasıyla 58.75, 5.65 ve 0.45 ve 57.15, 5.02 ve -2.55 olarak bildirmişler ve bu çalışmadan elde edilen sonuca benzer şekilde kırmızılık değerinin iki turp arasında daha kırmızı olan karpuz turp tozundan yapılan çaylarda sayısal olarak daha yüksek bulduklarını rapor etmişlerdir.

Çizelge 1. Turp tozlarının renk özellikleri

Table 1. Color properties of radish powders

Turp çeşidi	L^*	a^*	b^*	Hue	SI
Daikon beyaz uzun	$92.35 \pm 0.09a$	$-5.44 \pm 0.01e$	$17.21 \pm 0.80a$	$107.55 \pm 0.73b$	$18.05 \pm 0.77a$
Daikon pembe uzun	$83.70 \pm 0.18c$	$4.94 \pm 0.24b$	$10.59 \pm 0.34d$	$64.99 \pm 1.75d$	$11.69 \pm 0.21d$
Karpuz	$79.16 \pm 0.25e$	$1.83 \pm 0.26c$	$15.59 \pm 0.03b$	$83.32 \pm 0.94c$	$15.70 \pm 0.06b$
Siyah	$79.56 \pm 0.10d$	$-4.73 \pm 0.00d$	$12.66 \pm 0.34c$	$110.50 \pm 0.50a$	$13.51 \pm 0.32c$
Şalgam	$91.28 \pm 0.07b$	$-4.56 \pm 0.01d$	$12.82 \pm 0.12c$	$109.60 \pm 0.15ab$	$13.61 \pm 0.12c$
Antep	$78.51 \pm 0.14f$	$5.48 \pm 0.04a$	$10.22 \pm 0.40d$	$61.78 \pm 1.10e$	$11.60 \pm 0.33d$

¹Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

¹Means followed by the different letters within a column are significantly different ($P < 0.05$).

Turp tozlarının pH, nem ve kimyasal özellikleri

Turp örneklerine ait pH, nem, kül, protein, yağ ve fitik asit değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Örneklerin fenolik içeriği (serbest, bağlı ve toplam

fenolik madde) ve antioksidan aktivite değerleri (DPPH, FRAP ve CUPRAC) ise Çizelge 3'te özetlenmiştir. Turp tozlarının pH değerleri 5.33-5.70 arasında değişmiş olup, Daikon beyaz uzun turp tozlarının pH değeri (5.70 ± 0.07) Daikon

uzun pembe (5.55 ± 0.03), karpuz (5.56 ± 0.01) ve Antep turp (5.33 ± 0.00) örneklerinden daha yüksek bulunmuştur. Joo vd. (2017) 50 °C'de kurutulan karpuz turp tozunun pH değerini 5.77 ± 0.08 olarak bildirmişlerdir. pH değerlerindeki bu farklılıklar turp örneklerinin yetiştiği toprak özellikleri ve çeşit farklılığı ile ilişkilendirilebilir (Cemeroğlu, 2004; Sabuncu, 2019). Kurutmadan sonra ölçülen nem içeriği Daikon uzun beyaz turp ile siyah turp örneklerinde (%4.68 ve %4.89) daha yüksek, Daikon uzun pembe örneklerinde (%3.17) ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Daikon uzun pembe turp tozlarına ait, kül ve fitik asit içeriği diğer örneklerin aynı değerlerinden daha düşük bulunmuştur. Bu sonuç turp örneklerinin yetiştirildiği toprak, iklim ve turp çeşitlerinin farklı olması ile ilgili olabilir (Sabuncu, 2019). Yağışlı iklim özellikleri veya fazla sulama kuru maddeyi azaltırken, kurak iklim özellikleri artırmaktadır (Cemeroğlu, 2004). Bu nedenle farklı bölgelerde yetiştirilen örneklerin kimyasal ve fiziksel özellikleri değişiklik gösterebilmektedir. Örnekler arasında Daikon uzun pembe ve siyah turp örnekleri, Daikon uzun beyaz, karpuz, şalgam ve yerli Antep turp örneklerinden daha düşük protein içerisine sahip örnekler olarak belirlenmiştir. Daikon uzun beyaz turp tozunun yağ içeriği tüm turp örnekleri arasında en yüksek olup, bu değer Daikon uzun pembe, karpuz ve şalgam turplarının yağ içeriklerinin sırasıyla

yaklaşık 3.2, 2.5 ve 4.2 katına eş değer bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda kırmızı turpun ortalama kül, protein ve yağ miktarları sırasıyla %16.17, %11.98 ve %1.47 olarak bildirilmiştir (Ankita ve Prasad, 2015; Goyeneche vd., 2015; Chihoub vd., 2019). Turp tozlarının fitik asit içeriği 315.98 mg/100 g ile 476.00 mg/100 g arasında değişmiş olup, en düşük fitik asit içeriği Daikon pembe uzun turp örneklerinde en yüksek fitik asit içeriği ise şalgam turp tozlarında belirlenmiştir. Fitik asit esas olarak bitkilerin tohumlarında, köklerinde ve gövdelerinde bulunan, insan beslenmesi açısından gerekli olan Ca, Fe, Zn, Mg ve Cu gibi minerallerle kompleks oluşturarak bunların biyoyararlılığını düşüren antibesinsel bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Bilgiçli, 2002). Bununla birlikte turp gibi toprak altı yumru bitkilerde fitik asit içeriği tahıl ve çoğu baklagilden daha düşük orandadır (Kaushal ve Sharma, 2014). Diğer taraftan fitik asit, polifenol oksidazı inhibe ederek çeşitli meyve ve sebzelerin kararmasını ve çürümelerini önlemektedir ki bu çimlenme süreci dışındaki durumlarda fitatın önemli bir antioksidan işlevine işaret etmekte ve fitatın, birçoğu potansiyel sağlık tehlikeleri oluşturan, oksalik asit, oksalasetik asit, askorbik asit-2-fosfat, sistein, glutatyon, N-asetilsistein, kojik asit ve 4-heksil resorsinol gibi günümüzde kullanılan koruyucuların yerine geçebileceğini göstermektedir (Graf vd., 1987).

Çizelge 2. Turp tozlarının pH değeri, nem içeriği ve kimyasal özellikleri
Table 2. pH value, moisture content and chemical properties of radish powders

Turp çeşidi	pH	Nem (%)	Kül (%)	Protein (%)	Yağ (%)	Fitik asit (mg/100g)
Daikon beyaz uzun	5.70±0.07a	4.68±0.10a	5.31±0.05d	14.70±0.72a	1.51±0.02a	469.00±15.84a
Daikon pembe uzun	5.55±0.03b	3.17±0.11d	4.62±0.10e	12.40±0.48b	0.47±0.16c	315.98±25.15c
Karpuz	5.56±0.01b	3.51±0.20c	5.35±0.13d	14.70±0.21a	0.60±0.03c	359.80±51.42bc
Siyah	5.63±0.00ab	4.89±0.06a	5.97±0.08c	12.70±0.07b	1.14±0.10b	448.00±63.33ab
Şalgam	5.62±0.01ab	4.01±0.16b	6.78±0.04a	15.20±0.04a	0.36±0.09c	476.00±6.71a
Antep	5.33±0.00c	3.70±0.07c	6.50±0.02b	15.10±0.17a	1.06±0.15b	424.20±53.45ab

¹pH ve nem hariç sonuçlar kuru madde üzerinden verilmiştir. Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

¹Results except pH and moisture are based on dry matter. Means followed by the different letters within a column are significantly different ($P < 0.05$).

Turp tozlarının fenolik içeriği (serbest, bağlı ve toplam fenolik madde) ve antioksidan aktivite (DPPH, FRAP ve CUPRAC) değerleri Çizelge

3'te gösterilmektedir. Turpgillerin, karotenoidler ve askorbik asit kadar tokoferoller de dahil olmak üzere yüksek fenolik bileşik içerikleri nedeniyle iyi

bir doğal antioksidan kaynağı olarak dikkatleri üzerine çekmektedir (Tatsuzawa vd., 2012; Koley vd., 2020). Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler, serbest, diğer moleküllere bağlı veya çözünmeyen makromoleküller olarak sınıflandırılır (Shahidi ve Yeo, 2016). Tahılların aksine meyve ve sebzeler serbest fenolik bileşikler açısından daha zengindir (Méndez-Lagunas vd., 2020). Farklı turp örneklerine ait tozların serbest fenolik madde (SFM) miktarı 4426.59 mg GAE/kg ile 6083.96 mg GAE/kg arasında değişmiştir. Çalışmada kullanılan turp çeşitleri arasında en yüksek SFM

miktarı yerli turp çeşidi Antep turp örneklerinde belirlenmiş olup (6083.96±16.42 mg GAE/kg), bunu sırasıyla karpuz turpu ve Daikon pembe uzun turp çeşitlerinin SFM miktarları (5340.34±38.74 mg GAE/kg ve 5305.93±48.04 mg GAE/kg) izlemiştir. Sonuçlar bağlı fenolik madde (BFM) miktarı açısından değerlendirildiğinde; en yüksek BFM miktarı siyah turp örneklerinde (6326.28±22.53 mg GAE/kg), en düşük BFM miktarı ise Daikon uzun pembe turp çeşidinde (707.99±11.11 mg GAE/kg) belirlenmiştir.

Çizelge 3. Turp tozlarının serbest, bağlı ve toplam fenolik içeriği ile antioksidan aktivite değerleri¹
Table 3. Free, bound and total phenolic content and antioxidant activity values of radish powders¹

Turp çeşidi	SFM (g GAE/kg)	BFM (g GAE/kg)	TFM (g GAE/kg)	DPPH (umol TE/g)	FRAP (umol TE/g)	CUPRAC (umol TE/g)
Daikon beyaz uzun	4494.64±414.53c	2110.66±24.48b	6605.29±390.03c	5.63±0.03d	6.47±0.98f	21.08±7.05b
Daikon pembe uzun	5305.93±48.04b	707.99±11.11e	6013.92±37.95c	4.92±0.01e	8.12±0.23e	11.01±1.33b
Karpuz	5340.34±38.74b	935.61±18.49d	6275.94±20.25c	5.86±0.10c	13.19±0.67d	15.00±1.25b
Siyah	4426.59±16.31c	886.29±1.48d	5312.88±17.79d	6.05±0.01b	17.16±0.62c	40.03±2.58ab
Şalgam	4558.84±13.99c	6326.28±22.53a	10885.11±162.49a	6.61±0.05a	19.90±0.70b	53.04±6.33a
Antep	6083.96±16.42a	1333.44±43.74c	7417.40±207.98b	5.81±0.01c	26.86±0.24a	66.35±6.22a

¹Sonuçlar kuru madde üzerinden verilmiştir. Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

¹Results are based on dry matter. Means followed by the different letters within a column are significantly different ($P < 0.05$).

Çizelge 3'te verilen sonuçlar, siyah turp (10885.11±162.49 mg GAE/kg) ve Antep turp (7417.40±207.98 mg GAE/kg) örneklerinin toplam fenolik madde (TFM) miktarının diğer turp çeşitlerine göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. Aynı familyaya ait turp örneklerinin başta çeşit farklılığından kaynaklı karakteristik özellikleri olmak üzere toprak özellikleri, iklim şartları ve turp örneklerinin olgunluk düzeyleri fenolik bileşenleri arasında farklılık oluşmasına neden olmuş olabilir. Goyeneche vd. (2015) kırmızı turp örneklerinin TFM miktarını 341.45±5.70 mg GAE/100g olarak bildirdikleri çalışmalarında serbest fenolik madde miktarının TFM miktarının yaklaşık %32'sini oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Bors vd. (2015) tarafından yapılan başka bir çalışmada; beyaz, siyah ve kırmızı turp çeşitlerine ait TFM miktarı sırasıyla 11.6, 13.7 ve 12.9 mg GAE/g olarak belirlenirken, Ozaki vd. (2020) et kaplamada kullandıkları turp tozlarının TFM miktarını 293.74 mg GAE/100 g olarak

bildirilmiştir. Çalışmada altı farklı turp çeşidinin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), FRAP (Ferrik iyonlarını indirgeme kuvveti) ve CUPRAC (Bakır iyonlarını indirgeme kuvveti) antioksidan aktivite tayin metotları kullanılmıştır. Bitki özlerinin antioksidan aktivitesi, fenolik, flavonoid ve antosiyanin bileşiklerinin seviyelerine bağlıdır (Park vd., 2016). Bazı araştırmacılar, turptaki antosiyaninlerin karakterizasyonunun çalışılan çeşide bağlı olduğunu belirtmişler ve turp örneklerindeki ana antosiyaninlerin Daikon çeşidinde olduğu gibi asillenmiş pelargonidinler olduğunu bildirmişlerdir (De Nicola vd., 2013). Şalgam turp örneklerinin DPPH değerinin (6.61±0.05 umol TE/g) diğer turp örneklerinden daha yüksek olduğu, Daikon uzun pembe turp örneklerinin ise en düşük DPPH değerini (4.92±0.01 umol TE/g) gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlar FRAP değerleri açısından ele alındığında en yüksek antioksidan aktivite değeri yerli Antep turp örneklerinde (26.86±0.24 umol TE/g)

belirlenmiş ve Antep turpunu sırasıyla şalgam turpu (19.90 ± 0.70 umol TE/g) ve siyah turp (17.16 ± 0.62 umol TE/g) örneklerinin FRAP değerleri izlemiştir. Son yıllarda ülkemizde tüketimi ve tanınırlığı artan Çin kökenli turp örneklerinin FRAP değerleri genel olarak yerli turp çeşitlerinden düşük bulunmuştur. Şalgam turp örnekleri ile Antep turp örneklerinin CUPRAC değerleri Daikon uzun beyaz ve pembe turp örnekleri ile karpuz turp çeşitlerinden daha yüksek bulunmuştur. Bitkisel kaynaklı gıdalarda antioksidan aktiviteyi sağlayan biyoaktif bileşenlerin karmaşık yapılarından dolayı antioksidan aktivite analizinde daha doğru bir değerlendirme yapmak için en az iki metot uygulanması gerektiği literatürde belirtilmiştir (Liyana-Pathirana ve Shahidi, 2007; Tacer, 2008). Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlarda da ortaya çıktığı gibi farklı metotlarla yapılan antioksidan aktivite analiz sonuçları farklılık gösterebilmektedir. Bu durum örnekteki antioksidan maddelerin moleküler çeşitliliği ve farklı turp çeşitlerinde bulunun antioksidan bileşenlerin reaksiyon hızından yani analiz zamanına bağlı olarak büyük ölçüde değişebilir ve bu yöntemler arasında her zaman doğrusal ilişki oluşmasını engelleyebilir. Literatürde farklı turp çeşitlerinin antioksidan ve fenolik madde miktarlarının belirlenmesine yönelik araştırma çalışmaları bulunmakta olup, yapılan bir çalışmada; siyah turp örneklerinin antioksidan kapasitesi farklı yöntemlerle karşılaştırılmış ve siyah turp örneğinin kabuklu formunun kabuğu soyulmuş halinden 2.8 kat daha yüksek DPPH değerine sahip olduğu bildirilmiştir (Enkhtuya ve Tsend, 2020). Goyeneche vd. (2015) kırmızı turp örneklerinin DPPH, FRAP ve ORAC antioksidan aktivite analiz sonuçlarını sırasıyla 1.36 ± 0.20 , 1.96

ve 11.09 mmol TE/100 g olarak bildirirken, Bors vd. (2015) kırmızı, beyaz ve siyah turp çeşitlerinin DPPH değerlerini sırasıyla %51.7, 45.7 ve 52.0 olarak rapor etmişlerdir. Bu çalışmada da genel olarak renkli turp çeşitleri Daikon beyaz turp örneklerinden daha yüksek DPPH antioksidan aktivite değeri göstermiştir. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlardaki farklılıklar kuşkusuz çeşit, iklim, toprak yanında analiz metoduna ve turplara uygulanan işlemlerin farklılığı ile açıklanabilir.

Turp tozlarının termal özellikleri

Turp tozlarının başlangıç geçiş sıcaklığı (T_0), pik geçiş sıcaklığı (T_{pik}), final geçiş sıcaklığı (T_{final}) ve entalpi değeri (ΔH) değerleri Çizelge 4'te verilmiştir. Bu değerler örneklerin jelatinizasyon başlangıç, pik ve final sıcaklıklarını ve jelatinizasyon entalpi değerini göstermektedir. Turp tozlarının T_0 , T_{pik} ve T_{final} değerlerinin sırasıyla $35.79 - 43.53$ °C, $57.39 - 29.59$ °C ve $54.36 - 48.98$ °C arasında olduğu belirlenmiştir. Karpuz, siyah ve Antep turp örneklerinin ortalama T_0 değerleri (42.52 , 42.47 ve 43.53 °C) istatistiksel olarak benzer olup, Daikon beyaz uzun, pembe ve şalgam turp tozlarının aynı değerlerinden (38.30 , 35.79 ve 37.52 °C) daha yüksek bulunmuştur. Örnekler arasında karpuz ve siyah turp örnekleri en yüksek T_{pik} değeri (57.32 ve 57.39 °C) elde edilen örnekler olarak belirlemiştir. Toz örneklerinde yapılan DSC analizinde Daikon beyaz uzun, siyah, şalgam ve Antep turp örneklerinin T_{final} değerlerinde istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamış olup, bu turp çeşitlerinin T_{final} değerleri sırasıyla karpuz (51.55 °C) ve Daikon pembe uzun turp (48.98 °C) örneklerinin aynı değerinden daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4. Turp tozlarının termal özellikleri¹

Table 4. Thermal properties of radish powders¹

Turp çeşidi	T_0 (°C)	T_{pik} (°C)	T_{final} (°C)	ΔH (J g ⁻¹)
Daikon beyaz uzun	$38.30 \pm 0.37b$	$39.14 \pm 0.95c$	$53.76 \pm 0.86a$	$3.82 \pm 0.12d$
Daikon pembe uzun	$35.79 \pm 0.78c$	$29.59 \pm 0.77e$	$48.98 \pm 0.79c$	$5.76 \pm 0.29b$
Karpuz	$42.52 \pm 0.51a$	$57.32 \pm 0.33a$	$51.55 \pm 0.21b$	$8.07 \pm 0.11a$
Siyah	$42.47 \pm 1.01a$	$57.39 \pm 0.21a$	$53.80 \pm 1.11a$	$4.53 \pm 0.36c$
Şalgam	$37.52 \pm 1.12b$	$37.51 \pm 0.59d$	$53.45 \pm 0.86ab$	$0.86 \pm 0.12f$
Antep	$43.53 \pm 0.87a$	$55.36 \pm 0.99b$	$54.36 \pm 0.57a$	$1.45 \pm 0.42e$

¹Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

¹Means followed by the different letters within a column are significantly different ($P < 0.05$).

Sonuçlar entalpi değerleri açısından değerlendirildiğinde; 8.07 J/g ile karpuz turp örnekleri en yüksek entalpi değerini, 0.86 J/g değeri ile şalgam turp tozları ise en düşük entalpi değeri gösteren turp tozları olmuştur. DSC kurvesinden elde edilen entalpi değeri jelatinizasyon geçişi sırasında ölçülen enerji miktarını göstermektedir. Aynı zamanda entalpi değerinin yüksek olması retrogradasyonun hızlı olduğunu göstermektedir (Arıcı, 2016). Bu bilgi doğrultusunda karpuz turpuna ait toz örneklerini jelatinizasyon için ihtiyaç duydukları enerjinin daha yüksek olduğu sonucuna varılabilir. Elde edilen sonuçlar jelatinizasyon sıcaklığının ve entalpisinin turp çeşidine göre farklılık gösterebildiğini ortaya koymuştur. Turp örneklerinin jelatinizasyon profili, nişasta bileşenlerinin oranının (amiloz- amilopektin oranı) yanında granüler yapı ve amilopektinin moleküler yapısından da (dallanma boyutu, zincir uzunluğu) etkilenmektedir (Gunaratne ve Hoover, 2002). Yapılan bir çalışmada Arıcı (2016) ekmek hamuruna göleveze unu ilavesinin örneklerin T_0 , T_{pik} ve T_{final} değerleri üzerine bir etkisi olmadığını ancak değişen nişasta profili sonucu örneklerin entalpi değerinin düştüğünü rapor etmişlerdir.

Turp tozlarının fonksiyonel özellikleri

Turp tozlarının fonksiyonel özellikleri Çizelge 5'te gösterilmiştir. Bitkisel kaynakların fonksiyonel özellikleri, çözünür/çözünmez lif oranına, partikül boyutuna, bitki polisakkaritlerinin yapısına ve bitkisel kaynağa bağlıdır (Jaime vd., 2002). Turp çeşitlerinden Daikon beyaz uzun, pembe, şalgam ve Antep turp örneklerinin köpük kapasitesi değerleri arasında önemli bir fark ($P > 0.05$) bulunmamış olup, karpuz ve siyah turp örneklerinden daha yüksek köpük kapasitesi değerleri belirlenen turp tozları olmuşlardır. Graham ve Phillips (1976) köpük kapasitesinin protein moleküllerinin konfigürasyonuna bağlı olduğunu ifade etmektedir. Elastik proteinler iyi köpürme kapasitesine sahiptir, ancak çok düzenli küresel molekül köpük kabiliyetini azaltmaktadır. Örnekler arasında en yüksek köpük stabilite (69 dk) değerini Daikon pembe turp çeşidine ait tozlar gösterirken, en düşük köpük stabilite değeri ise siyah turp örneklerinde (17.0 dk) belirlenmiştir. Köpük stabilitesi, köpüğün şeklini ve hacmini belirli bir süre boyunca muhafaza etme kabiliyetidir; bu, bazı içecekler ve biralarda, butik kahveler ve unlu mamuller gibi gıda ürünlerinde arzu edilen bir özelliktir (Famuwagun vd., 2020). Turp örneklerinin köpük stabilitesi üzerine pH ve protein konsantrasyonu ile turp çeşidin etkisi olmuş olabilir.

Çizelge 5. Turp tozlarının fonksiyonel özellikleri¹
Table 5. Functional properties of radish powders¹

Turp çeşidi	Köpük kapasitesi (mL/mL)	Köpük stabilitesi (dk)	Su absorpsiyon kapasitesi (mL/g)	Yağ absorpsiyon kapasitesi (mL/g)
Daikon beyaz uzun	0.50±0.03a	31.0±1.41cd	4.12±0.01c	1.33±0.01cd
Daikon pembe uzun	0.50±0.04a	69.0±2.83a	3.75±0.72e	2.44±0.02ab
Karpuz	0.33±0.05c	49.0±4.24b	3.41±0.02f	1.24±0.01cd
Siyah	0.35±0.06bc	17.0±2.80e	3.82±0.13d	0.95±0.21d
Şalgam	0.50±0.06a	34.0±1.41c	4.71±0.25a	2.82±0.54a
Antep	0.46±0.06ab	25.0±1.51d	4.45±0.32b	1.73±0.71bc

¹Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

¹Means followed by the different letters within a column are significantly different ($P < 0.05$).

Turp çeşidi, örneklerin su absorpsiyonunu önemli ölçüde etkilemiş olup, turp çeşitlerine ait su absorpsiyonu değerleri 3.41 ile 4.71 mL/g arasında değişmiştir. Örnekler arasında en yüksek su absorpsiyonu değeri şalgam turp örneklerinde (4.71±0.25 mL/g) belirlenmiş olup, bu değeri

sırasıyla Antep turp (4.45±0.32 mL/g) ve Daikon turp tozları (4.12±0.01 mL/g) izlemiştir. Şalgam turpuna ait tozların 2.82±0.54 mL/g ile sayısal olarak en yüksek yağ absorpsiyonu gösterdiği belirlenirken, siyah turp örneklerinde 0.95±0.21 mL/g ile en düşük yağ absorpsiyonu değeri

ölçülmüştür. Yüksek yağ absorpsiyonu şalgam turplarındaki lipofilik bileşenlerin varlığına işaret ediyor olabilir. Singh ve Sharma (2020) siyah turpta klorofiller ve karotenoidler gibi çeşitli lipofilik pigmentler rapor etmişlerdir. Bu bileşikler çok az miktarda mevcut olmasına rağmen, bulunduğu örneğin yağ absorpsiyon değerini önemli ölçüde etkileyebilmektedirler.

Turp tozlarının toz özellikleri

Turp tozu örneklerine ait toz özellikleri Çizelge 6'da verilmiştir. İslanabilirlik, çözünürlük, higroskopite, dağılılabirlik, yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk, akabilirlik ve yapışkanlık gibi toz özellikler toz ürünlerin fonksiyonel, ekonomik ve ticari özellikleri üzerine etkili faktörlerdir.

Çizelge 6. Turp tozlarının toz özellikleri¹
Table 6. Powder properties of radish powders¹

Turp çeşidi	İslanabilirlik (s)	Çözünürlük (s)	Higroskopite (%)	Dağılılabirlik (%)
Daikon beyaz uzun	44.50±2.12c	45.85±0.61b	70.41±0.82a	54.56±1.01c
Daikon pembe uzun	107.00±7.07a	59.51±1.26a	69.73±1.18a	68.91±0.51b
Karpuz	65.50±0.71b	43.47±0.66b	57.75±1.03b	72.83±0.57a
Siyah	26.00±1.41d	46.90±0.26b	53.47±1.67c	53.80±0.30c
Şalgam	65.00±2.83b	46.02±0.01b	72.49±1.49a	55.37±1.35c
Antep	61.50±2.12b	33.45±4.33c	69.46±0.79a	29.51±0.29d
Turp çeşidi	Yığın yoğunluğu (g/cm ³)	Sıkıştırılmış yoğunluk (g/cm ³)	Akabilirlik (CI)	Yapışkanlık (HR)
Daikon beyaz uzun	0.30±0.02c	0.52±0.04c	42.86±1.83e	1.75±0.04d
Daikon pembe uzun	0.26±0.03c	0.69±0.04c	62.50±0.88b	2.67±0.12b
Karpuz	0.40±0.03b	1.03±0.15b	80.00±1.57a	5.00±0.27a
Siyah	0.51±0.06a	2.02±0.14a	50.00±0.30d	2.00±0.36c
Şalgam	0.22±0.01c	0.50±0.21c	55.56±0.16c	2.25±0.28bc
Antep	0.42±0.05b	1.04±0.07b	60.00±0.31b	2.50±0.16bc

¹Farklı harflerle işaretlenmiş, aynı sütundaki ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

¹Means followed by the different letters within a column are significantly different ($P < 0.05$).

Toz ürünlerin ıslanabilme süresi, toz ürünün kendi ve su yüzeyi arasında oluşan yüzey gerilimini yenerek sıvı emme yeteneği hakkında bilgi verir (Fang vd., 2007). İslanabilirlik değeri partikül büyüklüğüne, yüzey gerilimine, yoğunluğa, maddenin yüzeyinde bulunan karbonhidrat, yağ ve protein kompozisyonuna bağlıdır (Fang vd., 2007; Koç vd., 2011). Turp tozlarına ait ortalama ıslanabilirlik süreleri 26 s ile 107 s arasında değişmiştir. Örnekler arasında Daikon pembe uzun turp örnekleri en yüksek ıslanabilirlik değerini verirken, siyah turp örneklerinde en düşük ıslanabilirlik ve higroskopite değeri okunmuştur. Ayrıca en düşük nem içeriğine sahip örneklerin (%3.70) en yüksek ıslanabilirlik süresi gösterdiği belirlenmiştir. Jumah vd. (2000) yaptıkları çalışmalarında azalan nem içeriği ile birlikte toz ürünlerin ıslanabilme süresinin arttığını bildirmişlerdir. Benzer sonuçlar Çalışkan Koç (2018) tarafından ıspanak tozları ve Chegini ve Ghobadian (2005) tarafından portakal suyu

tozu için de bildirilmiştir. Toz ürünlerin su içerisinde hızlı ve yüksek oranda çözünmesi toz ürünlerin rekonstitüsyonu ve tüketiciler açısından önemli bir kriterdir (Chen ve Patel, 2008). Turp tozlarının çözünebilirlik değerleri 33.45 s ile 59.51 s arasında değişmiştir. En kısa sürede çözünen örnekler Antep turp örnekleri olurken, Daikon uzun beyaz, siyah, karpuz ve şalgam turp örneklerinin çözünürlük değerleri Daikon uzun pembe turp örneklerinden daha uzun, Antep turp örneklerinden ise daha düşük bulunmuştur. Toz ürünlerin dağılılabirliği su içerisinde kuru kısım kalmaksızın ıslanabilmesini ifade etmektedir (Martinelli vd., 2007). Farklı turp örneklerinin dağılılabirlik değerleri karşılaştırıldığında karpuz turp örnekleri (%72.83±0.57) diğer örneklerden daha yüksek dağılılabirlik özelliği gösteren örnek olarak belirlenmiştir. Toz gıdaların yığın ve sıkıştırılmış yoğunluğu ile akabilirlik özellikleri ürünün partikül çapı ile partikül boyut dağılımına bağlıdır (Barbosa-Canovas vd., 2005). Düşük

yoğunluğunun paket hacmini artırması ve düşük yoğunluktan kaynaklı partiküller arası hava boşluklarının oranının artması oksidasyon riskini artırmakta ve ürünün depolama stabilitesini azaltabilmektedir (Koç vd., 2011). Turp örnekleri arasında siyah turp örnekleri diğer örneklerden daha yüksek yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk değerleri (0.51 ± 0.06 g/cm³ ve 2.02 ± 0.14 g/cm³) göstermiştir. Karpuz ve Antep turp örneklerinin yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk değerleri ise siyah turp örneklerinden daha düşük ancak Daikon beyaz ve pembe uzun turp örnekleri ile şalgam turp örneklerinden daha yüksek bulunmuştur. Toz gıdaların akabilirlik ve yapışkanlık davranışları nem içeriği ve partikül büyüklüğü gibi faktörlerden etkilenmekte olup, Carr Index ve Hausner oranına göre belirlenmektedir. CI ve HR değerleri sırasıyla; <15 (çok iyi), 15-20 (iyi), 20-35 (orta) ve >35 (kötü) ve <1.2 (düşük), 1.2-1.4 (orta) ve >1.4 (yüksek) olarak değerlendirilmektedir (Jinapong vd., 2008). Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre turp tozlarının akabilirlik (CI) değerleri 42.89-80.00 arasında değişmiştir. Tüm turp örneklerinin kötü akabilirlik özelliği gösterdiği, en zayıf akabilirlik özelliği gösteren örneğin ise karpuz turp örnekleri olduğu tespit edilmiştir. Toz örneklerin yapışkanlık (HR) değerleri ise 1.75-5.00 arasında tespit edilmiş olup, karpuz turpundan elde edilen tozların yapışkanlık özelliklerinin diğer turp çeşitlerinden elde edilen örneklere göre daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır. Toz gıdaların akabilirlik ve yapışkanlık özellikleri depolama, paketleme, taşıma gibi faktörler açısından önemlidir. Elde edilen verilere göre karpuz turp örneklerine ait tozların diğer örneklere göre, zayıf akabilirlik ve yüksek yapışkanlık özelliği gösterdiği belirlenmiştir. Toz ürünlerin akabilirliklerinin iyi olması ve yapışkan olmamaları özellikle toz formundaki karışımlarda (hazır çorba, puding vb.) kullanımları açısından önemlidir. Bu durumda Daikon beyaz uzun turp çeşitlerine ait tozların çalışmada kullanılan turp örneklerine ait tozlar arasında daha akışkan ve daha az yapışkan özellik göstermesi ile gıda formülasyonlarında değerlendirilebilir olduğu düşünülebilir.

SONUÇLAR

Bu çalışmada, farklı şekillerde tüketilen 6 farklı turp çeşidine ait toz örneklerin fiziksel, kimyasal, termal, fonksiyonel ve toz özellikleri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre Daikon uzun beyaz turp örneklerinin daha parlak ve sarı olduğu, Antep tur örneklerine ait tozların ise daha kırmızı olduğu belirlenmiştir. Turp örneklerinin protein içerikleri birbirine yakın değerler göstermiş olsa da, Daikon uzun pembe ve siyah turp tozları diğer örneklerden daha düşük protein ve yağ içeriğine sahip örnekler olarak belirlenmiştir. Biyoaktif bileşen içeriklerine göre şalgam turpunun TFM ve BFM miktarları ve Antep turpunun SFM miktarı ile antioksidan aktivite değerleri genel olarak diğer turp örneklerinden daha üstün bulunmuştur. Turp çeşitleri arasında şalgam turpu en düşük entalpi değerini verirken, karpuz turp en yüksek entalpi değeri hesaplanan örnek olarak belirlenmiştir. Daikon uzun pembe turp çeşide ait toz örneklerin köpük kapasitesi diğer örneklerden daha yüksekken, su absorpsiyonu açısından zayıf kalmıştır. Antep turp çeşidi en kısa sürede çözünen ancak dağılılabirliği en düşük olan örnek olarak belirlenmiştir. Genel olarak değerlendirilecek olursa; şalgam ve Antep turp çeşitlerinin biyoaktif bileşenler açısından olduğu kadar yağ ve su absorpsiyon değerlerinin yüksek olduğu belirlenirken, köpük özelliklerinin önemli olduğu formülasyonlarda Daikon uzun pembe turp çeşidinin kullanılabilmesi sonucu elde edilmiştir. Bununla birlikte turp tozlarının gıda formülasyonlarında toz özellikleri iyileştirici ve biyoaktif bileşenler açısından zenginleştirme ajanı olarak kullanılması konusunda daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

AACC (1990). Approved methods of the AACC. 8th ed., American Association of Cereal Chemists Saint Paul, MN, USA.

Al-Shehbaz, I.A., Beilstein, M.A., Kellogg, E.A. (2006). Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview. *Plant Systematics and Evolution*, 259: 89-120.

- Ankita, P.K., Prasad, K. (2015). Characterization of dehydrated functional fractional radish leaf powder. *Der Pharmacia Lettre*, 7(1): 269-279.
- Apak, R., G cl , K.,  zy rek, M., Celik, S.E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160 (4): 413-419. DOI 10.1007/s00604-007-0777-0.
- Arıcı, M. (2016). Fonksiyonel Bir Bileşen Olarak G levez (*Colocasia esculenta* L. Schott) Ununun Fırınılık  r nlerinde Kullanımı.
- Ayala-Silva, T., Winterstein, R.J., Meerow, A.W., Winterstein, M., Cervantes, C., Brown, J. S. (2005). Determination of color and fruit traits of half-sib families of mango (*Mangifera indica* L.). In *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 118: 253-257.
- Barbosa-C novas, G.V., Ortega-Rivas, E., Juliano, P., Yan, H. (2005). Particle properties. *Food Powders: Physical Properties, Processing, and Functionality*, 19-54.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E., Sapirstein, H.D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chemistry*, 82 (4): 390-393.
- Bilgiçli, N. (2002). Fitik Asitin Beslenme Aisından  nemi ve Fitik Asit Miktarı D ş r lm ş Gıda  retim Metotları. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 16(30): 79-83.
- Bors, M.D., Semeniuc, C.A., Socaci, S., Varva, L., Moldovan, O., Vlaic, R., Tofana, M. (2015). Total phenolic content and antioxidant capacity of radish as influenced by the variety and vegetative stage. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 72(1): 77-81.
- Cai, Y.Z., Corke, H. (2000). Production and properties of spray-dried *Amaranthus betacyanin* pigments. *Journal of Food Science*, 65(7): 1248-1252.
- alışkan Ko, G. (2018). P sk rtmeli kurutucu ile ıspanak ve havu sularının kurutulması ve  rnek gıda sisteminde denenmesi.
- Cemeroğlu, B., Özkan, M. (2004). Kurutma teknolojisi. *Meyve ve Sebze  şleme Teknolojisi*, 2, 479-618 s.
- Chegini, G.R., Ghobadian, B. (2005). Effect of spray-drying conditions on physical properties of orange juice powder. *Drying Technology*, 23(3): 657-668.
- Chen, X.D., Patel, K.C. (2008). Manufacturing better quality food powders from spray drying and subsequent treatments. *Drying Technology*, 26(11): 1313-1318.
- Chihoub, W., Dias, M.I., Barros, L., Calhelha, R.C., Alves, M.J., Harzallah-Skhiri, F., Ferreira, I.C. (2019). Valorisation of the green waste parts from turnip, radish and wild cardoon: Nutritional value, phenolic profile and bioactivity evaluation. *Food Research International*, 126: 108651.
- De Nicola, G. R., Bagatta, M., Pagnotta, E., Angelino, D., Gennari, L., Ninfali, P., ... Iori, R. (2013). Comparison of bioactive phytochemical content and release of isothiocyanates in selected brassica sprouts. *Food Chemistry*, 141(1): 297-303.
- Enkhtuya, E., Tsend, M. (2020). The effect of peeling on antioxidant capacity of black radish root. *Italian Journal of Food Science*, 32(3).
- Famuwagun, A.A., Alashi, A.M., Gbadamosi, S.O., Taiwo, K.A., Oyedele, D.J., Adebooye, O.C., Aluko, R.E. (2020). Comparative study of the structural and functional properties of protein isolates prepared from edible vegetable leaves. *International Journal of Food Properties*, 23(1): 955-970.
- Fang, Y., Selomulya, C., Chen, X.D. (2007). On measurement of food powder reconstitution properties. *Drying Technology*, 26(1): 3-14.
- Gong, Z., Zhang, M., Mujumdar, A.S., Sun, J. (2007). Spray drying and agglomeration of instant bayberry powder. *Drying Technology*, 26(1): 116-121.
- Goula, A.M., Adamopoulos, K.G. (2008). Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. Powder properties. *Drying Technology*, 26(6): 726-737.
- Goyeneche, R., Roura, S., Ponce, A., Vega-G lvez, A., Quispe-Fuentes, I., Uribe, E., Di Scala, K. (2015). Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (*Raphanus sativus*

- L.) leaves and roots. *Journal of Functional Foods*, 16: 256-264.
- Graf, E., Empson, K.L., Eaton, J.W. (1987). Phytic acid. A natural antioxidant. *Journal of Biological Chemistry*, 262(24): 11647-11650.
- Graham, D.E., Phillips, M.C. (1976). The conformation of proteins at the air-water interface and their role in stabilizing foams. *Foams*, 237-255.
- Gunaratne, A., Hoover, R. (2002). Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydrate Polymers*, 49(4), 425-437.
- Gyamfi, M.A., Yonamine, M., Aniya, Y. (1999). Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana: *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. *General Pharmacology: The Vascular System*, 32(6), 661-667.
- Haug, W., Lantzsch, H.J. (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34: 1423-1426. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740341217>.
- Hayta, M., Alpaslan, M., Baysar, A. (2002). Effect of drying methods on functional properties of tarhana: A wheat flour-yogurt mixture. *Journal of Food Science*, 67(2): 740-744.
- Jaime, L., Mollá, E., Fernández, A., Martín-Cabrejas, M.A., López-Andréu, F.J., Esteban, R.M. (2002). Structural carbohydrate differences and potential source of dietary fiber of onion (*Allium cepa* L.) tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1): 122-128.
- Jinapong, N., Suphantharika, M., Jamnong, P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 84(2): 194-205.
- Joo, S.Y., Park, J.D., Choi, Y.S., Sung, J.M. (2017). Quality characteristics and antioxidant activity of red radish (Bordeaux and watermelon radish) tea with use of different processing methods. *The Korean Journal of Food And Nutrition*, 30(5): 908-915
- Jumah, R.Y., Tashtoush, B., Shaker, R.R., Zrai, A.F. (2000). Manufacturing parameters and quality characteristics of spray dried jameed. *Drying Technology*, 18(4-5): 967-984.
- Kaushal, P., Sharma, H.K. (2014). Effect of incorporating taro (*Colocasia esculenta*), rice (*Oryza sativa*), and pigeon pea (*Cajanus cajan*) flour blends on noodle properties. *International Journal of Food Properties*, 17(4): 765-781.
- Khedr, A., El Sheikh, N. (2016). Antidiabetic and Antiatherosclerotic activity of dried red radish roots (*Raphanus sativus* L) on hypercholesterolemic diabetic rats. *Bulletin of the National Nutrition Institute of the Arab Republic of Egypt*, 47(2): 1-31.
- Koç, M., Koç, B., Kaymak-Ertekin, F. (2011). Toz gıdaların fiziksel karakterizasyon özellikleri. *Akademik Gıda* 9(4): 60-70.
- Koley, T. K., Khan, Z., Oulkar, D., Singh, B. K., Maurya, A., Singh, B., Banerjee, K. (2020). High resolution LC-MS characterization of phenolic compounds and the evaluation of antioxidant properties of a tropical purple radish genotype. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(1): 1355-1366.
- Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F. (2007). Antioxidant and free radical scavenging activities of whole wheat and milling fractions. *Food Chemistry*, 101(3), 1151-1157.
- Lyu, F., Huang, R.J., Liu, L., Zhou, X., Ding, Y.T. (2015). Effect of slaughter methods on the quality of Chilean jack mackerel (*Trachurus murphyi*) during refrigerated storage. *Journal of Food Science and Technology*, 52:1742-1747.
- Martinelli, L., Gabas, A.L., Telis-Romero, J. (2007). Thermodynamic and quality properties of lemon juice powder as affected by maltodextrin and arabic gum. *Drying Technology*, 25(12): 2035-2045.
- Méndez-Lagunas, L.L., Cruz-Gracida, M., Barriada-Bernal, L.G., & Rodríguez-Méndez, L.I. (2020). Profile of phenolic acids, antioxidant activity and total phenolic compounds during blue corn tortilla processing and its bioaccessibility. *Journal of Food Science and Technology*, 57: 4688-4696.

- Naczki, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and Analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2): 95-111.
- Ozaki, M.M., Munekata, P.E., de Souza Lopes, A., do Nascimento, M.D.S., Pateiro, M., Lorenzo, J.M., Pollonio, M.A.R. (2020). Using chitosan and radish powder to improve stability of fermented cooked sausages. *Meat Science*, 167: 108165.
- Park, C.H., Baskar, T.B., Park, S.Y., Kim, S.J., Valan Arasu, M., Al-Dhabi, N.A., ... & Park, S.U. (2016). Metabolic profiling and antioxidant assay of metabolites from three radish cultivars (*Raphanus sativus*). *Molecules*, 21(2): 157.
- Pedišić, S., Levaj, B., Dragović-Uzelac, V., Škevin, D., Skendrović Babojević, M. (2009). Color parameters and total anthocyanins of sour cherries (*Prunus cerasus* L.) during ripening. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 74(3), 259-262.
- Raczuk, J., Wadas, W., Glozak, K. (2014). Nitrates and nitrites in selected vegetables purchased at supermarkets in Siedlce, Poland. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 65(1).
- Sabuncu, M. (2019). Farklı turp (*Raphanus sativus* L.) tiplerinin antioksidan kapasite ve biyoalınabilirliklerinin belirlenmesi. Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Bursa, Türkiye, 35 s.
- Shahidi, F., Yeo, J. (2016). Insoluble-bound phenolics in food. *Molecules* 21(9): 1216.
- Shen, D., Sun, H., Huang, M., Zheng, Y., Li, X., Fei, Z. (2013). Radish Base: a database for genomics and genetics of radish. *Plant and Cell Physiology*, 54(2): e3-e3.
- Singh, A., Sharma, S. (2020). Radish. *Antioxidants in Vegetables and Nuts-Properties and Health Benefits*, 209-235.
- Solmaz, İ., Akbaş, F., Erköse, H., Sarı, N., Dal, B. (2017). Farklı dozlarda kükürt uygulamasının turp (*Raphanus sativus* L.)'ta verim ve kalite üzerine etkileri. *Akademik Ziraat Dergisi*, 6: 257-262.
- Solmaz, İ., Sarı, N. (2012). Turp ve Tarımı. *Agromedya*, 6: 51-53.
- Tacer, Z. (2008). Bulgurun Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi. İstanbul, Türkiye. 76 s.
- Tafrihi, M., Nakhaei Sistani, R. (2017). E-cadherin/ β -catenin complex: a target for anticancer and antimetastasis plants/plant-derived compounds. *Nutrition and Cancer*, 69(5): 702-722.
- Tatsuzawa, F., Saito, N., Toki, K., Shinoda, K., Shigihara, A., Honda, T. (2010). Acylated cyanidin 3-sophoroside-5-glucosides from the purple roots of red radish (*Raphanus sativus* L.)'Benikanmi'. *Journal of The Japanese Society for Horticultural Science*, 79(1): 103-107.
- Vitali, D., Dragojević, I.V., Šebečić, B. (2009). Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 114(4): 1462-1469.
- Walde, P.D., Bamnikar, M.D. (2022). Charkokta Harit Varga and Immunity.
- Yılmaz, V. A. (2019). Effects of different cooking and drying methods on phenolic acids, carotenoids, and antioxidant activity of emmer (*Triticum turgidum* ssp. dicoccum) bulgur. *Cereal Chemistry*, 96(6). 1093-1102.
- Yılmaz, V.A., Koca, A.F. (2017). Effect of different production techniques on bioactive compounds and antioxidant capacity of einkorn (*Triticum monococcum* L.) and durum (*Triticum turgidum* subsp. durum) bulgur. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(1): 269-277.
- Zitvogel, L., Pietrocola, F., Kroemer, G. (2017). Nutrition, inflammation and cancer. *Nature Immunology*, 18(8): 843-850.



IMPLICATIONS OF STABILIZERS USED IN BRINE OF SOFT WHITE CHEESE ON THE AROMA PROFILE OF CHEESES

Çağla Özbek^{1*}, Nuray Güzeler²

¹Department of Gastronomy and Culinary Arts, Toros University, Mersin, Turkey

²Department of Food Engineering, University of Cukurova, Balcalı, Adana, Turkey

Received /Geliş: 17.05.2022; Accepted / Kabul: 13.10.2023; Published online / Online baskı: 19.10.2023

Özbek, Ç., Güzeler, N. (2023). Implications of stabilizers used in brine of soft White cheese on the aroma profile of cheeses. GIDA (2023) 48 (6) 1199-1215 doi: 10.15237/gida.GD22050

Özbek, Ç., Güzeler, N. (2023). Yumuşak beyaz peynir salamurasında kullanılan stabilizörlerin peynirlerin aroma profili üzerine etkileri. GIDA (2023) 48 (6) 1199-1215 doi: 10.15237/gida.GD22050

ABSTRACT

This paper describes the compositional characterization of cheese brine and aroma profile of Soft White cheese which contains different stabilizers such as sodium caseinate, carrageenan and guar gum in the brine solutions. During the 60-day storage period, pH, titration acidity, dry matter, fat, salt and protein amounts of cheese brines were analyzed. The aroma profile of the cheese samples was examined by gas chromatography–mass spectrometry using a solid-phase microextraction technique and the proportional distribution of volatile compounds was revealed. The stabilizers in the brine increased the dry matter content in the cheese mass by binding the water and reduced salt penetration into the cheese mass. A total of 23 aromatic compounds were identified including 4 aldehydes, 5 alcohols, 4 esters, 1 ether, 5 hydrocarbons, 2 ketones and 2 organic acids in cheeses. Carrageenan and guar gum were found more effective than sodium caseinate in terms of flavor retention.

Keywords: Soft White cheese, brine, stabilizer, aroma compounds

YUMUŞAK BEYAZ PEYİR SALAMURASINDA KULLANILAN STABİLİZÖRLERİN PEYİRLERİN AROMA PROFİLİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ÖZ

Bu makalede, salamuralarında sodyum kazeinat, karragenan ve guar gam gibi farklı stabilizörler içeren Yumuşak Beyaz peynirlerin aroma profilleri ve peynir salamuralarının bileşim özellikleri incelenmiştir. Peynir salamuralarının pH, titrasyon asitliği, kurumadde, yağ, tuz ve protein oranları 60 günlük depolama süresince analiz edilmiştir. Peynir örneklerinin aroma profili, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi ile katı faz mikroekstraksiyon tekniği kullanılarak incelenmiş ve uçucu bileşiklerin orantısız dağılımı ortaya çıkarılmıştır. Salamuradaki stabilizörler suyu bağlayarak peynir kitlesindeki kurumadde oranını arttırmış ve kitleye tuz geçişini azaltmıştır. Peynirlerde 4 aldehit, 5 alkol, 4 ester, 1 eter, 5 hidrokarbon, 2 keton ve 2 organik asit olmak üzere toplam 23 aromatik bileşik tespit edilmiştir. Karagenan ve guar gam, aroma tutuculuğu açısından sodyum kazeinattan daha etkili bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Yumuşak Beyaz peynir, salamura, stabilizör, aroma bileşikleri

* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: cagla.ozbek@toros.edu.tr

☎: (0324) 325 33 00-1206

Çağla Özbek, ORCID no: 0000-0002-3577-1599

Nuray Güzeler, ORCID no: 0000-0001-5246-2491

INTRODUCTION

Aroma is one of the most important criteria that determine cheese quality (Fox and Wallace, 1997). It was reported that more than 300 different volatile and non-volatile compounds are added to the cheese flavor. These compounds emerge as a result of cheese microflora, enzymes that are added to cheese or naturally found in cheese, and the effects of these enzymes on lactose, lipids and proteins (Fox et al., 1995). The aroma profile of cheeses is highly influenced by the water-soluble fraction, as it contains most of its aromatic compounds such as salts, amino acids and low molecular weight peptides in addition to some volatiles (Tavaria et al., 2003).

It is known that the flavors of foods are affected by the type and amount of stabilizer used (Malone et al., 2003). Many researchers have shown that in the presence of hydrocolloid, the viscosity of foods increases and the flavor perception decreases, and the use of hydrocolloid in increasing concentration gradually reduces the perceived aroma level (Pangborn and Szczesniak, 1974; Guichard, 2002). The main reason for this is that hydrocolloids increase the viscosity of foods and reduce the transfer of flavor compounds from the matrix to the vapor (Guichard et al., 2016). The use of stabilizers in milk and dairy products affects milk proteins and causes changes in the structure of the products (Lin et al., 2017). Modified starch (Benaouadj et al., 2017), dietary fibers (Suvera et al., 2017), hydrocolloids (gum) (Murtaza et al., 2017) and some polysaccharides (Yousefi and Jafari, 2019) are used as stabilizers or thickeners in cheese making.

Sodium caseinate is defined as a milk protein and is often used as an emulsifier and stabilizer. It binds water and oil molecules together and positively affects the appearance of foods by reducing fat particles (Abdolmaleki et al., 2019). Sodium caseinate has many hydrophilic groups and hydrophobic groups that attract each other with water and oil analogs, respectively, thus having emulsifying and stabilizing capacities (Bai et al., 2019).

Carrageenan is a linear sulfated polysaccharide obtained from various species of edible red algae belonging to the Rhodophyceae family and is widely used as a thickener, stabilizer or gelling agent in food products, pharmaceutical applications and cosmetics. The molecular structure of carrageenan is based on a disaccharide repeat of alternating D-galactose and 3,6-anhydro-galactose (3,6-AG) units joined by α -1,4 and β -1,3 glycosidic linkages (Nogueira et al., 2019; Tang et al., 2019; Wurm et al., 2019).

Guar gum is a natural carbohydrate polymer obtained from the seed plant *Cyamopsis tetragonoloba*, widely grown in India and Pakistan. It consists mainly of galactomannan (80%). It has linear chains of (1-4)- β -D-mannopyranosyl units joined by (1-6)- α -D-galactopyranosyl distributed in side branches. In addition, guar gum functions as a highly compatible starting material forming with water-soluble vinyl functional monomers to obtain state-of-the-art bio-based materials due to its advantageous shelf life, biodegradability, superabsorbency and mechanical strength properties (Simiqueli et al., 2019; Yang et al., 2019).

In other studies, stabilizers were often added to cheese milk (Jana et al., 2010; Zomorodi et al., 2020) or used as coating material (Kampf and Nussinovitch, 2000; Goulart et al. 2019). These methods require a high amount of stabilizer use or an intensive labor force. Thus, economic losses, time and energy losses may occur. However, the amount of stabilizers used in brine is much lower and its application is a very simple process. For this reason, the above-mentioned disadvantages are reduced or prevented by the use of stabilizers in the cheese brine. However, the use of stabilizers in brine was found in only one study in the literature (Cankurt, 2019). In the research conducted by Cankurt (2019), guar gum, carrageenan, xanthan gum and gelatin were added to the White cheese brine and the physicochemical, textural, sensory and microbiological properties of the cheeses were examined. However, it was not investigated how the stabilizers in the brine affect the aroma compounds in the cheese.

Another innovative aspect of this research is that the aroma profile of soft white cheese, which is well known as a name of of "white cheese with the consistency of Turkish delight" ("Lokum kıvamında Beyaz peynir" in Turkish) by the consumer but whose scientific properties are unknown, has been examined. There is no standard production method for this soft white cheese type in Turkey. Although this cheese variety is similar to the classic white cheese, it contains some differences in its process. In this context, the main difference is the application of pasteurization (82°C) at high temperatures (Aydemir and Kurt, 2020). In addition, thermophilic culture can be used together with mesophilic starter culture in these cheeses. White cheese with the consistency of Turkish delight is much softer than classic white cheese. Therefore, this cheese is structurally likened to Turkish delight in terms of softness.

In another part of this study, physicochemical, textural and sensory properties of soft white cheeses were determined. As a result of the research, by using stabilizer in brine, cheeses with higher dry matter and protein and less salt content were obtained and their textural properties were improved during storage. In addition, the stabilizers used did not affect the sensory properties of the cheeses (Özbek and Güzeler, 2022). In this study, it was aimed to determine the aromatic components of white cheese with unknown flavor profile, and the effects of using stabilizers in cheese brine on cheese flavor and brine composition were investigated. In this context, Soft White cheeses were stored in brine

containing sodium caseinate, carrageenan and guar gum for 60 days, and brine compositions and aroma profile of cheeses were investigated on the 1st, 15th, 30th and 60th days of the storage.

MATERIAL AND METHOD

Raw materials

A mixture of milk from Simmental and Holstein cows obtained from the Güneydoğu Dairy Factory was used in cheese making. The milk used contained an average of 12.5% dry matter, 3.5% protein and 3.5% fat. Danisco Chozit TA 054 (France) (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*) and MA 016 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) Feta cheese cultures (1:3 w/w) were used in the production of Soft White cheeses. Ajinomoto-ACTIVA YG microbial transglutaminase enzyme (100 g MTG/tonne of milk) was used. NATUREN® MANDRA 175 (175 IMCU value, 1/16.000 strength; contains minimum 80% chymosin enzyme, maximum 20% Pepsin enzyme) belonging to the company Chr-Hansen (Denmark) was used. Salt, calcium chloride, sodium caseinate, carrageenan and guar gum were obtained from the local producers.

Brine preparation

The amounts of stabilizers used in the research were determined by the trial productions and the best samples were selected as 0.05% carrageenan, 0.05% guar gum and 0.10% sodium caseinate, considering the sensory qualities of the samples. The compositions of the brines prepared at 38°C and 5.2 pH were shown in Table 1.

Table 1. Formulations of cheese brines

Sample Number	Stabilizer Type	NaCl (%)	CaCl ₂ (%)	Stabilizer (%)
Control	-	12.0	0.04	-
BRN14	Sodium caseinate	12.0	0.04	0.10
BRN76	Carrageenan	12.0	0.04	0.05
BRN58	Guar gum	12.0	0.04	0.05

Cheese production

Cheese production was carried out in the Güneydoğu Dairy Factory (Kozan, Adana) in three replications. After the preliminary tests applied to cow's milk, the milks were clarified and

standardized to 3.5% fat content. Milk was pasteurized at 82°C for 6 minutes and cooled to incubation temperature (42°C). Mesophilic (0.075%) and thermophilic (0.025%) starter cultures, microbial transglutaminase enzyme (100

g/tonne, recommended by the manufacturer) and calcium chloride (0.16%) were added. Rennet was added to the milk at 42°C for curd formation in 70 minutes. The curd was broken (2-3 cm³), pressed for 1 hour (0.1 bar per cm²) and whey was removed. Then the cheeses were cut in 11x11 cm dimensions at pH 5.20-5.30. Cheese blocks were put in brine (pH 5.20 at 38°C) containing different stabilizers and rested for 6 hours. At the end of this period, the cheeses were placed in polypropylene packages, stabilizer-added brine was added to the cheeses and stored at 4-6°C for 60 days.

Physicochemical Analysis

Compositional analysis of cheese brines

pH measurements in brines were determined directly using the WTW 3110 brand pH meter (Hannon et al., 2003). Acidity determination was made according to alkali titration method and 0.1 N NaOH solution adjusted as alkali was used. Results were expressed as % lactic acid (TSE, 2002). Dry matter contents were determined using the gravimetric method and the results were expressed as percentage (%) (IDF, 2004a). Fat contents were determined according to Gerber method by using milk butyrometer (TSE, 2002). The fat in the dry matter amount was calculated by considering fat and dry matter contents of brine. Protein contents were calculated by multiplying the nitrogen amounts with a factor of 6.38 using the micro-Kjeldahl method and expressed as percentage (%) (IDF, 2004b). Salt contents were determined by the Mohr titration method according to Bradley et al. (1993) and the results are expressed as percentage (%).

Determination of aroma compounds of soft white cheeses

Aroma development in cheeses was determined by Solid Phase Microextraction (SPME) method. Aroma analyzes were carried out on the 15th day of storage. Cheese samples were frozen at -20°C. Then, 3.0 g of the frozen samples were weighed into a 20 mL vial. The samples were incubated at 40°C for 30 minutes. A solvent-free technique was used for the extraction of volatile substances (Pawliszyn et al., 1997). Extraction was performed with 1 cm 50/30 µm divinylbenzene-carboxen-polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) fiber-vial

injection. The fiber was kept in the headspace for 30 minutes at 40°C, allowing the aroma substances to pass into the fiber structure. During desorption, the fiber was immersed in the injection block and kept at 250°C for 2 minutes. Helium was used as the carrier gas at a flow rate of 1 mL/min. HP-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm; J&W Scientific, Folsom, CA, USA) column was used to separate the compounds. The applied furnace temperature program was: initially kept at 40°C for 2 minutes (desorption period), and the temperature was increased to 70°C at 5°C per minute and kept at this temperature for 1 minute. The temperature was then increased to 240°C with 10°C increments per minute and kept at this temperature for 30 minutes. The mass spectrometer was set at 33-450 amu (threshold value 1000) and the sampling rate was set at 1.11 scans per minute. Agilent 7000 Series Triple Quad GC-MS system was used to determine the volatile aroma compounds of cheeses. The 'Retention Index' (RI) values calculated by using the Wiley, National Institute of Standards and Technology (NIST) libraries and the retention times of each peak and the retention times of the hydrocarbon standard were taken as reference in the identification of aroma compounds that perform the separation.

Statistical analysis

The research was carried out as four different applications (SWC05, SWC64, SWC33, SWC17) and three replications. Statistical analyzes were performed using the "SPSS 21.0 Package Program" and the results were compared by one-way analysis of variance (ANOVA) using the software SPSS 21.0, and the Duncan multiple comparison test was applied to significant differences whose level was assessed as $p=0.05$ (Efe et al., 2000).

RESULTS AND DISCUSSION

Composition of brines

During storage, pH, titration acidity, dry matter, fat and fat in dry matter, protein and protein in dry matter, and salt and salt in dry matter properties of brines were investigated. Data on the composition properties of brines were given in Table 2.

Table 2. Compositions of brines (n=3)

	Storage (days)	Cheese Brines			
		Control	BRN14	BRN76	BRN58
pH	1	5.34 ± 0.14 ^{aL}	5.47±0.16 ^{aK}	5.38±0.11 ^{aK}	5.41±0.18 ^{aK}
	15	5.41±0.12 ^{aKL}	5.40±0.22 ^{aK}	5.37±0.19 ^{aK}	5.31±0.24 ^{aK}
	30	5.44±0.08 ^{aKL}	5.53±0.06 ^{aK}	5.45±0.09 ^{aK}	5.46±0.02 ^{aK}
	60	5.60 ± 0.05 ^{aK}	5.52±0.14 ^{aK}	5.48±0.02 ^{aK}	5.41±0.18 ^{aK}
Titratable acidity (L.a.%)	1	0.58±0.00 ^{aLM}	0.40 ± 0.00 ^{cM}	0.58±0.06 ^{aM}	0.49±0.04 ^{bM}
	15	0.79 ± 0.09 ^{aK}	0.56± 0.02 ^{bL}	0.70±0.01 ^{aL}	0.72±0.00 ^{aK}
	30	0.65 ± 0.01 ^{cL}	0.65± 0.02 ^{cK}	0.88±0.03 ^{aK}	0.73±0.03 ^{bK}
	60	0.54 ± 0.00 ^{aM}	0.40±0.01 ^{bM}	0.42±0.05 ^{bN}	0.57±0.03 ^{aL}
DM (%)	1	10.78±0.20 ^{aM}	9.68±0.37 ^{bM}	9.83± 0.23 ^{bN}	10.04±0.04 ^{bN}
	15	11.03±0.03 ^{cL}	11.45±0.03 ^{bL}	11.92±0.11 ^{aL}	11.36±0.08 ^{bL}
	30	11.08±0.09 ^{aL}	11.17±0.09 ^{aL}	10.72±0.12 ^{bM}	10.49±0.05 ^{cM}
	60	13.88±0.02 ^{aK}	12.66±0.06 ^{dK}	12.98±0.08 ^{cK}	13.36±0.02 ^{bK}
Fat (%)	1	0.32±0.03 ^{aK}	0.30±0.00 ^{aK}	0.31±0.01 ^{aK}	0.30± 0.00 ^{aK}
	15	0.32±0.03 ^{aK}	0.33±0.03 ^{aK}	0.32±0.02 ^{aK}	0.33±0.03 ^{aK}
	30	0.32±0.03 ^{aK}	0.32±0.03 ^{aK}	0.31± 0.01 ^{aK}	0.32±0.03 ^{aK}
	60	0.33±0.03 ^{aK}	0.33±0.03 ^{aK}	0.33± 0.02 ^{aK}	0.33± 0.03 ^{aK}
Fat in DM (%)*	1	2.94 ± 0.32 ^{aK}	3.44±0.54 ^{aK}	3.19±0.10 ^{aK}	2.99±0.01 ^{aK}
	15	2.87± 0.26 ^{aKL}	2.76±0.26 ^{aK}	2.68±0.17 ^{aLM}	2.93±0.27 ^{aK}
	30	2.86 ± 0.27 ^{aKL}	2.98±0.49 ^{aK}	2.89±0.08 ^{aL}	3.02±0.26 ^{aK}
	60	2.40 ± 0.21 ^{aL}	2.63±0.24 ^{aK}	2.52±0.19 ^{aM}	2.50±0.21 ^{aL}
Protein (%)	1	1.09 ± 0.15 ^{aN}	0.88±0.19 ^{aN}	0.99±0.40 ^{aN}	0.88±0.04 ^{aN}
	15	1.53±0.07 ^{abM}	2.03±0.45 ^{aM}	1.50±0.23 ^{abM}	1.34±0.21 ^{bM}
	30	2.21±0.22 ^{bL}	2.61±0.05 ^{aL}	2.19±0.08 ^{bL}	2.18±0.06 ^{bL}
	60	2.73 ± 0.00 ^{bK}	3.61±0.02 ^{aK}	2.72±0.04 ^{bK}	2.75±0.14 ^{bK}
Protein in DM (%)*	1	10.10±1.24 ^{aM}	8.88± 1.78 ^{aM}	10.13±3.85 ^L	8.73 ± 0.38 ^{aM}
	15	13.92±0.62 ^{abL}	17.02±3.73 ^{aL}	13.08±2.09 ^{abL}	11.75±1.88 ^{bL}
	30	19.97 ± 1.99 ^{bK}	24.36±0.58 ^{aK}	20.42±0.59 ^{bK}	20.74±0.59 ^{bK}
	60	19.67 ± 0.04 ^{cK}	27.82±0.15 ^{aK}	20.93±0.23 ^{bK}	20.56±1.08 ^{bcK}
Salt (%)	1	7.24 ± 0.11 ^{bK}	8.38±0.31 ^{aK}	8.43±0.38 ^{aK}	8.79±0.49 ^{aK}
	15	7.03±0.09 ^{bKL}	8.14±0.29 ^{aK}	8.27±0.35 ^{aK}	8.32±0.32 ^{aKL}
	30	6.79 ± 0.15 ^{bL}	7.92±0.36 ^{aK}	8.00±0.46 ^{aK}	8.04 ± 0.40 ^{aL}
	60	6.74 ± 0.28 ^{bL}	7.85±0.16 ^{aK}	7.92±0.32 ^{aK}	7.97 ± 0.17 ^{aL}
Salt in DM (%)*	1	67.19±0.86 ^{bK}	86.52±3.06 ^{aK}	85.70±3.92 ^{aK}	87.58±4.56 ^{aK}
	15	63.67±0.91 ^{bL}	71.05±2.39 ^{aL}	69.37±3.55 ^{aL}	73.22±2.36 ^{aL}
	30	61.28±0.84 ^{bL}	70.91±3.75 ^{aL}	74.69±5.02 ^{aL}	76.62±4.24 ^{aL}
	60	48.57±2.07 ^{bM}	61.98±1.43 ^{aM}	61.06±2.83 ^{aM}	59.64±1.18 ^{aM}

BRN14: Sodium caseinate added brine, BRN76: Carrageenan added brine, BRN58: Guar gum added brine

a, b, c, d: Values that are shown in the same line with different exponential letters are different in terms of $P < 0.05$ level of significance.

K, L, M, N: Values that are shown in the same column with different exponential letters are different in terms of $P < 0.05$ level of significance.

*Fat in DM, Protein in DM and Salt in DM values were calculated by dividing these values by the total dry matter amount.

It was determined that the stabilizer type used did not cause significant statistical differences on the pH value of the brines ($P > 0.05$). During storage, the pH values of the brines increased, this increase was found to be significant only for the control sample ($P < 0.05$). It was concluded that

the addition of stabilizer prevented changes in pH value during storage. Wagenaar and Dack (1958) reported that the addition of stabilizer did not cause a statistically significant change on the pH value and concentration of the cheese brine.

There was an increase in the acidity values of all brines during the initial stages of the storage, and these values decreased in the following days of storage ($P < 0.05$). The changes occurred depending on the stabilizer type used ($P < 0.05$). Yousefi and Jafari (2019) report that the acidity and gelation properties of the main product can vary significantly, depending on the type of hydrocolloids (amino acid or carbohydrate-based hydrocolloids) used in dairy products. While it was stated that polysaccharide-based hydrocolloids did not cause an effect on acidity, it was emphasized that amino acid-based hydrocolloids (such as gelatin or whey protein concentrate) could lower the acidity value more than the control sample without hydrocolloid addition. Sodium caseinate is in the amino acid-based hydrocolloid class (Abdolmaleki et al., 2019), and this can be explained by the fact that the titration acidity values of the sodium caseinate added brines were lower than the control sample in this study.

The addition of stabilizer caused statistically significant differences on the dry matter properties of the brines at each stage of storage ($P < 0.05$). In general, it was thought that the higher dry matter content of the control sample is related to the water retention of the stabilizers. Dry matter ratios of the brines generally increased during the storage period and the storage time was statistically effective on the dry matter contents of all brine samples ($P < 0.05$). In the study carried out by Messens et al. (1998), it was reported that the moisture content of cheese brine decreased during storage, and accordingly, the dry matter content increased. It was thought that the increase in dry matter during storage was due to the fact that the stabilizers in the brine transition to the cheese mass over time, and therefore, the water holding capacity of the brine decreases as the storage progresses. The increase in dry matter contents may also be caused by the mixing of the brine and cheese mass as a result of the disintegration in the cheese structure during storage and the inability to separate sufficiently during the analysis.

Fat contents of brines were very close to each other at each stage of storage, and they did not change depending on the use of stabilizers and the storage time ($P > 0.05$). It was observed that the fat in dry matter contents generally tended to decrease during storage significantly, especially on the 60th day of the storage ($P < 0.05$). This decrease was directly related to the increasing dry matter content during storage. The addition of stabilizer did not cause any change on the fat in dry matter contents of brines ($P > 0.05$).

The protein contents of brines which contain sodium caseinate, which is defined as a milk protein, were significantly higher than protein contents of other brines ($P < 0.05$). There was no significant difference between protein contents of other brines ($P > 0.05$). The protein contents of the brine samples increased during storage ($P < 0.05$). It was thought that an increase in the protein content of the brine occurs due to the increase in the ripening degrees of the cheeses during the storage period (Özbek, 2021). As stated by Gupta et al. (1973), the increase in the amount of soluble protein in the brine during storage might be occur due to the increase in the amount of casein and peptides in the brine due to the partial hydrolysis on the surface of the cheese curd. Similar results were obtained for protein in dry matter contents as well.

The salt content of the control brine during the storage period was significantly lower than the salt content of the other samples ($P < 0.05$). In this case, it was understood that the addition of stabilizer increases the salt content in the brine by decreasing the salt transfer to the cheese mass. As a result of the stabilizers binding the water in the brine, the moisture content in the brine increased and accordingly the salt penetration into the cheese mass decreased. When the stabilizer added brines were compared among themselves in terms of salt content, no statistical difference was found between the samples ($P > 0.05$). It was observed that the salt content of the brine decreased during storage. It is known that the salt content of the brine decreases during storage due to the passage of salt to the cheese mass as a result of diffusion, thus increasing the salt content of the cheese.

Many researchers reveal that there was an increase in salt content in brine cheeses during ripening and storage (Estrada et al., 2019; Kaminarides et al., 2019; Papademas et al., 2019). In the light of this information, it was thought that the decrease in salt content of brines during storage was normal. Similar results were obtained for the salt in dry matter contents as well.

Aroma profile

The aroma profiles of Soft White cheeses were shown in Table 3. Seven different groups of compounds were determined, namely aldehydes,

alcohols, esters, ethers, hydrocarbons, ketones and organic acids in cheeses. It was determined that aldehydes were the most dominant group in Soft White cheeses, followed by esters and ketones. It was observed that the control sample was richer in terms of aldehydes and the cheese preserved in brine containing carrageenan was richer in terms of esters and ketones than the other samples. It was determined that alcohol, hydrocarbons, ether and organic acids observed in cheese samples were not dominant for Soft White cheeses.

Table 3. Aroma profiles of cheeses and relative peak area distribution of aromatic compounds (%)

No	Compound	Molecular formula	RT	Cheeses (%)			
				SWC05	SWC64	SWC33	SWC17
Aldehydes							
1	3-Methyl-butanal	C ₅ H ₁₀ O	2.15	42.54 ^a	18.73 ^d	20.63 ^c	29.66 ^b
2	Acetaldehyde	C ₂ H ₄ O	2.73	15.90 ^c	7.19 ^d	30.69 ^a	27.73 ^b
3	Pentanal	C ₅ H ₁₀ O	2.24	5.29 ^a	2.29 ^d	2.33 ^c	2.70 ^b
4	Butanal	C ₄ H ₈ O	1.87	2.20 ^b	0.89 ^d	3.93 ^a	1.49 ^c
Alcohols							
5	Isoamyl alcohol	C ₅ H ₁₂ O	3.11	2.15 ^d	3.08 ^b	2.27 ^c	3.44 ^a
6	Cyclobutanol	C ₄ H ₈ O	3.63	-	-	0.20 ^b	0.25 ^a
7	(S)- 2-amino, 1-propanol	C ₃ H ₉ NO	9.30	-	-	-	0.07
8	1-Decanol	C ₁₀ H ₂₂ O	14.09	-	0.32	-	-
9	2-Butyl-1-octanol	C ₁₂ H ₂₆ O	14.31	-	0.86	-	-
Esters							
10	Formic acid, ethenyl ester	C ₃ H ₄ O ₂	1.72	4.88 ^d	8.68 ^a	6.45 ^b	5.93 ^c
11	Acetic acid, ethenyl ester	C ₄ H ₆ O ₂	1.77	3.25 ^b	-	4.69 ^a	2.57 ^b
12	1,2,4-Benzentricarboxylic acid, 1-2 dimethyl ester	C ₁₁ H ₁₀ O ₆	4.83	-	-	0.43 ^b	0.47 ^a
13	Phenylethyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	15.20	-	0.62	-	-
Hydrocarbons							
14	Styrene	C ₈ H ₈	6.50	0.22 ^c	-	0.48 ^b	0.72 ^a
15	1,3-dichloro-benzene	C ₆ H ₄ Cl ₂	10.10	-	-	0.51 ^b	0.58 ^a
16	Limonene	C ₁₀ H ₁₆	10.61	1.12 ^c	-	1.91 ^b	3.05 ^a
17	n-Dodecane	C ₁₂ H ₂₆	14.22	0.09 ^d	0.87 ^a	0.21 ^c	0.35 ^b
18	Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	17.19	0.31 ^d	1.89 ^a	0.80 ^c	0.96 ^b
Ketones							
19	Acetone	C ₃ H ₆ O	1.42	8.80 ^c	3.59 ^d	10.31 ^a	9.28 ^b
20	Di-n-decylsulfone	C ₂₀ H ₄₂ O ₂ S	19.66	-	0.33 ^a	0.10 ^b	-
Organic acids							
21	Butyric acid	C ₄ H ₈ O ₂	4.10	-	0.46	-	-
22	Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	9.39	-	0.26 ^a	0.25 ^a	0.07 ^b
Ether							
23	Triethylene glycol monododecyl ether	C ₁₈ H ₃₈ O ₄	34.88	-	0.31	-	-

RT: Retention time

SWC05 (control cheese), SWC64 (cheese with 0.10% of sodium caseinate in brine), SWC33 (cheese with 0.05% of carrageenan in brine) and SWC17 (cheese with 0.05% of guar gum in brine)

a, b, c, d: Values that are shown in the same line with different exponential letters are different in terms of $P < 0.05$ level of significance.

A total of 23 aromatic compounds were detected in Soft White cheeses including 4 aldehydes (3-methyl butanal, acetaldehyde, pentanal, butanal), 5 alcohols (isoamyl alcohol, cyclobutanol, (S)-2-amino-1-propanol, 1-decanol, 2-butyl-1-octanol), 4 esters (formic acid ethenyl ester, acetic acid ethenyl ester, 1,2,4-benzentricarboxylic acid-1-2 dimethyl ester, phenyl ethyl acetate), 1 ether (triethylene glycol mono-dodecyl ether), 5 hydrocarbons (styrene, 1,3-dichloro-benzene, limonene, n-dodecane, tetradecane), 2 ketones (acetone, di-n-decylsulfone) and 2 organic acids (butyric acid, hexanoic acid).

Aldehydes

Among the aldehydes, the most observed compounds in the samples were 3-methylbutanal and acetaldehyde. In all Soft White cheese samples, 3-methylbutanal was detected. The differences observed between 3-methylbutanal levels of cheese samples were found to be statistically significant ($P < 0.05$). The characteristic aroma produced by *Streptococcus lactis* var. *maligenes* in milk is mainly due to the production of 3-methylbutanal, which is derived from leucine (Morgan, 1970). It is known that 3-methylbutanal creates grass, malt and hazelnut odor in cheeses (Luo et al., 2018). Natrella et al., (2020), 3-methylbutanal was detected in Mozzarella cheese. Hydroxyacid dehydrogenases limit the conversion of α -keto acids to aroma compounds, and it is known that the panE gene in *Lactococcus lactis*, which encodes hydroxyacid dehydrogenase activity, inhibits the formation of 3-methylbutanal (Cadiñanos et al., 2013). In a study by Cankurt (2019), it was reported that the addition of carrageenan and guar gum to cheese brine increases the total lactic acid bacteria level in cheeses. In the light of this information, it was thought that the level of lactic acid bacteria may increase with the addition of stabilizers, and accordingly, it may limit the formation of 3-methylbutanal in cheese by increasing the hydroxyacid dehydrogenase activity.

Acetaldehyde, which gives green apples, walnuts and roasted odors to foods, is an important volatile compound for the aroma formation of dairy products such as yogurt, fermented milk and

fresh cheeses (Evangelia et al., 2016). Acetaldehyde is commonly found in fermented milk products and has a distinctive sweet and pungent odor. It is formed by the lactose metabolism of lactic acid bacteria. It can also be produced in reversible ways through the action of the threonine aldolase enzyme on the amino acid threonine (Kaminarides et al., 2015). High acetaldehyde levels were detected in all cheeses and it might be related with use of *Lactococcus lactis* as a mesophilic culture. The differences between the acetaldehyde levels of the cheeses were statistically significant ($P < 0.05$). Evangelia et al., (2016) detected the presence of acetaldehyde in Galotyri cheese.

The differences between the butanal and pentanal levels of the cheeses were also statistically significant ($P < 0.05$). It has been reported that saturated aldehydes such as pentanal and butanal result from lipid oxidation and are associated with cardboard taste, oily and dirty flavors in dairy products. Saturated aldehydes are mainly produced by amino acid catabolism or decarboxylation of keto acids (Kaminarides et al., 2015). Pentanal (Liaw et al., 2010) and butanal (Attaie, 2009) were detected in different cheeses.

Sumonsiri and Barringer (2013) reported that sodium caseinate can cause a decrease in the amount of volatile compounds. Meynier et al. (2005) revealed that in the presence of low concentration of sodium caseinate, the aldehyde concentration in the headspace decreased significantly, and this decrease could be explained by the reactions that are likely to occur between aldehydes and proteins. Hansen and Heins (1991) also reported that the aldehyde concentration decreased as a result of adding protein (sodium caseinate, whey protein, etc.) to aldehyde solutions. Viry et al. (2018) stated that sodium caseinate was weaker than whey proteins in terms of flavor retention. Similar results were also expressed by Charve and Reineccius (2009).

Alcohols

Alcohols were the groups in which the largest number of compounds were detected. Isoamyl alcohol was the compound with the highest level

in the alcohol group. The highest isoamyl alcohol level was detected in cheese in brine with guar gum and the lowest level was in control ($P < 0.05$). Branched-chain alcohols such as isoamyl alcohol are formed due to amino acid catabolism under the influence of lactococcal strains (Evert-Arriagada et al., 2013). Isoamyl alcohol is a compound formed as a result of the breakdown of lactose with the formation of acetyl-coA and leucine by the Ehrlich pathway (Leclercq-Perlat et al., 2004). It was reported that isoamyl alcohol creates cream, fruit and alcohol odor in cheeses (Andrade et al., 2019). In the study conducted by Bas et al. (2019), it was determined that isoamyl alcohol is the dominant alcohol in White cheese.

Other compounds in the alcohol group had low percentages and each compound was detected only in some cheeses. Cyclobutanol is formed as a result of the reduction of ketone compounds (Li et al., 2020), and it was detected in Divle Obruk cheese (Öztürkoğlu Budak et al., 2016) and Cheddar cheese (Liu et al., 2014). No study has been found in the literature on the presence of (S)-2-amino-1-propanol in any cheese variety. For this reason, it was determined that the only source of this compound was the addition of guar gum. It was reported that 1-decanol, which gives the cheese oil and straw odor, was detected in semi-hard goat cheeses (Poveda et al., 2008). 2-butyl-1-octanol was detected in Cheddar cheese (Göğüş et al., 2006) and Xinjiang Kazakh cheese (Xu et al., 2020).

Esters

Esters were one of the most dominant groups in Soft White cheeses after aldehydes and they had a wide variety. It was seen that the compounds with the highest ratios in the ester group were formic acid ethenyl ester and acetic acid ethenyl ester. It was determined that the highest ratios in terms of formic acid ethenyl ester (vinyl formate) were seen in cheese in brine with sodium caseinate and the lowest level was in control ($P < 0.05$). In the literature, no research was found in which formic acid ethenyl ester was detected in any cheese variety. However, Merritt et al. (1967) reported that this compound was detected in butter. Acetic acid ethenyl ester (vinyl acetate) was not detected

in cheese preserved in brine with sodium caseinate addition. While the acetic acid ethenyl ester ratios of control and guar gum applied cheeses were statistically close to each other ($P > 0.05$), carrageenan applied cheese was found to be significantly higher than the other cheeses ($P < 0.05$). In the literature, no research was found that detected acetic acid ethenyl ester compound in cheese. However, Badings (1967) argues that because of the use of vinyl acetate emulsions in cheese packaging (Graiver et al., 2004), this component can be detected in cheeses and causes rib odor in cheeses.

Formic acid ethenyl ester and acetic acid ethenyl ester are in the vinyl ester group. According to EFSA (2010), vinyl esters are unstable compounds, they are unlikely to be found in foods, and vinyl alcohol parts of vinyl esters of fatty acids are generally converted to acetaldehyde as a result of hydrolysis by reaction with sucrose. Vinyl esters are mostly found in foods as aldehydes, but they can sometimes be detected in foods in very low amounts. In this research, it was seen that the compounds in the vinyl ester group were at high levels and it was thought that these compounds were likely to be converted to acetaldehyde in the later stages of storage. However, the high level detected was due to the fact that the analysis was carried out on the 15th day of storage. When the total values of the compounds in the vinyl ester group were examined, it was determined that the highest level was observed in carrageenan applied cheese, followed by guar gum applied, control and sodium caseinate applied cheeses, respectively. This ranking is the same for the acetaldehyde levels of cheeses. This supported that the compounds in the vinyl ester group were converted to acetaldehyde.

1,2,4-benzentricarboxylic acid, 1-2 dimethyl ester were detected only in carrageenan and guar gum applied cheeses, and phenyl ethyl acetate was detected in very low percentages only in sodium caseinate applied cheese. Cao et al. (2019) detected 1,2,4-benzentricarboxylic acid, 1-2 dimethyl esters in fermented milk products produced by the use of different oligosaccharides,

Shi et al. (2020) detected it in calcium sulfate added tofu samples. It was reported that phenyl ethyl acetate creates a rose odor in cheeses (Kırmacı et al., 2015) and was previously detected in Feta cheese (Kondyli et al., 2012).

Hydrocarbons

Although hydrocarbons do not contribute significantly to cheese flavor due to their high odor thresholds, they can act as precursors in the formation of other aromatic compounds that follow different degradation pathways (Bozoudi et al., 2018). Among the hydrocarbons, limonene and tetradecane were determined as the most dominant compounds in cheeses, while other hydrocarbons appeared in low percentages. The highest limonene content was observed in cheese preserved in brine with guar gum, followed by carrageenan applied cheese and control, respectively. Limonene was not detected in cheese preserved in brine with sodium caseinate. This difference observed between cheeses was found to be statistically significant ($P < 0.05$). It was reported that the amount of limonene increases with the decrease in the amount of casein (Ni et al., 2020). The reason why limonene was not detected in sample sodium caseinate applied cheese might be due to its high caseinate content. Limonene is a monoterpene with a strong citrus odor and low detection threshold (Sable et al., 1997) and it is known to have antimicrobial properties (Khorshidian et al., 2018). Fancello et al. (2020) reported that high amounts of limonene were detected in Ricotta cheese.

When the tetradecane and n-dodecane ratios were examined, it was determined that the highest ratio was observed in sodium caseinate applied cheese, and the lowest level was in control. Differences between cheese samples were found significant ($P < 0.05$). Bozoudi et al. (2018) stated that tetradecane is formed by the degradation of compounds derived from plants. It is thought that the fact that carrageenan and guar gum are products of vegetable origin causes the tetradecane ratio in cheeses to be higher than the control sample. The highest rate was observed in sodium caseinate applied cheese, and it was

associated with sodium caseinate addition causing an increase in the level of alkanes (Soong et al., 2019), which are hydrophobic compounds (Nordvi et al., 2007). It was reported that caseins exhibit a high hydrophobic character at pH 4.2, negatively affecting the retention of hydrophilic compounds, while promoting the retention of hydrophobic compounds in the protein matrix (Domingos et al., 2019). Pappa et al. (2020) stated that there was a significant amount of tetradecane in Kashkaval cheeses. Kavaz et al. (2013) detected n-dodecane in Otlu (herbaceous) cheeses.

While styrene was not detected in sodium caseinate applied cheese and 1,3-dichloro-benzene in control and sodium caseinate applied cheeses, these compounds were detected at the highest rate in guar gum applied cheeses ($P < 0.05$). It was reported that styrene was also detected in Pecorino Siciliano Cheese samples (Gaglio et al., 2020). Styrene is an aromatic hydrocarbon used as a monomer in the production of many plastic materials widely used in food packaging. Various types of compounds released in the packaging material at storage temperature can affect food components by diffusion, so compounds such as methylbenzene, ethylbenzene, xylenes, styrene and 1,4-dichloro-benzene can be detected in food products stored in plastic package (Chiesa et al., 2010). In the literature, no study was found in which 1,3-dichloro-benzene was detected in any cheese variety. However, it has been known that 1,3-dichloro-benzene was a tri-isomer halogenated aromatic compound used as an intermediate in the production of dyestuffs (Aydın et al., 2005). Therefore, this compound was also thought to originate from the packaging.

Ketones

It was seen that the most dominant compound in the ketone group in Soft White cheeses was acetone. It was determined that the highest acetone ratio was observed in carrageenan applied cheese, followed by guar gum applied, control and sodium caseinate applied cheeses, respectively ($P < 0.05$). In cheeses, acetone may originate from milk in relation to animal feed, or it may be formed as a result of thermal degradation of β -ketoacids (Pappa et al., 2020). Acetone was also

detected in Feta cheeses (Kondyli et al., 2012). Di-n-decylsulfone was only found in sodium caseinate and carrageenan applied cheeses in very low concentrations. This compound was not detected in control and guar gum applied cheeses. There was no evidence in the literature that di-n-decylsulfone detected in cheeses.

Ether and organic acids were found in very low percentages in Soft White cheeses and were not detected in all cheese varieties. One ether, triethylene glycol mono-dodecyl ether, was detected at a rate of 0.31% in cheese preserved in brine with the addition of sodium caseinate. No studies were found in which triethylene glycol mono dodecyl ether was found in a cheese variety.

Two organic acids, butyric acid and hexanoic acid, were detected in cheeses. While butyric acid was observed at the rate of 0.46% only in sodium caseinate applied cheese, hexanoic acid was detected in all cheese samples preserved in stabilizer added brine. While hexanoic acid levels were close to each other in sodium caseinate and carrageenan applied cheeses, it was determined that this value was significantly lower in guar gum applied cheese ($P < 0.05$). The presence of butyric acid (Nalepa et al., 2019) and hexanoic acid (Martino et al., 2019) in different cheese varieties was determined in many studies.

CONCLUSION

In this study, the diffusion of water in the brine to the cheese mass was slowed down by binding water by the stabilizers and the dry matter contents of the cheeses were kept high. The salt transfer from the brine was less in brine cheeses used stabilizers. As a result, thanks to the use of stabilizers, cheeses with higher dry matter content and lower salt content were obtained.

When the aroma properties of the cheeses were examined, it was determined that the cheese samples preserved in the sodium caseinate added brine generally had a different profile than the other cheeses. These cheeses had lower all aldehyde compounds than other cheeses. Some different compounds that were not detected in other cheeses such as 2-butyl-1-octanol, phenyl

ethyl acetate, di-n-decylsulfone, butyric acid and triethylene glycol mono-dodecyl ether were detected in sodium caseinate applied cheese. On the contrary, compounds such as acetic acid ethenyl ester, limonene, styrene, 1,3-dichlorobenzene were detected in all other cheeses but not in sodium caseinate applied cheese. In this study, it could be said that carrageenan and guar gum were more effective than sodium caseinate in terms of flavor retention. It was also noteworthy that there were some volatile compounds in cheeses originating from packaging. It is important that there is no contamination from the materials to be used in food packaging to the food. For this reason, it is recommended that these materials be chosen more carefully by the manufacturers, considering their environmental and health effects.

CONFLICT OF INTEREST

Funding: This work was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) [Project 119O068]; the Çukurova University Research Fund [FDK-2018-10603].

ETHICAL STATEMENT

The authors state that no ethical approval was needed.

AUTHORS CONTRIBUTIONS

Çağla Özbek: Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Investigation, Writing - Original Draft, Visualization

Nuray Güzeler: Conceptualization, Methodology, Validation, Resources, Writing - Review & Editing, Supervision

All authors approved the final manuscript and accepted to be held responsible for the content.

REFERENCES

Abdolmaleki, K., Alizadeh, L., Nayebzadeh, K., Hosseini, S.M., Shahin, R., (2019). Oleogel production based on binary and ternary mixtures of sodium caseinate, xanthan gum, and guar gum: optimization of hydrocolloids concentration and drying method. *Journal of Texture Studies*, 1-10. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12469>

- Andrade, R.P., Oliveira, D.R., Lopes, A.C.A., De Abreu, L.R., Duarte, W.F., (2019). Survival of *Kluyveromyces lactis* and *Torulopsis delbrueckii* to simulated gastrointestinal conditions and their use as single and mixed inoculum for cheese production. *Food Research International*, 125, 108620. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108620>
- Attaie, R., (2009). Quantification of volatile compounds in goat milk jack cheese using static headspace gas chromatography. *Journal of Dairy Science*, 92, 2435–2443. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1732>
- Aydemir, O., Kurt, A., (2020). The effect of different pasteurization conditions on the rheological, textural and sensory properties of white cheese. *GIDA*, 45 (6): 1083-1096. <https://doi.org/10.15237/gida.GD20101>
- Aydın, M.E., Yıldız, S., Kara, G., Tor, A., (2005). Konya yeraltı suyunda klorlu benzenlerin GC/ECD ile analizi. *Selçuk University Journal of Engineering, Science and Technology*, 20(2),1-6. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/sujest/issue/23276/248451>
- Badings, H.T. (1967). Causes of ribes flavor in cheese. *Journal of Dairy Science*, 50(9), 1347-1351. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(67\)87632-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(67)87632-X)
- Bai, X., Li, C., Yu, L., Jiang, Y., Wang, M., Lang, S., Liu, D., (2019). Development and characterization of soybean oil microcapsules employing kafirin and sodium caseinate as wall materials. *LWT-Food Science and Technology*, 111:235-241. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.032>
- Bas, D., Kendirci, P., Salum, P., GÖvce, G., Erbay, Z., (2019). Production of enzyme-modified cheese (EMC) with ripened White cheese flavour: I-effects of proteolytic enzymes and determination of their appropriate combination. *Food and Bioproducts Processing*, 117, 287–301. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.07.016>
- Benaouadj, F., Ziane-Zafour, A.H., Rebiha, M., (2017). Effects of modified starch and fat on the rheological characteristics of newly formulated processed cheese: use of experimental design method. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 38(5): 693–698. <https://doi.org/10.1080/01932691.2016.1189833>
- Bozoudi, D., Kondyli, E., Claps, S., Hatzikamari, M., Michealidou, A., Biliaderis, C.G., Litopoulou-Tzanetaki, E., (2018). Compositional characteristics and volatile organic compounds of traditional PDO Feta cheese made in two different mountainous areas of Greece. *International Journal of Dairy Technology*, 71(3),673-682. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12497>
- Bradley, R. L., Arnold, E., Barbano, D. M., Semerad, R. G., Smith, D. E., Vines, B. K., (1993). Chemical and physical methods. In: Standart methods for examination of dairy products, Marshall, R.T. (Ed.), American Public Health Association, Washington Dc, USA, pp. 433-531.
- Cadiñanos, L.P.G., García-Cayuela, T., Yvon, M., Martínez-Cuesta, M.C., Peláez, C., Requena, T., (2013). Inactivation of the panE gene in *Lactococcus lactis* enhances formation of cheese aroma compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(11), 3503-3506. <https://dx.doi.org/10.1128/AEM.00279-13>
- Cankurt, H., (2019). The effects of adding different stabilizers in brine on the physicochemical, sensory, microbiological and textural properties of White cheese. *Foods*, 8, 133. <https://doi.org/10.3390/foods8040133>
- Cao, P., Wu, L., Wu, Z., Pan, D., Zeng, X., Guo, Y., Lian, L., (2019). Effects of oligosaccharides on the fermentation properties of *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Dairy Science*, 102, 2863–2872. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15410>
- Charve, J., Reineccius, G.A., (2009). Encapsulation performance of proteins and traditional materials for spray dried flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 2486–2492. <https://doi.org/10.1021/jf803365t>
- Chiesa, L.M., Panseri, S., Soncin, S., Vallone, L., Dragoni, I., (2010). Determination of styrene content in Gorgonzola PDO cheese by headspace solid phase micro-extraction (HS-SPME) and gas-chromatography mass-spectrometry (GC-MS). *Veterinary Research Communications*, 34 (Suppl

- 1),S167–S170. <https://doi.org/10.1007/s11259-010-9375-4>
- Domingos, L.D., De Souza, H.A.L., Mariutti, L.R.B., Benassi, M.T., Bragagnolo, B., Viotto, W.H., (2019). Fat reduction and whey protein concentrate addition alter the concentration of volatile compounds during Prato cheese ripening. *Food Research International*, 119, 793–804. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.062>
- Efe, E., Bek, Y., Şahin, M., (2000). *SPSS’te çözümleri ile istatistik yöntemler 2*. (1st edn., Publication no:10) Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Kahramanmaraş, Turkey.
- EFSA, (2010). Scientific opinion on the safety of sucrose esters of fatty acids prepared from vinyl esters of fatty acids and on the extension of use of sucrose esters of fatty acids in flavourings. *EFSA Journal*, 8 (3),1512. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1512>
- Estrada, O., Arino, A., Juan, T., (2019). Salt distribution in raw sheep milk cheese during ripening and the effect on proteolysis and lipolysis. *Foods*, 8, 100. <https://doi.org/10.3390/foods8030100>
- Evangelia, Z., Dimitrios, K., Theophilos, M., Emmanuel, A., (2016). The effect of probiotic lactic acid bacteria on the characteristics of Galotyri cheese. *International Journal of Clinical Nutrition and Dietetics*, 2, 114. <https://doi.org/10.15344/2456-8171/2016/114>
- Evert-Arriagada, K., Hernández-Herrero, M.M., Gallardo-Chacón, J.J., Juan, B., Trujillo, A.J., (2013). Effect of high pressure processing on volatile compound profile of a starter-free fresh cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19, 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.04.001>
- Fancello, F., Petretto, G.L., Marceddu, S., Venditti, T., Pintore, G., Zara, G., Mannazzu, I., Budroni, M., Zara, S., (2020). Antimicrobial activity of gaseous *Citrus limon var pompia* leaf essential oil against *Listeria monocytogenes* on ricotta salata cheese. *Food Microbiology*, 87, 103386. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103386>
- Fox, P.F., Wallace, J.M., (1997). Formation of flavor compounds in cheese. In: *Advances in applied microbiology*, Neidleman, S.L. & Laskin, A.I. (Eds.), Academic Press, Boston, USA, pp.17-87.
- Fox, P.F., Singh, T.K., McSweeney, P.L.H., (1995). Biogenesis of flavour compounds in cheese. In: *Chemistry of structure-function relationships in cheese: advances in experimental medicine and biology*, Malin, E.L. & Tunick, M.H. (Eds.), Springer, Boston, USA, pp. 59-98.
- Gaglio, R., Franciosi, E., Todaro, A., Guarcello, R., Alfeo, V., Randazzo, C.L., Settanni, L., Todaro, M., (2020). Addition of selected starter/non-starter lactic acid bacterial inoculums to stabilise PDO Pecorino Siciliano cheese production. *Food Research International*, 136, 109335. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109335>
- Goulart, E.M., Olivo, P.M., Rodrigues, B.M., Madrona, G.S., Pozza, P.C., Pozza, M.S.S., (2019). Application of functional edible films in ricotta cheese. *Acta Scientiarum Technology*, 41, e36464. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v41i1.36464>
- Göğüş, F., Özel, M.Z., Lewis, A.C., (2006). Analysis of the volatile components of Cheddar cheese by direct thermal desorption-GCxGC-TOF/MS. *Journal of Separation Science*, 29, 1217 – 1222. <https://doi.org/10.1002/jssc.200500400>
- Graiver, N.G., Zaritzky, N.E., Califano, A.N., (2004). Viscoelastic behavior of refrigerated and frozen low-moisture Mozzarella cheese. *Journal of Food Science*, 69(3), 123-128. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb13364.x>
- Guichard, E. (2002). Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. *Food Reviews International*, 18(1), 49–70. <https://doi.org/10.1081/FRI-120003417>
- Guichard, E., Repoux, M., Qannari, E. M., Laboure, H., Feron, G. (2017). Model cheese aroma perception is explained not only by in vivo aroma release but also by salivary composition and oral processing parameters. *Food and Function*,

- 8(2), 615–628. <https://doi.org/10.1039/C6FO01472K>
- Gupta, S.K., Whitney, R.M., Tuckey, S.L., (1973). Brine soluble protein of cheddar and Gouda cheese. *Journal of Dairy Science*, 57(5):540-544. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(74\)84930-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(74)84930-1)
- Hannon, J. K., Wilkinson, M. G., Delahunty, C. M., Wallace, C. M., Morrissey, P. A., Beresford, T. P., (2003). Use of autolytic starter systems to accelerate the ripening of cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 13(11):313-323. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00178-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00178-4)
- Hansen, A.P., Heinis, J.J., (1991). Decrease of vanillin flavor perception in the presence of casein and whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 74, 2936-2940. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78477-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78477-4)
- IDF, (2004a). Determination of the total solid content (cheese and processed cheese). ISO 5534-IDF 004, Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- IDF, (2004b). Milk determination of nitrogen content. ISO 8968-3-IDF 020-3, Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- Jana, A.H., Patel, H.G., Pinto, S., Prajapati, J.P., (2010). Quality of casein based Mozzarella cheese analogue as affected by stabilizer blends. *Journal of Food Science and Technology*, 47(2), 240–242. <https://dx.doi.org/10.1007%2Fs13197-010-0034-0>
- Kaminarides, S., Litos, I., Massouras, T., Georgala, A., (2015). The effect of cooking time on curd composition and textural properties of sheep Halloumi cheese. *Small Ruminant Research*, 125, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.01.025>
- Kaminarides, S., Moschopoulou, E., Karali, F., (2019). Influence of salting method on the chemical and texture characteristics of ovine Halloumi cheese. *Foods*, 8: 232. <https://doi.org/10.3390/foods8070232>
- Kampf, N., Nussinovitch, A., (2000). Hydrocolloid coating of cheeses. *Food Hydrocolloids*, 14, 531–537. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00033-3](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00033-3)
- Kavaz, A., Bakırcı, İ., Kaban, G., (2013). Changes of volatile compounds of herby cheese during the storage period. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19 (3), 535-540. DOI: 10.9775/kvfd.2012.7509
- Khorshidian, N., Yousefi, M., Khanniri, E., Mortazavian, A.M., (2018). Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45, 62–72. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.020>
- Kırmacı, H.A., Hayaloğlu, A.A., Özer, H.B., Atasoy, A.F., Levent, O., (2015). Effects of wild-type starter culture (artisanal strains) on volatile profile of Urfa cheese made from ewe milk. *International Journal of Food Properties*, 18(9), 1915-1929. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.942782>
- Kondyli, E., Pappa, E.C., Vlachou, A.M., (2012). Effect of package type on the composition and volatile compounds of Feta cheese. *Small Ruminant Research*, 108, 95– 101. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.06.014>
- Leclercq-Perlat, M.N., Corrieu, G., Spinnler, H.E., (2004). Comparison of volatile compounds produced in model cheese medium deacidified by *Debaryomyces hansenii* or *Kluyveromyces marxianus*. *Journal of Dairy Science*, 87, 1545–1550. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73306-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73306-8)
- Li, J., Gao, K., Bian, M., Ding, H., (2020). Recent advances in the total synthesis of cyclobutane-containing natural products. *Organic Chemistry Frontiers*, 7, 136. <https://doi.org/10.1039/c9qo01178a>
- Liaw, I.W., Eshpari, H., Tong, P.S., Drake, M.A., (2010). The impact of antioxidant addition on flavor of Cheddar and Mozzarella whey and Cheddar whey protein concentrate. *Journal of Food Science*, 75(6), 559-569. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01695.x>

- Lin, Y., Kelly, A.L., O'Mahony, J.A., Guinee, T.P., (2017). Addition of sodium caseinate to skim milk increases nonsedimentable casein and causes significant changes in rennet-induced gelation, heat stability, and ethanol stability. *Journal of Dairy Science*, 100(2), 908-918. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11704>
- Liu, H., Li, J., Geng, P., He, Y.T., Ma, T., (2014). Effects of soybean pectin gel on flavor compounds variation of Cheddar cheeses during ripening. *Advanced Materials Research*, 881-883,797-800. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.881-883.797>
- Luo, J., Jiang, C., Zhao, L., Zhang, M., Wang, F., Sun, E., Ren, F., (2018). Keto acid decarboxylase and keto acid dehydrogenase activity detected during the biosynthesis of flavor compound 3-methylbutanal by the nondairy adjunct culture *Lactococcus lactis ssp. lactis* F9. *Journal of Dairy Science*, 101, 9725–9735. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14760>
- Malone, M.E., Appelqvist, I.A.M., Norton, I.T., (2003). Oral behaviour of food hydrocolloids and emulsions. Part 2. Taste and aroma release. *Food Hydrocolloids*, 17(6), 775-784. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(03\)00098-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00098-5)
- Martino, C., Ianni, A., Grotta, L., Pomilio, F., Martino, G., (2019). Influence of zinc feeding on nutritional quality, oxidative stability and volatile profile of fresh and ripened ewes' milk cheese. *Foods*, 8(12), 656. <https://doi.org/10.3390/foods8120656>
- Merritt, C., Forss, D.A., Angelini, P., Bazinet, M.L., (1967). Volatile compounds produced by irradiation of butterfat. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 44, 144–146. <https://doi.org/10.1007/BF02558175>
- Messens, W., Dewettinck, K., Van Camp, J., Huyghebaert, A., (1998). High pressure brining of Gouda cheese and its effect on the cheese serum. *LWT - Food Science and Technology*, 31(6), 552-558. <https://doi.org/10.1006/food.1998.0414>
- Meynier, A., Lecoq, C., Genot, C., (2005). Emulsification enhances the retention of esters and aldehydes to a greater extent than changes in the droplet size distribution of the emulsion. *Food Chemistry*, 93, 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.018>
- Morgan, M.E., (1970). Microbial flavor defects in dairy products and methods for their simulation. I. malty flavor. *Journal of Dairy Science*, 53(3), 270-272. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(70\)86195-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(70)86195-1)
- Murtaza, M.S., Sameen, A., Huma, N., Hussain, F., (2017). Influence of hydrocolloid gums on textural, functional and sensory properties of low fat cheddar cheese from buffalo milk. *Pakistan Journal of Zoology*, 49(1):27-34. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/2017.49.1.27.34>
- Nalepa, B., Olszewska, M.A., Markiewicz, L.H., Aljewicz, M., (2019). Composition and significance of bacterial microbiota and volatile organic compounds of Swiss-Dutch-type cheese as determined by PCR-DGGE and HS-GC. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 69(3), 267–278. <https://doi.org/10.31883/pjfn/109899>
- Natrella, G., Gambacorta, G., Faccia, M., (2020). Volatile organic compounds throughout the manufacturing process of Mozzarella of Gioia del Colle PDO cheese. *Czech Journal of Food Sciences*, 38, 215-222. <https://doi.org/10.17221/129/2020-CJFS>
- Ni, Q., Gasperi, F., Aprea, E., Betta, E., Bergamaschi, M., Tagliapietra, F., Schiavon, S., Bittante, G., (2020). The volatile organic compound profile of ripened cheese is influenced by crude protein shortage and conjugated linoleic acid supplementation in the cow's diet. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1377-1390. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16495>
- Nogueira, L.F.B., Maniglia, B.C., Blacido, B.R.T., Ramos, A.P., (2019). Organic–inorganic collagen/iota-carragenan/hydroxyapatite hybrid membranes are bioactive materials for bone regeneration. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(39), 48004. <https://doi.org/10.1002/app.48004>
- Nordvi, B., Langsrud, O., Egelanddal, B., Slinde, E., Vogt, G., Gutierrez, M., Olsen, E., (2007). Characterization of volatile compounds in a fermented and dried fish product during cold storage. *Journal of Food Science*, 72(6), 373-380.

- <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00421.x>
- Özbek, Ç., (2021). Salamurada stabilizör kullanımının yumuşak beyaz peynirlerin kalite özellikleri üzerine etkileri / The effects of using stabilizers in cheese brine on some quality features of soft white cheeses. Çukurova University Food Engineering Department PhD Thesis, Adana, Turkey, p. 183.
- Özbek, Ç., Güzeler, N., (2022). Effects of stabilisers in brine on soft white cheese quality parameters. *International Dairy Journal*, 134, 105446. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105446>
- Öztürkoğlu Budak, Ş., Gürsoy, A., Aykas, D.P., Koçak, C., Dönmez, S., De Vries, R.P., Bron, P.A., (2016). Volatile compound profiling of Turkish Divle cave cheese during production and ripening. *Journal of Dairy Science*, 99, 5120-5131. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10828>
- Pangborn, R. M., Szczesniak, A. S. (1974). Effect of hydrocolloids and viscosity on flavor and odor intensities of aromatic flavor compounds. *Journal of Texture Studies*, 4(4), 467–482. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1974.tb00857.x>
- Papademas, P., Aspri, M., Mariou, M., Dowd, S.E., Kazou, M., Tsakalidou, E., (2019). Conventional and omics approaches shed light on halitzia cheese, along-forgotten white-brined cheese from Cyprus. *International Dairy Journal*, 98, 72-83. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.06.010>
- Pappa, E.C., Kondyli, E., Bosnea, L., Mataragas, M., Giannouli, A., Tsiraki, M., (2020). Semi-industrial production of Kashkaval of Pindos cheese using sheep or a mixture of sheep–goat milk and utilization of the whey for manufacturing Urda cheese. *Foods*, 9(6), 736. <https://doi.org/10.3390/foods9060736>
- Pawliszyn, J., Pawliszyn, B., Pawliszyn, M., (1997). Solid phase microextraction (SPME). *The Chemical Educator*, 2, 4. <https://doi.org/10.1007/s00897970137a>
- Poveda, J.M., Sanchez-Palomo, E., Perez-Coello, M.S., Cabezas, L., (2008). Volatile composition, olfactometry profile and sensory evaluation of semi-hard Spanish goat cheeses. *Dairy Science and Technology*, 88, 355–367. <https://doi.org/10.1051/dst:2007021>
- Sable, S., Letellier, F., Cottenceau, G., (1997). An analysis of the volatile flavor compounds in a soft raw goat milk cheese. *Biotechnology Letters*, 19(2), 143–145. <https://doi.org/10.1023/A:1018308329840>
- Shi, Y.G., Yang, Y., Piekoszewski, W., Zeng, J.H., Guan, H.N., Wang, B., Liu, L.L., Zhu, X.Q., Chen, F.L., Zhang, N., (2020). Influence of four different coagulants on the physicochemical properties, textural characteristics and flavour of Tofu. *International Journal of Food Science and Technology*, 55, 1218–1229. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14357>
- Simiqueli, A.A., Vidigal, M.C.T.R., Minim, V.P.R., Minim, L.A., (2019). Ovalbumin and guar gum foam and its surface properties as influenced by sucrose and sorbitol. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 226-232. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.140>
- Soong, Y.H.V., Liu, N., Yoon, S., Lawton, C., Xie, D., (2019). Cellular and metabolic engineering of oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* for bioconversion of hydrophobic substrates into high-value products. *Engineering in Life Sciences*, 19, 423–443. <https://dx.doi.org/10.1002/%2Felsc.201800147>
- Sumonsiri, N., Barringer, S.A., (2013). Application of SIFT-MS in monitoring volatile compounds in fruits and vegetables. *Current Analytical Chemistry*, 9(4), 631-641. <http://dx.doi.org/10.2174/15734110113099990028>
- Suvera, P., Sawale, P.D., Prajapati, P.S., (2017). Application of dietary fibers as value addition in dairy and food products. *Indian Journal of Dairy Science*, 70(5), 491-496.
- Tang, M., Zhu, Y., Li, D., Adhikari, B., Wang, L., (2019). Rheological, thermal and microstructural properties of casein/k-carrageenan mixed systems. *LWT - Food Science and Technology*, 113, 108296. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108296>

- Tavaria, F.K., Franco, I., Carballo, F.J., Malcata, F.X., (2003). Amino acid and soluble nitrogen evolution throughout ripening of Serra da Estrela cheese. *International Dairy Journal*, 13, 537–545. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00060-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00060-8)
- TSE, (2002). TS 1018. Raw Cow Milk Standard, Turkish Standardization Institute, Ankara.
- Viry, O., Boom, R., Avison, S., Pascu, M., Bodnar, I., (2018). A predictive model for flavor partitioning and protein-flavor interactions in fat-free dairy protein solutions. *Food Research International*, 109, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.013>
- Wagenaar, R.O., Dack, G.M., (1958). Factors influencing growth and toxin production in cheese inoculated with spores of *Clostridium botulinum* types A and B. III. Studies with surface-ripened cheese type III. *Journal of Dairy Science*, 41(9), 1196-1200. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(58\)91074-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(58)91074-9)
- Wurm, F., Nussbaumer, F., Pham, T., Bechtold, T., (2019). Structural elucidation of mixed carrageenan gels using rheometry. *Food Hydrocolloids*, 95, 533-539. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.005>
- Xu, Z., Chen, J., Shi, X., Wang, B., Zheng, X., Zheng, X., (2020). Characteristic physicochemical indexes and flavor compounds in Xinjiang Kazak cheese during ripening. *Food Bioscience*, 35, 1005862. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100586>
- Yang, H., Li, X., Liang, G., Xu, Z., Leng, X.J., (2019). Cork and guar gum supplementation enhanced the buoyancy of faeces, and protease supplementation alleviated the negative effects of dietary cork on growth and intestinal health of tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture Nutrition*, 00, 1–11. <https://doi.org/10.1111/anu.12964>
- Yousefi, M., Jafari, S.M., (2019). Recent advances in application of different hydrocolloids in dairy products to improve their techno-functional properties. *Trends in Food Science and Technology*, 88,468-483. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.015>
- Zomorodi, S., Azarpazhooh, E., Behmadi, H., (2020). Influence of some hydrocolloids on textural properties of UF cheese. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 10(2), 1-10. https://jfbt.srbiau.ac.ir/article_15729.html

KURUTULMUŞ ET İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ TAM BUĞDAY UNLU GALETALARDA IN VITRO DEMİR BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİNİN SAPTANMASI

Emine Erdağ Akca, Özlem Çağındı*, Ergun Köse

Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa Türkiye

Geliş / Received: 19.12.2022; Kabul / Accepted: 09.10.2023; Online baskı / Published online: 25.10.2023

Erdağ Akca, E., Çağındı, Ö., Köse, E. (2023). Kurutulmuş et ile zenginleştirilmiş tam buğday unlu galetalarda in vitro demir biyoerişilebilirliğinin saptanması. GIDA (2023) 48 (6) 1216-1229 doi: 10.15237/ gida.GD22130

Erdağ Akca, E., Çağındı, Ö., Köse, E. (2023). In vitro iron bioaccessibility of whole wheat flour breadsticks fortified with dried meat powder. GIDA (2023) 48 (6) 1216-1229 doi: 10.15237/ gida.GD22130

ÖZ

Demir eksikliği ve demir eksikliği anemisi global ölçekte birçok insanı etkileyen besinsel bir problemidir. Bu çalışma kapsamında tüketimi yaygın, kolay erişilebilir tam buğday unlu galetalar yüksek demir ve protein kaynağı olan kırmızı et tozu ile %30 oranında zenginleştirilmiştir. Kimyasal analiz sonuçları; zenginleştirilen grubun kontrole göre yüksek oranda kül (%4.26±0.49) ve protein (%35.94±1.65) içeriğine sahip olduğunu göstermiştir. Ürünlerin nem miktarları kontrol ve et tozu içeren örneklerde sırasıyla %2.43 ve %16.03 olarak bulunmuştur. INFOGEST protokolü uygulanarak in vitro sindirim öncesi ve sindirim sonrası demir miktarı tespit edilerek biyoerişilebilir demir miktarı %56.84±0.42 olarak hesaplanmış ve zenginleştirilen grup kontrole göre (%10.20±0.15) önemli ölçüde artış göstermiştir. Kırmızı etin kendine has rengi örneklerin *L**, *a**, *b** değerlerini etkilemiş ve toplam renk değişimi 11.46 olarak tespit edilmiştir. Kullanılan yüksek orandaki et tozunun örneklerin kırılabilirliğini azaltarak elastikiyeti arttırdığı, buna bağlı olarak kırılma için gerekli mesafenin azalmasına sebep olduğu görülmüştür. Panelistler tarafından örnekler görünüş, renk, lezzet, doku, genel beğeni açısından değerlendirildiği duyu panelde, kontrol grubu tüm özellikler bakımından et tozu içeren gruba göre üstün bulunmuştur. Bu çalışmada günlük beslenmenin temelini oluşturan tahıl ürünleri ile demir ve protein içeriği yüksek kırmızı et bir araya getirilerek kolay ulaşılabilir, tüketimi yaygın tahıl bazlı atıştırmalık formuna dönüştürülmüştür. Bu yönü ile çalışma kapsamında demir ile zenginleştirilmiş ve demir biyoerişilebilirliği artırılmış, protein içeriği yüksek tam buğday unlu galeta eldesi sağlanmıştır. Ancak tüketici tercihini etkileyen fiziksel ve duyu özelliklerde iyileştirmelerin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Tahıl atıştırmalıkları, demir, biyoerişilebilirlik, kırmızı et, in vitro sindirim

IN VITRO IRON BIOACCESSIBILITY OF WHOLE WHEAT FLOUR BREADSTICKS FORTIFIED WITH DRIED MEAT POWDER

ABSTRACT

Iron deficiency and iron deficiency anemia is a nutritional problem affecting many people globally. In this study, widely consumed and easily accessible whole wheat flour breadsticks were enriched by 30% with red meat powder which is a high iron and protein source. Chemical analysis results showed

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author

✉: ozlem.cagindi@cbu.edu.tr

☎: (+90) 236 201 2263

☎: (+90) 236 201 2020

Emine Erdağ Akca; ORCID no: 0000-0002-5260-9630

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

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

that the enriched group had higher ash ($4.26\pm 0.49\%$) and protein ($35.94\pm 1.65\%$) contents than the control. The moisture contents of the products were found to be 2.43% and 16.03% in the control and the samples containing meat powder, respectively. In vitro pre-digestion and post-digestion iron content was determined by applying INFOGEST protocol and bioaccessible iron content was calculated as $56.84\pm 0.42\%$ and the enriched group showed a significant increase compared to the control ($10.20\pm 0.15\%$). The unique color of red meat affected the L^* , a^* , b^* values of the samples and the total color change was calculated as 11.46. It was observed that the high amount of meat powder used decreased the fracturability of the samples and increased the elasticity, which resulted in a decrease in the distance required for breakage. In the sensory panel where the samples were evaluated by the panelists in terms of appearance, color, flavor, texture and general taste, the control group was found superior to the group containing meat powder in terms of all properties. In this study, cereal products, which form the basis of daily nutrition, and red meat with high iron and protein content were combined and transformed into an easily accessible and widely consumed cereal-based snack form. In this aspect, whole wheat flour breadsticks with high protein content, enriched with iron and increased iron bioaccessibility were obtained within the scope of the study. However, it is thought that improvements in physical and sensory properties that affect consumer preference would be beneficial.

Keywords: Cereal snacks, iron, bioaccessibility, red meat, in vitro digestion

GİRİŞ

Birçok ülke besinsel eksikliklerin sebep olduğu problemler ile karşı karşıyadır (Toor ve ark., 2021). Bu sebeple son yıllarda mikro besin öğelerinin fizyolojik rollerini anlamak, yetersizliklerinin sonuçlarını ve halk sağlığı üzerine etkilerini tanımlamak, bu bileşenlerin yetersizliklerini önlemekle birlikte kontrol stratejileri geliştirmek adına önemli araştırmalar yapılmıştır (Godswill ve ark., 2020; Savarino ve ark., 2021). Minerallerin biyolojik sistemlerdeki rolü ve birbirleri ile etkileşimleri halen keşfedilmeye devam etse de demirle ilgili çalışmaların temeli Antik Yunan topluluklarına kadar dayanmaktadır. Demirin canlı hücreler için önemi ilk olarak 1873'te Boussingault tarafından yayımlanan makalede ele alınmıştır. Bundan 20 yıl sonra Bunge tarafından beslenmesi yoğun olarak süte dayanan bebeklerin düşük demir alımına yatkın olduklarını gösteren bir çalışma ortaya konulmuştur. Bu gelişmelerle birlikte demirin besinsel değeri ve yetersiz alımının bazı sonuçları dikkat çekmeye başlamıştır (Harris, 2014; De la Guardia ve Garrigues, 2015). Son yıllarda gerçekleştirilen araştırmalarda ise, demir eksikliği ile bozulmuş beyin gelişimi arasındaki ilişki ortaya konulmuş, öğrenmeyi ve davranışı etkileyen fonksiyonel kusurların ilerleyen süreçte takviye alımı ile düzeltilemediği gözlemlenmiştir. Çalışmalardan elde edilen bulgular demir eksikliğinin erken dönemlerde önlenmesinin daha

acil bir hal aldığını vurgulamaktadır (WHO, 2004; Savarino ve ark., 2021). Demir eksikliği anemisi (DEA) alanında gerçekleştirilen ekonomik analizler, demir eksikliği ya da buna bağlı aneminin düşük maliyetlerle ve birkaç temel strateji ile (gıda zenginleştirme/ biyozenginleştirme, beslenme eğitimleri, bir gıda aracılığı olmadan takviye alımı gibi) önenebileceğini öne sürmüştür (Yalçın ve ark., 2009). Bu stratejilerin tek başına veya farklı kombinasyonlarla uygulanması olumlu etkiler yaratmıştır (Abbaspour ve ark., 2014). Diğer yöntemlere kıyasla gıdaların zenginleştirilmesi, daha güvenilir, esnek, sosyal olarak kabul edilebilir ve etkili bir yaklaşım olarak öne çıkmaktadır. Ekonomik olarak ele alındığında ise; zenginleştirmenin yapılacağı bölgenin coğrafi konumuna bakılmaksızın çok daha uygun maliyetli bir seçenektir. Gıda zenginleştirmenin ilk aşaması mikro besin için araç olacak bir gıda seçimidir. Mikro besinsel eksikliklerin giderilmesinde etkili olabilmesi için söz konusu gıdanın popülasyonun çoğunun diyetinin ayrılmaz bir parçası olması gerekmektedir (Huma ve ark., 2007).

Bir gıda maddesinin tüketimini takiben sindirim sonrası besinler mideye geçer ve ince bağırsakta birçok mineralin emilimi gerçekleşir. Vücudun farklı fonksiyonlar için ihtiyaç duyduğu mineraller emildikten sonra aktif veya pasif şekilde kan

dolaşımına taşınır (Thakur ve ark., 2020). Diğer pek çok mineralde olduğu gibi demir emilimi hayati önem taşısa da günlük diyet ile alınan miktarın önemli bir kısmının emilimi gerçekleşmez (Gharibzahedi ve Jafari, 2017). Koşullara ve türüne bağlı olmakla birlikte vücuda alınan demirin yaklaşık %5-35'lik kısmı emilebilmektedir. Tavsiye edilen günlük alım miktarı yaş grubu ve cinsiyet gibi faktörlere bağlı olarak yaklaşık 15-25 mg/gün arasında değişmektedir (Harris, 2014). Emilimde rol oynayan en önemli mekanizma demirin formudur (WHO, 2004). Besinlerle vücuda alınan demir hem ve hem olmayan olmak üzere 2 farklı formda bulunur. Hem demir; et, kümes hayvanları ve balık tüketiminden kaynaklanan hemogloblin ve miyoglobindir. Hem olmayan demir ise daha çok; tahıllardan, bakliyalardan, baklagillerden, sebzelerden ve meyvelerden sağlanır. Bu sebeple hem demir formu sadece hayvansal kökenli (kırmızı et, iç organlar, balık, deniz ürünleri gibi) gıdaların tüketilmesi ile alınır ve biyoyararlılığı (%15-35) hem olmayan demire kıyasla daha yüksektir (Alegria-Torán ve ark., 2015). Demirin bağırsaklardan emilimi yapısına bağlı olduğu kadar gıda matrisi ve etkileşime girdiği maddelere de bağlıdır. Emilimi artırıcı etmenlerin başında askorbik asit, et, deniz ürünleri ve fermente sebzeler gelmektedir. Et kendisi bir demir kaynağı olmasının yanı sıra demir içeriği yüksek diğer besinlerle tüketildiğinde, besinlerdeki demirin emilimini de artırma özelliğine sahiptir. Fitatlar, demir bağlayıcı fenolikler (çay, kahve, bazı baharatlar, kırmızı şarap vs.), kalsiyum ve soya demir emilimini engelleyici bileşenlerin başında gelmektedir (WHO, 2004; Harris, 2014).

Genel anlamda biyoerişilebilirlik, bir gıdanın sindirim sistemine alınmasından sonra, gıda içerisindeki bileşenin vücut tarafından emilim miktarı olarak tanımlanabilmektedir (Güven, 2016). Biyoerişilebilirlik açısından kesin sonuçlar eldesi *in vivo* deneyleri gerektirmektedir. İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan bu çalışmalar; karmaşık, pahalı ve de etik sorunlar içermesinden dolayı çok tercih edilmemektedir (Şensu, 2018). Bunun yerine insan sindirim sistemini laboratuvar ortamında simüle eden *in vitro* metotlar geliştirilmiştir. Statik ve dinamik olmak üzere ikiye ayrılan *in vitro* sistemlerde sıcaklık, çalkalama, pH,

enzim ve kimyasal kompozisyon gibi sindirimin fizyolojik koşulları taklit edilmektedir. Statik *in vitro* sindirim modelleri sindirim koşullarının gıdaya etkisini değerlendirmek ya da biyoerişilebilirliğe gıda matrisi, bileşimi, diyetetik faktörler, uygulanan işlemlerin etkilerini değerlendirmek için kullanılabilir. Ancak literatürde birçok araştırmacı tarafından farklı *in vitro* statik sindirim modellerinin kullanılması sonuçların kıyaslanabilirliğini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle 2014 yılında birçok farklı ülkeden araştırmacıların yer aldığı INFOGEST ekibi bir protokol oluşturarak sindirim modellemelerinde ayrılıkların giderilmesini sağlamıştır. Ekip 2019 yılında INFOGEST 2.0 protokolünü eski modelin üzerine inşa ederek insan sindirim sistemine daha yakın bir sistem elde etmeyi amaçlamıştır. Bu protokolün uygulanması ile çalışmalar arası kıyaslanabilirliğin artacağı düşünülmektedir (Mackie ve Rigby, 2015; Brodkorb ve ark., 2019).

Bu çalışmada demirin temel kaynaklarından olan kırmızı et kurutulmuş olarak ulaşımı kolay ve yaygın tüketilen tam buğday unundan üretilen atıştırmalıklara ilave edilmiştir. Elde edilen protein ve demirce zengin galetalar *in vitro* sindirim modellemesine tabi tutularak demir biyoerişilebilirliği saptanırken, zenginleştirilen atıştırmalıklarda fiziksel ve duyuşal özelliklere etkileri de incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEMLER

Materyal

Çalışma kapsamında galetaların eldesi için kullanılan hammaddeler (tam buğday unu, şeker, tuz, maya, katı yağ) ve sığır eti Manisa ilinde bulunan marketlerden temin edilmiştir. Araştırma esnasında kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta veya HPLC saflığında, Sigma Co. (St. Louis, ABD) ve Merck (Darmstadt, Almanya) firmalarından temin edilmiş; ekipmanlar ise Manisa Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarından sağlanmıştır.

Etin kurutulması

Et tozu için sığır etinin demir içeriği yüksek, yağ içeriği düşük olan bonfile kısmı tercih edilmiştir.

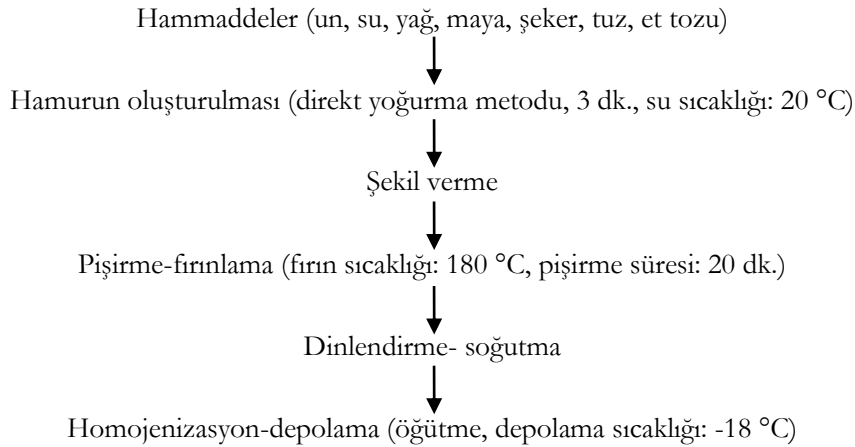
Yapılan farklı ön denemelerde et 40 °C’de, 24 saat sabit hava akımında %8 nem düzeyine düşürülerek öğütme için en uygun yapı elde edilmiştir. Etlar daha kolay ve homojen kuruması için dilimleme makinası ile kesilerek fanlı etüvde (Mommert, UFE400, Almanya) kurumaya bırakılmıştır. Bu şekilde kurutulan etler bıçaklı öğütücüde (Retsch, Grindomix GM 200, Almanya) öğütüldükten sonra vakum paketleme ile -18 °C’de üretim ve analizler gerçekleştirilinceye kadar depolanmıştır.

Atıştırılabilir galetaların üretimi

Galetaların üretiminde Özgören ve ark. (2018) tarafından kullanılan formülasyon ve işlemler temel alınmıştır. Tam buğday unu (100 g) ana bileşen olarak kabul edilmiş ve formülasyonun diğer bileşenleri un baz alınarak yüzdesel olarak hesaplanmıştır. Hamur karışımı oluşturmak için 100 g tam buğday ununa 4 g şeker (%4), 1.5 g tuz (%1.5), 2.5 g maya (%2.5), 20 g katı yağ (%20) ve 40 ml su (%40) ilave edilmiştir. Et tozu ilaveli örneklerin hazırlanmasında ön denemelerde çalışılan %20, %30, %40 oranlarından duyuşsal panel sonuçları ile birlikte tahıl içerikli ürünlerin teknolojik ve reolojik özelliklerine en yakın zenginleştirme oranı %30 olarak belirlenmiş, bu nedenle diğer bileşenlerin yüzde oranları

değiştirilmeden deneme grubu formülasyonu oluşturulmuştur. Ancak kontrol grubunda hamur formu için gerekli su miktarı %40 olarak sabit tutulurken, et tozu içeren hamur formülasyonunda en uygun su oranı %46 olarak tespit edilmiş ve su oranı %40’tan %46’ya çıkarılmıştır. Kontrol reçetesi “K”; %30 oranda et ile zenginleştirilen deney grubu “D” olarak kodlanmış ve çalışma kapsamında yer alan tablolarda bu şekilde ifade edilmiştir.

Hammaddeler belirtilen miktarlarda tartularak hamur oluşumu için karıştırma adımına geçilmiştir. Karıştırma işlemi mikser (KitchenAid, ArtisanTilt-Head Stand Mixer, ABD) yardımıyla 3 dk. boyunca 2. devirde gerçekleştirilmiştir. Pişirme öncesi hamur tartılmış ve 20±2.0 g olacak şekilde porsiyonlanarak 20 cm uzunluğunda galeta şekli verilmiştir. Şekil verildikten sonra konveksiyonlu fırına (İnoksan, FKE010, Türkiye) alınan ürünler 180 °C’de 20 dk. süresince pişirilmiştir. Örnekler soğuması için oda sıcaklığında 2 saat bekletilerek öğütücüde (Waring Blender, 7011, ABD) öğütülüp homojen hale getirilmiş ve vakum paketleme yapılarak analizler gerçekleştirilinceye kadar -18 °C’de depolanmıştır.



Şekil 1. Galetaların üretim akış şeması
Figure 1. Production flow chart of breadsticks

Kimyasal kompozisyonun belirlenmesi

Örneklerde nem tayini TS EN ISO 712 (Anonim, 2010) ve kül tayini TS EN ISO 2171 (Anonim, 2010a) baz alınarak gerçekleştirilmiştir. Toplam protein miktarı ise AOAC 960.52- Dumas metodu ile belirlenmiştir (AOAC, 1995). Çalışma kapsamında tam buğday unu kullanıldığı için protein çevirme faktörü 5.69 olarak alınmış (Fujihara ve ark., 2008), kül ve protein miktarları kuru madde üzerinden ifade edilmiştir. Yağ miktarının belirlenmesi için Soxhlet yöntemi (AOAC 963.15) baz alınmış ve 2 g olarak tartılan örnekler, 16 saat süreyle hegzanla ekstrakte edilmiştir. Hegzan dönerli buharlaştırıcıyla (Heidolph G1 Rotary Evaporatör, Schwabach, Almanya) uçurulduktan sonra tartılarak üründeki yağ miktarı hesaplanmıştır (AOAC, 1990).

Pişme kaybı ve verim

Örneklerde pişme kaybı ve ürün verim hesaplaması yapılmıştır (Barışık ve Tavman, 2018).

$$\text{Pişme Kaybı (\%)} = \frac{(\text{HA}-\text{ÜA})}{\text{HA}} \times 100$$

Denklem 1

$$\text{Ürün Verimi (\%)} = \frac{(\text{ÜA}/\text{Un Ağırlığı})}{\text{Un Ağırlığı}} \times 100$$

Denklem 2

(HA: Hamur ağırlığı ve ÜA: Pişmiş ürün ağırlığı)

Demir miktarı tayini

Galetaların in vitro sindirim öncesi ve sonrası demir miktarı belirlenmiştir. Sindirim öncesinde örnekler öğütülerek (Retsch, Grindomix GM 200, Almanya) homojen hale getirilmiştir. Sindirim

sonrası ise işlem görmüş örnekler -86 °C (New Brunswick Scientific, U410 -86, İngiltere) depolanmıştır. Tüm örneklere mikrodalga ön yakma işlemi uygulanmıştır. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Deneysel Fen Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (MCBÜ DEFAM) bulunan ICP-OES (Perkin Elmer, Optima 8000, ABD) cihazında yürütülmüştür. Analiz koşulları plazma gazı: argon, plazma akış hızı: 8 L/dk., yardımcı gaz akış hızı: 0.2 L/dk., nebulizatör gazı akış hızı: 0.65 L/dk., güç: 1300 watt, radyal mod olarak gerçekleştirilmiştir.

INFOGEST in vitro sindirim modellemesi

Brodkorb ve ark. (2019), tarafından tanımlanan sindirim modellemesinde yöntem; hazırlık, sindirim ve örneklerin analizler için depolanmasını içeren 3 aşamadan oluşmaktadır. Hazırlık aşamasında enzim (pepsin, tripsin) aktiviteleri hesaplanmış ve gerekli miktarlar tespit edilmiştir.

Simüle sindirim sistemi sıvılarının oluşturulması

Sindirim sıvıları Çizelge 1'de gösterildiği şekilde hazırlanarak her bir ortam sıvısı ultra saf su ile 400 mL hacme tamamlanmıştır. 0.3 M CaCl₂(H₂O)₂ sindirim işleminden hemen önce hazırlanarak çözeltilere ilave edilmiştir. Pepsin ve tripsin enzimleri sırası ile midede 2000 U/mL, bağırsakta 100 U/mL aktivite gösterecek şekilde sindirim sıvılarına ilgili sindirim ortamına eklenmiştir.

Çizelge 1. Simüle sindirim sıvılarının oluşturulması

Table 1. Preparation of stock solution and digestion fluids

Stok konsantrasyonu (M) Stock concentration (M)	SAS (SSF) (pH:7, mL)	SMS (SGF) (pH:3, mL)	SBS (SIF) (pH:7, mL)
KCl	0.5	15.1	6.8
KH ₂ PO ₄	0.5	3.7	0.9
NaHCO ₃	1	6.8	12.5
NaCl	2	-	11.8
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0.15	0.5	0.4
(NH ₄) ₂ CO ₃	0.5	0.06	0.5
HCl	6	0.09	1.3
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	0.3	0.025	0.005

SAS: Simüle ağız sıvısı, SSF: Simulated salivary fluid

SMS: Simüle mide sıvısı, SGF: Simulated gastric fluid

SBS: Simüle bağırsak sıvısı, SIF: Simulated intestinal fluid

Sindirim prosedürü

Homojenize edilmiş toz örnekten 5 g tartılarak 3.5 mL simüle ağız sıvısı ile karıştırılmıştır. Üzerine 25 µL 0.3 M CaCl₂(H₂O)₂ eklenmiştir. Örnek ve sıvı çözeltilerin oranı 1:1 olacak şekilde (5 g gıda:5 mL simüle ağız sıvısı). saf su ile tamamlanarak 37 °C 100 rpm 2 dk., çalkalamalı inkübatöre yerleştirilmiştir. Ağız sindirimini tamamlayan gıda çalkalayıcıdan alınarak 8 mL SMS (simüle mide sıvısı) ilave edilmiş ve mide fazına geçilmiştir. 5 µL 0.3 M CaCl₂(H₂O)₂ eklendikten sonra 3 M HCl ile pH 3'e (Hanna 2210-02, Almanya) ayarlanmış, bu esnada örneğe eklenen HCl sarfiyatları kaydedilerek daha sonra toplam hacim hesaplamasında kullanılmıştır. 1 mL pepsin çözeltisi ilave edilip gıda:SGF oranı 1:1 olacak şekilde ultra saf su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır. Örnekler mide sindirimini gerçekleşmesi için 37 °C 200 rpm'e ayarlı çalkamalı inkübatörde (IKA, KS 4000i, Almanya) 2 saat bırakılmıştır. Bağırsak fazına geçiş için, mide sindirimini tamamlayan 20 mL analiz örneklerine 11 mL SBS (simüle bağırsak sıvısı) ilave edilmiştir. Sarfiyat kaydedilmek suretiyle 1 M NaOH ile pH 7'ye ayarlanmıştır ve 40 µL 0.3 M CaCl₂(H₂O)₂, 2.5 mL safra çözeltisi, 5 mL tripsin enzimi ilave edildikten sonra toplam hacim 40 olacak şekilde (gıda: SGF;1:1) ultra saf su eklenmiştir. Örnekler 37 °C 150 rpm çalkamalı inkübatöre yerleştirilip 2 saat bekletilmiştir. Süre sonunda bağırsak sisteminin tamamlanması ile örnekler vakit kaybedilmeden 4 °C'de 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj (Hettich EBA 85, Zentrifugen, Almanya) edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatantlar 45 µm filtrelerden geçirilip temiz bir tüpte toplanarak 1 mL örnek sıvısına 9 µL 500 mM Pefabloc enzim inhibitörü eklenerek sindirim durdurulmuştur. Elde edilen süpernatantlar analizlere kadar -86 °C'de (New Brunswick Scientific, U410 -86, İngiltere) depolanmıştır.

Örneklerde sindirim öncesi ve sindirim sonrası demir miktarı saptanarak, %biyoerişilebilir (BE) demir miktarı aşağıda verilen formül yardımıyla hesaplanmıştır (Menezes ve ark., 2018):

$$\text{Biyoerişilebilirlik (\%)} = \left[\frac{\text{SS Fe}}{\text{SÖ Fe}} \right] \times 100 \quad \text{Denklem 3}$$

SS Fe: Sindirim sonrası Fe miktarı (mg)

SÖ Fe: Sindirim öncesi Fe miktarı (mg)

Ö: Başlangıç örnek ağırlığı (g)

Renk tayini

Konika Minolta (Chromometer CR-5) cihazı ile hem kontrol hem de zenginleştirilen galetaların renk ölçümü gerçekleştirilmiş ve elde edilen değerler, L^* , a^* , b^* renk birimi ile ifade edilmiştir. Açıklık-koyuluğun bir ölçüsü olan L^* değeri 0 ila 100 arasında bir değer alır, 0'a yaklaştıkça koyuluk artarken, 100'e yaklaştıkça renk açılır. $-a^*$ değeri yeşil ve $+a^*$ değeri kırmızıyı, $+b^*$ değeri sarı ve $-b^*$ değeri maviyi temsil etmektedir (Prim ve ark., 2011; İncedayı ve ark., 2016). Deneme grubunda et tozu kullanımı ile oluşan toplam renk değişimi (ΔE) aşağıdaki denklem yardımıyla, deneme grubu örnekleri d, kontrol örnekleri ise k ile ifade edilerek hesaplanmıştır. Örneklerin renk analizleri 20 °C'de 2 tekrür, 5 paralel olacak şekilde yapılmıştır (Albayrak ve ark., 2021).

$$\Delta E = [(Ld - Lk)^2 + (ad - ak)^2 + (bd - bk)^2]^{1/2} \quad \text{Denklem 4}$$

Tekstürel özelliklerin belirlenmesi

Örneklerin tekstürel özelliklerini belirlemek için Texture Analyzer (TA.XT.plus, Stable Micro Systems, İngiltere) cihazında 5 kg yük hücresi ve 3 noktalı kırma (bükme) başlığı (three-point bending rig, HDP/3PB) ile çalışılmıştır. Taban plakasının 2 ayarlanabilir desteği numuneyi desteklemek için uygun aralıklarla (40 mm) ayarlanmıştır. Üretim sonrası örnekler oda sıcaklığında gelmesi için 2 saat bekletilerek 5 cm uzunluğunda kesilmiş ve plakayı ortalayacak şekilde yerleştirilmiştir. Test parametreleri olarak test öncesi hız 1.00 mm/s, test hızı 3.00 mm/s ve test sonrası hız 10 mm/s baz alınmıştır. Doku ölçümleri 25 °C'de 2 tekrür, 7 paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiş; örnekleri kırmak için gerekli maksimum kuvvet (kırılma, gevreklik) ve kırılma noktasındaki mesafe kaydedilmiştir (Ktenioudaki ve ark., 2012; Petchoo ve ark., 2021).

Duyusal analiz

Kontrol ve deneme gruplarının duyusal değerlendirmesi Manisa Celal Bayar Üniversitesi öğretim görevlileri ve lisansüstü öğrencilerinden oluşan 20 kişilik yarı eğitilmiş bir panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Analiz öncesi panel ekibine ürünlerin görünüş, renk, lezzet, doku,

genel beğeni parametreleri ve bu parametreleri hangi puanlama skalasında değerlendirecekleri hakkında bilgilendirme yapılmıştır. Panelistlerin birbirlerinden etkilenmelerini önlemek amacıyla tadım, paravan ile bölünmüş bağımsız bölmelerde gerçekleştirilmiştir. Örnekler farklı kombinasyonlu 3 basamaklı sayılarla kodlanarak, örnekler arası geçişi nötrlemek için su ile panelistlere sunulmuştur. Örneklerin görünüş, renk, lezzet, doku, genel beğeni özellikleri bir hedonik skala ile 5 (1: hiç beğenmedim, 2: beğenmedim, 3: ne beğendim ne beğenmedim, 4: beğendim, 5: çok beğendim) üzerinden değerlendirilmiştir.

İstatistiksel analiz

Çalışma kapsamında zenginleştirilmiş atıştırma malıklarının kontrol grubu ile farklılıklarını

SPSS 24.0 (Statistical Package for the Social Sciences) istatistiksel paket programı kullanılarak belirlenmiştir. Süreç boyunca gerçekleştirilen analizler ayrı ayrı değerlendirilmiş ve tüm analizler 2 tekerrür olarak gerçekleştirilmiştir. Bağımsız örneklem t-Testi ile gruplar arası farklılıklar ($P<0.05$ düzeyinde) belirlenmiştir (SPSS, 2015). Çizelgelerde yer alan veriler ortalama değer \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Kimyasal kompozisyon

Analizlerin ilk aşamasında örneklerin kimyasal kompozisyonunu belirlemek amacı ile tam buğday unlu galetaların nem, kül, yağ ve protein analizleri gerçekleştirilmiş; sonuçlar Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. Galetaların kimyasal kompozisyonu

Table 2. Proximate composition of breadsticks

Örnek (Sample)	Kül (%) Ash (%)	Nem (%) Moisture (%)	Protein (%) Protein (%)	Yağ Fat (%)
K	3.79 \pm 0.26 ^a	2.43 \pm 0.26 ^a	10.47 \pm 0.01 ^a	10.62 \pm 0.21 ^a
D	4.62 \pm 0.06 ^b	16.03 \pm 3.90 ^b	35.95 \pm 1.65 ^b	10.99 \pm 0.50 ^a

a,b: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

a,b: Different letters in the same column are statistically significant ($P<0.05$).

K: Kontrol grubu, D: Et tozu içeren deneme grubu

K: Control group, D: Meat powder containing group

Gıdaların nem içeriği doku, renk ve besin değeri gibi özelliklerindeki değişimler üzerinde etkiye sahiptir. Bununla birlikte belirli bir nem düzeyinin altındaki seviyelerde mikrobiyel faaliyetin azalması da nem değerinin bilinmesini önemli kılmaktadır (Karaağaoğlu ve ark., 1993; Nwabor ve ark., 2022). Kurutulmuş et ürünleri için yapılan bir sınıflandırmada düşük nemli ürünler genellikle %25'ten fazla nem içermeyen ve su aktivitesi değeri 0.00 ila 0.60 olarak sınıflandırılırken; orta nemli ürünler ise %15-50 arası nem ve 0.60-0.85 su aktivitesi değerine sahip olanlar olarak belirtilmiştir (Mishra ve ark., 2017). Kurutulmuş et tozu ilave edilen ürünlerin nem değerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Üretim esnasında ürünlerin teknolojik işlenebilirliği için yapılan su ilavesi nem değerindeki artışta etkili olan bir parametre olarak düşünülmektedir. Üretim

aşamasında et tozu ilaveli ürünün yapısal bütünlüğünün oluşturulması için daha fazla su ilave edilmesi ve pişme kaybının kontrole benzer çıkması bu durumu açıklar niteliktedir. Örneklerde kurutulmuş et tozu katkısı protein değerlerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde artışa sebep olmuştur. Etin makro besinsel öğelerinden biri olan protein 100 g yaş ağırlıkta ortalama 20-24 g bulunmaktadır ve bu sebeple temel protein kaynaklarından biri olarak kabul edilmektedir (Wyness, 2016). Yüksek oranda protein kaynağı olan kırmızı etin kullanılması tahıl bazlı atıştırma malıklarında yaklaşık 3.5 katı kadar protein artışına sebep olmuştur.

Karaağaoğlu ve ark. (1993) tarafından özel amaçlı unlarla gerçekleştirilen çalışmada, galeta/grissini grubu ürünlerin nem değerlerinin %3.4-4.6,

protein değerlerinin ise %10.7-11.7 arasında değiştiği ifade edilmiştir.

Pişme kaybı ve verim

Pişirme esnasında ağırlık kaybına yol açan başlıca bileşen sudur. Pişme kaybı daha çok matris-su etkileşimi ile açıklanabilen bir parametredir (Marchetti ve ark., 2018). Kurutulmuş et tozu ile zenginleştirilen grup hamur oluşumu için bünyesinde daha çok suya ihtiyaç duymuştur. Pişme kaybı ve ürün verimlerinin yer aldığı Çizelge 3 verileri incelendiğinde; her iki grubun pişme kaybı değerlerinde istatistiksel olarak

anlamli farklılık görülmemektedir ($P>0.05$). Hamur formunun oluşması için et tozu içeren grupta, bileşenlerin karıştırılması aşamasında kontrole göre daha fazla su ilave edilmiştir. Diğer bir ifade ile kurutulmuş et, tam buğday ununa göre daha fazla suyu bünyesinde tutma kapasitesine sahiptir. Her iki grubun pişme kaybının benzer bulunmasıyla birlikte et tozu içeren deneme grubunun daha fazla oranda suyu absorblaması nedeniyle, bu gruptaki galetaların ürün verimi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Çizelge 3. Galetalara ait pişme kaybı ve verim değerleri

Table 3. Baking loss and yield of breadsticks

Örnek (Sample)	Pişme kaybı (%) Cooking loss (%)	Verim (%) Yield (%)
K	32.94±0.73 ^a	112.16±1.49 ^a
D	31.62±5.00 ^a	132.10±9.64 ^b

a,b: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

a,b: Different letters in the same column are statistically significant ($P<0.05$).

K: Kontrol grubu, D: Et tozu içeren deneme grubu

K: Control group, D: Meat powder containing group

Demir miktarı ve biyoerişilebilirliği

Örneklerdeki demir (Fe) biyoerişilebilirliğini saptamak için sindirim öncesi ve sindirim sonrası demir miktarları analiz edilmiştir; sonuçlar Çizelge 4'te ifade edilmiştir. Literatürde minerallerin biyoyararlılık ve/veya biyoerişilebilirliklerini ölçmek için kullanılan farklı yöntemler yer almaktadır. Özellikle tahıl ürünlerinde demir minerali ile zenginleştirilme yapılarak biyoerişilebilirlik incelemesinin yapıldığı birçok araştırma bulunmaktadır. Ancak bu çalışmalar birçok farklı teknik, prosedür ve çalışma koşulları

altında gerçekleştirilmiştir. Bu sebeple sonuçlar arasında kıyaslama yapmak birçok araştırmacı tarafından doğru bir yaklaşım olarak görülmemektedir (Van Campen ve Glahn, 1999; Diego Quintaes ve ark., 2017). Et, demir kaynağı olmasının yanı sıra tüketildiği besinlerin demirin emilimini de artırma özelliğine sahiptir (WHO, 2004; Harris, 2014). Gerçekleştirilen analiz sonucunda kırmızı et ilavesi ile örneklerde bulunan demirin biyoerişilebilirliği yaklaşık 20 kat artarak %241.01 olarak saptanmıştır.

Çizelge 4. Galetaların sindirim öncesi ve sonrası demir miktarları ve biyoerişilebilirlikleri

Table 4. Iron content of sample before and after in vitro digestion, and bioaccessibility amount of iron

Örnek (Sample)	Sindirim öncesi (mg/100 g kurumadde) Pre- digestion	Sindirim sonrası (mg/100 g) Post- digestion	%BE BA%
K	4.98±0.14 ^a	0.25±0.00 ^a	12.55±0.36 ^a
D	4.05±0.17 ^a	3.90±0.01 ^b	241.01±10.02 ^b

a,b: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

a,b: Different letters in the same column are statistically significant ($P<0.05$).

K: Kontrol grubu, D: Et tozu içeren deneme grubu

K: Control group, D: Meat powder containing group

Etlerde demir biyoerişilebilirliğine olgunlaştırma işleminin etkisinin araştırıldığı çalışmada farklı ırktan hayvanlarda sindirim öncesi 30-45 mg/kg yaş ağırlık demir miktarı saptanmıştır. Örneklerin demir biyoerişilebilirliğinin %60-70 değerleri arasında olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucu araştırmacılar, demir biyoerişilebilirliğinin hayvan ırkı, örnek alınan farklı kas bölümleri ve 14 gün olgunlaştırma işleminden etkilenmediğini belirtmişlerdir (Ramos ve ark., 2012). Bryszewska (2019), tarafından demir biyoerişilebilirliğine birlikte tüketildiği gıda kompozisyonlarının etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla demir biyoerişilebilirliği, sandviç (ekmek, et, tereyağ ve marul içeren) ve yalnızca ekmek içeren bir gıda matrisine demirce zenginleştirerek saptanmıştır. Veriler hem piyasadan alınan hazır demir preparatlarının hem de mikroenkapsüle demir formlarının biyoerişilebilirliğinin farklı gıda matrislerinden istatistiksel olarak önemli derece etkilenmediğini göstermektedir. Ancak bulgular hazır preparatların her iki gıda matrisinde de kapsüle formlara göre daha düşük erişilebilirliğe sahip olduğunu vurgulamaktadır. Bu durumun asıl

sebebi ise buğday unu ve tahıl ürünlerinde yüksek fitat içeriği nedeniyle demir emiliminin genellikle düşük düzeyde olmasıdır. Sığır, domuz ve tavuk etlerine uygulanan ısı işlemlerin Fe minerali biyoerişilebilirliğine etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise çiğ materyal ile kıyaslandığında pişmiş üründe (suda ve mikrodalgada pişirme) biyoerişilebilirliğin arttığı gözlenmiştir (Menezes ve ark., 2018).

Renk tayini

Renk, ürünlerin kabul edilebilirliğini ve tüketici tercihini etkileyen önemli parametrelerden birisidir. Rengin doğrudan ya da dolaylı olarak kabul edilebilirlik üzerinde etkili olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (Waliszewski ve ark., 2000). Et tozunun tam buğday ununa ikamesinin tahıl atıştırmalıklarının fiziksel özelliklerine etkisinin anlaşılması için ürünlere yapılan renk analizi verileri Çizelge 5'te ifade edilmiştir. Örneklerde toplam renk değişimini ifade eden ΔE değeri ise ortalamalar üzerinden hesaplanmıştır.

Çizelge 5. Galetalara ait L^* , a^* , b^* ve ΔE değerleri

Table 5. L^* , a^* , b^* and ΔE values of breadsticks

Örnek (Sample)	L^* değeri L^* value	a^* değeri a^* value	b^* değeri b^* value	ΔE
K	59.02±3.43 ^b	9.37±1.03 ^a	26.35±1.94 ^b	11.46
D	46.45±2.51 ^a	11.20±1.04 ^b	24.24±1.59 ^a	

a,b: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

a,b: Different letters in the same column are statistically significant ($P<0.05$).

K: Kontrol grubu, D: Et tozu içeren deneme grubu

K: Control group, D: Meat powder containing group

Sonuçlar incelendiğinde kurutulmuş et kullanımı ile örneklerin daha koyu ve kırmızı renge sahip olduğu anlaşılmaktadır. Etlerde rengi oluşturan temel materyal miyoglobindir ve buna bağlı olarak kurutma işlemi esnasındaki renk değişimi daha çok yapıdaki miyoglobinin formu ve miktarı ile ilişkilendirilmiştir. İşlem sırasında miyoglobinin 3 boyutlu yapısının deforme olmasıyla birlikte renkte değişim gözlenir (Aykın ve Erbaş, 2016; Tomasevic ve ark., 2021). Kontrole kıyasla daha koyu ve kırmızı, sarılığı daha az olan ürünlerin eldesi etin kendine has rengi ve kurutma işlemi ile

meydana gelen renk değişimleri ile açıklanabilmektedir.

Tekstür analizi

Atıştırmalıklarda tekstürün önemli göstergeleri olarak kırılma için gerekli maksimum güç (sertlik) ve kırılma mesafesi (kırılgenlik) değerleri incelenmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. Galetalara ait tekstür analizi sonuçları
Table 6. Texture analyses results of breadsticks

Örnek (Sample)	Sertlik (N) Hardness (N)	Kırılgnalık (mm) Fracturability (mm)
K	20.58±8.60 ^b	0.67±0.22 ^a
D	13.23±10.22 ^a	1.79±0.77 ^b

a,b: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

a,b: Different letters in the same column are statistically significant ($P<0.05$).

K: Kontrol grubu, D: Et tozu içeren deneme grubu

K: Control group, D: Meat powder containing group

Kurutulmuş et tozu ilave edilen örneklerin sertlik değerleri önemli ölçüde azalma gösterirken; kırılma için gerekli mesafe artmıştır ($P<0.05$). Bu değişimde etkili olan faktörlerin etin lifli yapısından ve ilave edilen fazla su miktarından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. İlave edilen yüksek oranda (%30 et tozu) ürünün tekstürüne etki ederek tahıl bazlı atıştırmalıkların kendine has gevrek yapısında kayıp yaşanmasına sebep olmuştur. Başka bir deyiş ile ürünleri daha elastik bir hale getirmiştir. Benzer şekilde Ktenioudaki ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada da, galetaların yüksek lif içeriğine sahip bira yan ürünü olan tahıllarla zenginleştirilmesi, ürünlerin sertlik özelliklerinde azalma ve kırılma mesafesinde artışa sebebiyet vermiştir. Literatürde yapılan çalışmalar

incelendiğinde farklı kaynaklardan elde edilen liflerin fırıncılık ürünlerinde kullanımının ürünlerin dokusal özelliklerine etki ettiği dikkat çekmektedir (Uysal ve ark., 2007).

Duyusal değerlendirme

Et tozu kullanımının gruplar arası farklılığa neden olup olmadığını saptamak amacıyla gerçekleştirilen duysal panelin sonuçları Çizelge 7'de yer almaktadır. Zenginleştirme yapılan grup panelistler tarafından 5 değerlendirme kriteri açısından kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda önemli ölçüde düşük puanlar almıştır ($P<0.05$).

Çizelge 7. Galetalara ait duysal değerlendirme sonuçları

Table 7. Sensory evaluation results of breadsticks

Örnek (Sample)	Görünüş Appearance	Renk Color	Lezzet Taste	Doku Texture	Genel Beğeni Overall acceptability
K	4.50±0.88 ^b	4.54±0.93 ^b	4.45±0.72 ^b	4.41±0.65 ^b	4.54±0.72 ^b
D	3.78±0.90 ^a	3.75±0.98 ^a	2.04±0.80 ^a	1.96±0.75 ^a	2.16±0.87 ^a

a,b: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

a,b: Different letters in the same column are statistically significant ($P<0.05$).

K: Kontrol grubu, D: Et tozu içeren deneme grubu

K: Control group, D: Meat powder containing group

Renk analizi verileri ve tüketici tercihini gösteren renk kriterlerinin puanlamaları baz alındığında et tozu içeren grubun daha koyu ve kırmızı renginin beğenilmediği görülmüştür. Tekstür analizi sonrası elde edilen veriler incelendiğinde ortaya çıkan farklılığın tüketici doku puanlamasına paralel olduğu görülmekte; gevrek yapının kaybolması ve kırılgnlığın azalmasının panelistlerin doku beğenisini önemli ölçüde azalttığı görülmektedir ($P<0.05$).

Agengo ve ark. (2020), tarafından gerçekleştirilen çalışmada ekmek içeriğini zenginleştirmek amacıyla salyangoz eti tozu kullanılmıştır. Çalışma kapsamında salyangoz eti tozu %5-10-15-20-25 oranlarında sorgum-buğday ununa ikame olarak kullanılmış ve örneklerin kimyasal bileşiminde (kül, protein, yağ), demir, çinko, kalsiyum, magnezyum gibi başlıca mineral içeriklerinde artış ($P<0.05$) olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte %5 ve %25 salyangoz eti içeren örnekler sindirim

işlemine uğratıldığında protein sindirilebilirliğinin %16 ve %22 oranlarına çıktığı ifade edilmektedir.

Balık tozunun buğday ununa ikame olarak (%5-10-15 oranlarında) kullanıldığı bir başka çalışmada tahıl bazlı atıştırmalıkların kimyasal ve fiziksel özellikleri incelenmiştir. Artan balık tozu ikamesi ile atıştırmalıkların nem, kül ve protein içeriklerinde istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bir artış gerçekleşmiştir. Gerçekleştirilen tekstür analizi ile balık tozlu atıştırmalıkların kontrole göre daha düşük sertlik değerleri gösterdiği açığa çıkartılmıştır. Renk verileri incelendiğinde artan oran kırmızılığın Maillard reaksiyonu sonucu, sarılık değerinin de buğday unu bileşiminden farklı kompozisyona sahip bir ürünün kullanılması sonucu arttığı Nawaz ve ark. (2021) tarafından açıklanmıştır.

SONUÇLAR

Bu çalışma kapsamında et ve tahıl ürünleri bir araya getirilerek, ulaşılabilir ve tüketimi kolay tam buğday unlu tahıl bazlı zenginleştirilmiş atıştırmalıklar elde edilmiştir. Amaçlanan protein ve demirce zengin ürün eldesinde demir biyoerişilebilirliği in vitro sindirim modellemesi gerçekleştirilerek saptanmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında gerçekleştirilen genel bileşim analizi, et tozu ile zenginleştirilen örneklerin kül ve protein içeriği bakımından kontrole göre önemli ölçüde artış olduğunu ortaya çıkarmıştır. Örneklerde sindirim analizi öncesi ve sonrası demir içerikleri incelendiğinde, %demir biyoerişilebilirliğinin et tozu içeren grupta önemli düzeyde arttığı görülmüştür. Et tozunun kendine has rengi ve pişirme sırasında meydana gelen reaksiyonlar sonucunda galetaların renginde değişiklik yaşanmıştır. Benzer ürün gruplarında tekstürün önemli göstergelerinden olan sertlik değerinin et tozu katkılı örneklerde azaldığı tespit edilmiştir. Yeni geliştirilen galeta formülasyonunun kabul edilebilirliği duyu analizi yardımı ile saptanmış ve panelist grup tarafından kontrol örneğine kıyasla düşük bulunmuştur. Sonuç olarak kurutulmuş et tozu içeren örnekler besleyici değer bakımından kontrole göre üstün bulunmakla birlikte, fiziksel ve duyu özellikleri açısından iyileştirmelere ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışma, demir

biyoerişilebilirliği artırılmış, protein içeriği yüksek tahıl bazlı atıştırmalık eldesini sağlamıştır. Ürünün teknolojik ve duyu özelliklerini geliştirerek kabul edilebilirliğini artıracak çalışmaların planlanması yararlı olacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Makale yazarları, bu araştırma çalışması ile ilgili başka kişiler ve/veya kurumlar arasında çıkar çatışması bulunmadığını beyan etmektedir.

YAZAR KATKILARI

Ergun KÖSE çalışmanın tasarımı, deneme deseninin oluşturulması, çalışmanın yürütülmesi ve makale redaksiyonu; Özlem ÇAĞINDI metodoloji, verilerin değerlendirilmesi, makale yazım ve redaksiyonu; Emine ERDAĞ AKCA çalışma üretimi ve analizlerinin gerçekleştirilmesi, veri analizi, raporlama ve yazım konularında katkı sağlamıştır. Tüm yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nce maddi olarak desteklenmiştir (Proje No: BAP-2019-169).

KAYNAKLAR

Abbaspour, N., Hurrell, R., Kelishadi, R. (2014). Review on iron and its importance for human health. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 19(2), 164.

Agengo, F.B., Onyango, A.N., Serrem, C.A., Okoth, J. (2020). Effect of Fortification with Snail Meat Powder on Physicochemical Properties and Shelf-life of Sorghum-wheat Buns. *Current Nutrition & Food Science*, 16(5), 749-756.

Albayrak, B.B., Tuncel, N.B., Kocabıyık, H. (2021). Bazı İstant Gıdaların Üretiminde İnfrared Kurutmanın Etkisi. *Journal of Advanced Research in Natural and Applied Sciences*, 7(1), 100-113.

Alegria-Torán, A., Barberá-Sáez, R., Cilla-Tatay, A. (2015). Bioavailability of minerals in foods. *Handbook of mineral elements in food* Ed.:

- Miguel de la Guardia, Salvador Garrigues, John Wiley Sons, UK, 41-67
- Anonim (2010). TS EN ISO 712, Tahıl ve Tahıl Ürünleri- Rutubet Muhtevası Tayini. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim (2010a) .TS EN ISO 2171, Tahıllar, Baklagiller ve Yan Ürünleri Yakılarak Kül Muhtevasının Tayini. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), (1990). Method 963.15: Official Methods of Analysis of AOAC International, Washington, DC.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), (1995). Method 960.52. Official Methods of Analysis of AOAC International., Washington, DC.
- Aykın, E., Erbaş, M. (2016). Quality properties and adsorption behavior of freeze-dried beef meat from the Biceps femoris and Semimembranosus muscles. *Meat science*, 121, 272-277.
- Barışık, D., Tavman, Ş. (2018). Glütensiz ekmek formülasyonlarında nohut unu kullanımının ekmeğin kalitesi üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, 16(1), 33-41.
- Brodkorb, A., Egger, L., Alming, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., ... Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature protocols*, 14(4), 991-1014.
- Bryszewska, M.A. (2019). Comparison study of iron bioaccessibility from dietary supplements and microencapsulated preparations. *Nutrients*, 11(2), 273.
- De la Guardia, M., Garrigues, S. (2015) Handbook of mineral elements in food. Ed.: Miguel de la Guardia and Salvador Garrigues, Wiley Blackwell, United Kingdom, 766 s.
- Diego Quintaes, K., Barberá, R., Cilla, A. (2017). Iron bioavailability in iron-fortified cereal foods: The contribution of in vitro studies. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(10), 2028-2041.
- Fujihara, S., Sasaki, H., Aoyagi, Y., Sugahara, T. (2008). Nitrogen-to-protein conversion factors for some cereal products in Japan. *Journal of food science*, 73(3), C204-C209.
- Gharibzahedi, S.M.T., Jafari, S.M. (2017). The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science & Technology*, 62, 119-132.
- Godswill, A.G., Somtochukwu, I.V., Ikechukwu, A.O., Kate, E.C. (2020). Health benefits of micronutrients (vitamins and minerals) and their associated deficiency diseases: A systematic review. *International Journal of Food Sciences*, 3(1), 1-32.
- Güven, Ö. (2016). Extrüzyon işleminin enginar yaprağı tozunda bulunan biyoaktif bileşenlere ve in vitro biyoerişilebilirliklerine etkisi. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 92 s.
- Harris, E.D. (2014). *Minerals in food: Nutrition, metabolism, bioactivity*. DESTech Publications, Inc., Lancaster, Pennsylvania, U.S.A.
- Huma, N., Salim-Ur-Rehman, Anjum, F.M., Murtaza, M.A., Sheikh, M.A. (2007). Food fortification strategy—preventing iron deficiency anemia: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 47(3), 259-265.
- İncedayi, B., Tamer, C.E., Sınır, G.Ö., Suna, S., Çopur, Ö.U. (2016). Impact of different drying parameters on color, β -carotene, antioxidant activity and minerals of apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Food Science and Technology*, 36, 171-178.
- Karaağaoğlu, N., Mercanlıgil, S.M., Başoğlu, S. (1993). Özel Amaçlı Bisküvi, Galeta, Grissini, Etimelik Gibi Tahıl Ürünlerinin Besin Değerleri: Protein, Yağ, Nem, Kül, Karbonhidrat ve Enerji Miktarları. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 22(2), 229-242.
- Ktenioudaki, A., Chaurin, V., Reis, S.F., Gallagher, E. (2012). Brewer's spent grain as a functional ingredient for breadsticks. *International journal of food science & technology*, 47(8), 1765-1771.

- Mackie, A., Rigby, N. (2015). InfoGest consensus method. *The Impact of Food Bioactives on Health*, 13-22.
- Marchetti, L., Califano, A.N., Andres, S.C. (2018). Partial replacement of wheat flour by pecan nut expeller meal on bakery products. Effect on muffins quality. *LWT*, 95, 85-91.
- Menezes, E.A., Oliveira, A.F., França, C.J., Souza, G.B., Nogueira, A.R.A. (2018). Bioaccessibility of Ca, Cu, Fe, Mg, Zn, and crude protein in beef, pork and chicken after thermal processing. *Food Chemistry*, 240, 75-83.
- Mishra, B., Mishra, J., Pati, P., Rath, P. (2017). Dehydrated Meat Products—A Review. *Int. J. Livest. Res.*, 7, 10-22.
- Nawaz, A., Khalifa, I., Walayat, N., Lorenzo, J. M., Irshad, S., Ahmed, S., ... Li, E. (2021). Whole fish powder snacks: Evaluation of structural, textural, pasting, and water distribution properties. *Sustainability*, 13(11), 6010.
- Nwabor, O. F., Onyeaka, H., Miri, T., Oibileke, K., Anumudu, C., Hart, A. (2022). A cold plasma technology for ensuring the microbiological safety and quality of foods. *Food Engineering Reviews*, 1-20.
- Özgören, E., Kaplan, H.B., Tüfekçi, S. (2018). Chia Tohumu Kullanılarak Zenginleştirilen Galetaların Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri. *Food and health*, 4(2), 140-146.
- Petchoo, J., Jitinandana, S., Tuntipopipat, S., Ngampeerapong, C., Tangsuphoom, N. (2021). Effect of partial substitution of wheat flour with resistant starch on physicochemical, sensorial and nutritional properties of breadsticks. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(4), 1750-1758.
- Prim, S.R., Folgueras, M.V., De Lima, M.A., Hotza, D. (2011). Synthesis and characterization of hematite pigment obtained from a steel waste industry. *Journal of hazardous materials*, 192(3), 1307-1313.
- Ramos, A., Cabrera, M.C., Saadoun, A. (2012). Bioaccessibility of Se, Cu, Zn, Mn and Fe, and heme iron content in unaged and aged meat of Hereford and Braford steers fed pasture. *Meat Science*, 91(2), 116-124.
- Savarino, G., Corsello, A., Corsello, G. (2021). Macronutrient balance and micronutrient amounts through growth and development. *Italian Journal of Pediatrics*, 47(1), 1-14.
- SPSS 24.0, (2015). Statistical Package for the Social Sciences. Chicago, IL, USA: IBM.
- Şensu, E. (2018). Bayburt'a Özgü Üç Farklı Berberis ve Hippophae Rhamnoides Bitkilerinin Biyoaktif Bileşiklerinin, Biyoaktivitelerinin Ve İn Vitro Biyoyararlılıklarının Belirlenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 143 s.
- Thakur, N., Raigond, P., Singh, Y., Mishra, T., Singh, B., Lal, M.K., Dutt, S. (2020). Recent updates on bioaccessibility of phytonutrients. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 366-380.
- Tomasevic, I., Djekic, I., Font-i-Furnols, M., Terjung, N., Lorenzo, J. M. (2021). Recent advances in meat color research. *Current Opinion in Food Science*, 41, 81-87.
- Toor, M.D., Adnan, M., Rehman, F.U., Tahir, R., Saeed, M. S., Khan, A.U., Pareek, V. (2021). Nutrients and their importance in agriculture crop production; A review. *Ind. J. Pure App. Biosci.*, 9(1), 1-6.
- Uysal, H., Bilgiçli, N., Elgün, A., İbanoğlu, Ş., Herken, E.N., Demir, M.K. (2007). Effect of dietary fibre and xylanase enzyme addition on the selected properties of wire-cut cookies. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1074-1078.
- Van Campen, D. R., Glahn, R. P. (1999). Micronutrient bioavailability techniques: accuracy, problems and limitations. *Field Crops Research*, 60(1-2), 93-113.
- Waliszewski, K.N., Garcia, R.H., Ramirez, M., Garcia, M.A. (2000). Polyphenol oxidase activity in banana chips during osmotic dehydration. *Drying Technology*, 18(6), 1327-1337.

WHO, (2004). World Health Organization. *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. World Health Organization.

Wyness, L. (2016). The role of red meat in the diet: nutrition and health benefits. *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(3), 227-232.

Yalçın, S.S., Pekcan, G., Tezel, B., Köksal, E., Özbas, E., Yurdakök, K., Tunç, B. (2009). 12-23 aylık çocuklarda demir kullanım araştırması raporu. *Ankara: Ana Çocuk Sağlığı Aile Planlaması Genel Müdürlüğü Matbaası*.



GIDA MİKROBİYOLOJİSİNDE METAGENOMİK YAKLAŞIMLAR

Yeşim Aktepe* , İbrahim Çakır

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu

Geliş /Received: 29.08.2023; Kabul /Accepted: 03.11.2023.2023, Online baskı /Published online: 11.11.2023

Aktepe, Y., Çakır, İ. (2023). Gıda mikrobiyolojisinde metagenomik yaklaşımlar. GIDA (2023) 48 (6) 1230-1243 doi: 10.15237/ gida.GD23101

Aktepe, Y., Çakır, İ. (2023). Metagenomic approaches in food microbiology. GIDA (2023) 48 (6) 1230-1243 doi: 10.15237/ gida.GD23101

ÖZ

Gıda mikrobiyolojisinde kullanılan klasik kültürel yöntemler ile gıdaların mikrobiyotalarının tam olarak tanımlanamaması sorunu üzerine kültüre bağlı olmayan moleküler yöntemler geliştirilmiştir. Kültüre bağlı olmayan yöntemlerden olan metagenomik çalışmalarda kültürlenme adımı olmaksızın direkt DNA izolasyonu ile mikroorganizmaların tanımlaması yapılabilmektedir. Bu sayede mikrobiyota içerisinde yer alan fakat kültüre edilemediği için tanımlanamayan mikroorganizmalarında tanımlanması mümkün kılınmaktadır. Gıda mikrobiyolojisi alanında incelenen kültür ortamlarının mikrobiyotasının sahip olduğu mikrobiyel çeşitlilik, amplicon dizileme (hedefli dizileme) ve shotgun metagenomik yaklaşımları kullanılarak belirlenmekte olup her iki yöntemin de avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Metagenomik son yıllarda gıda endüstrisinde özellikle gıda mikrobiyolojisi ve gıda güvenliği alanlarında yardımcı disiplin olarak sıklıkla tercih edilmektedir. Özellikle fermente gıdaların üretimindeki karmaşık mikrobiyel aktivitenin tespiti üzerine yapılan çalışmalar ve gıdaların bozulmasında yer alan mikrobiyel toplulukların incelenmesini hedefleyen çalışmaların sayısı giderek artmaktadır.

Anahtar kelimeler: Metagenomik, kültüre bağlı olmayan yöntemler, fermente gıda

METAGENOMIC APPROACHES IN FOOD MICROBIOLOGY

ABSTRACT

Molecular methods that do not depend on culture have been developed to address the problem of not fully identifying the microbiota of foods with the classical cultural methods used in food microbiology. In metagenomic studies, which are culture-independent methods, microorganisms can be identified by direct DNA isolation without the culturing step. In this way, it is possible to identify microorganisms that are present in the microbiota but cannot be identified because they cannot be cultured. The microbial diversity of the microbiota of culture media studied in the field of food microbiology is determined using amplicon sequencing (targeted sequencing) and shotgun metagenomic approaches, and both methods have advantages and disadvantages. In recent years, metagenomics has been frequently preferred as an auxiliary discipline in the food industry, especially in the fields of food microbiology and food safety. In particular, the number of studies aimed at detecting complex microbial activity in the production of fermented foods and the examination of microbial communities involved in food spoilage is increasing.

Keywords: Metagenomics, culture-independent method, fermented foods

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author:

✉: yesimaktepe@gmail.com

☎: (+90) 536 438 3752

Yeşim Aktepe; ORCID: 0009-0001-8282-4446

İbrahim Çakır; ORCID: 0000-0001-7775-1871

GİRİŞ

Moleküler tekniklerin gelişmesi ve yaygın olarak kullanılması ile fermente gıdaların mikrobiyotasını oluşturan mikroorganizmalara ilişkin çalışmalar 21. yüzyılın başından itibaren ciddi bir artış göstermiştir. Klasik moleküler yöntemler, mikroorganizmaların tanımlanması ve karakterizasyonu ile ilgili önemli çıktılar sağlamakla birlikte fermentasyon süreçlerinde birçok mikroorganizma kültür ortamında gelişemediği için yalnızca kültüre bağlı yöntemler kullanılarak bir mikrobiyel ekosistemin dinamiklerinin tam olarak anlaşılacağı bildirilmiştir. Bu durum kültüre bağlı olmayan yöntemler üzerinde daha çok araştırma yapılmasına yol açmıştır (Gündoğdu, 2018; Goolam Mahomed vd., 2021; Uçarlı, 2022; Bal vd., 2022; Soman vd., 2022). Gıda mikrobiyolojisinde klasik kültürel yöntemlerin ilk basamağı saf kültür eldesidir. Ancak, laboratuvarlarda kullanılan standart kültüre alma tekniklerinin, belirli bir gıda numunesinin mikroorganizma çeşitliliğinin çok sınırlı bir kısmı hakkında bilgi sahibi olmamızı sağladığı tahmin edilmektedir. Son yıllarda klasik yöntemler ile kültürü yapılamayan mikroorganizmaların gelişmesi noktasında önemli ilerlemeler kaydedilmesine rağmen, kültürden bağımsız teknikler, bir mikrobiyel ekosistemde yer alan birçok türün içerdiği genetik bilgiye erişmek için daha elverişli bir yöntem olarak görülmektedir (Wang vd., 2021; Billington vd., 2022). Kültüre bağlı olmayan yöntemler, fermente bir gıda ürününde yer alan mikrobiyotanın incelenme şeklini değiştirmeye yardımcı olmuş ve mikrobiyel popülasyonların “konsorsiyumlar” olarak kabul edilmesini sağlamıştır. Yüksek verimli dizileme (High Throughput Sequencing; HTS), polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis; PCR-DGGE) gibi teknolojilerinin ortaya çıkması ile son on yılda mikrobiyel ekoloji konulu çalışmalar başta olmak üzere birçok alanda metagenomik uygulanmasını artırmış ve daha fazla araştırma yapılmasını teşvik etmiştir (Ferrocino ve Cocolin, 2017; Hora, 2018; Billington vd., 2022).

Metagenomik analizler, ampikon dizileme ve shoutgun metagenomik olarak iki farklı yaklaşımla

gerçekleştirilmektedir. Çalışmanın ilk adımı olarak çalışmadan beklenen sonuçlar ve çalışmanın bütçesi göz önünde bulundurularak her iki tekniğin avantaj ve dezavantajlarını hesaba katarak uygun yöntemi belirlemektir.

METAGENOMİK ANALİZ

Metagenomik analiz, mikroorganizma kültürü yapılmaksızın numuneden direkt DNA izolasyonu ile tür tayininin yapılmasına (Hardwick vd., 2018; Koutsoumanis, 2019; Görkem vd., 2021), genetik çeşitliliğinin, popülasyon yapısının, bu mikroorganizmaların ekolojik rollerinin anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca, mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri ile fonksiyonel özellikleri hakkında da faydalı bilgiler sağladığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Bal vd., 2022; Cerit, 2022; Chen vd., 2022; Uçarlı, 2022).

Metagenomik, iki farklı yaklaşımla mikrobiyotayı ele almaktadır. İlk yaklaşım incelenen mikrobiyotanın üyeleri arasında var olan karmaşık ilişkinin ortaya konmasını hedeflemektedir. İkinci yaklaşımda amaç çalışmalardan elde edilen binlerce farklı genleri içeren bir veri bankasının oluşturulmasıdır (Uçarlı, 2022).

Mikrobiyel çeşitlilik, ampikon dizileme (hedefli dizileme) ve shotgun metagenomik yaklaşımları kullanılarak belirlenmektedir. Her iki yöntemin de birbirine kıyasla avantajları ve dezavantajları mevcuttur. Metagenomik çalışmaya başlamadan önce hangi tekniğin kullanılacağına tanımlanmak istenilen mikrobiyel topluluğun özelliklerine, çalışmaya ayrılan bütçeye, uygulama aşamasında gerekli teknik uzmanlık gereksinimlerine karar verilerek seçim yapılmalıdır. Örneğin; bir fermente bir gıdanın mikrobiyotasındaki laktik asit bakterilerini (LAB) tanımlamak için hedefli ampikon metagenomik yaklaşımı kullanılması daha uygunken; shotgun metagenomik yaklaşımı ile numunenin içerdiği tüm mikrobiyotanın tanımlanması mümkündür (Hora, 2018; EFSA, 2019; Cerit, 2022).

Ampikon dizileme

Ampikon dizilemede, prokaryotlar için 16S rRNA geni (EFSA, 2019) ve genler arası

kopyalanmış aralayıcılar (Intergenic Transcribed Spacers; ITS) veya ökaryotlar için büyük ribozomal alt birim (Large Ribosomal Subunit; LSU) geni gibi taksonomik bilgilendirici primerler kullanılarak DNA'nın belirli bölgeleri çoğaltılmaktadır (Hora, 2018; Calle, 2019; Amrouche vd., 2020; Johnny vd., 2021). Prokaryot mikroorganizmaların tanımlanmasında 16S rRNA bölgesi en çok tercih edilen gen bölgesi olmasına karşın, 23S rRNA gen bölgesi kullanılarak da ayırım yapılabilmektedir. Ökaryot mikroorganizmaların analizinde ise, 18S rRNA geni; küf popülasyonları ile gerçekleştirilen çalışmalarda ise ITS tercih edilmektedir. Fakat ITS dizileri bazı durumlarda tam olarak türler arasında ayırım sağlayamadığı için beta tubulin, calmodulin gibi gen bölgeleri başarılı bir filogenetik ayırım için son yıllarda tercih edilmektedir (Savran ve Erden, 2019; Jagadeesan vd., 2019; Cerit, 2022, Ezeonuegbu vd., 2022). Ribozomal genler son yıllarda filogenetik markör olarak kullanılmaktadır, bu markörler hemen hemen tüm mikroorganizmalarda taksonomik ayırım sağladığı için birçok veri tabanında temsil edilmektedirler (Savran ve Erden, 2019; Uçarlı, 2022). Dezavantajları ise; tür düzeyinde düşük çözünürlük, ribozomal genler toplam genomun %0.1'inden daha azını oluşturduğu için örnekte çok az miktarda bulunması ve markörün amplifikasyonu engellemesi sayılabilir (Savran ve Erden, 2019; Jagadeesan vd., 2019; Uçarlı, 2022).

Aydın vd. (2022), fonksiyonel ve biyoçeşitliliğe sahip kefir üretimi için kefire antosiyanin eklenmesi üzerine yürüttükleri çalışmada siyah havuçtan elde edilen antosiyanin ekstraktları fermantasyon işlemi sırasında kefir karışımına farklı konsantrasyonlarda (%1 ve %5) eklemiştirler. Daha sonra bu kefir örnekleri metagenomik analiz ile mikrobiyolojik özellikleri açısından analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda, antosiyanin ilavesinin kefir mikrobiyomunun topluluk yapısı üzerinde önemli etkileri olduğunu ve bunun da içeceğin sağlık üzerindeki olumlu etkilerini doğrudan artırdığını göstermiştir. Antosiyanin içeren kefir örneklerinin filogenetik çeşitliliğinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Antosiyanin içermeyen kefirde ağırlıklı olarak *Lactococcus lactis* (%34) ve *Lactobacillus kefir* (%34)

gibi probiyotik bakteriler yer alırken; %1 antosiyanin içeren kefir örneklerinde probiyotik türlerin daha dengeli bir dağılımı tespit edilmiştir.

Gıdaların bozulması sonucu oluşan küf türlerinin belirlenmesi amacıyla yürütülen bir çalışmada çavdar ekmekleri plastik ambalajıyla depolama süresi dolacak şekilde muhafaza edilmiş, depolama süresi sonunda çavdar ekmeğinde gelişen küfler M13 primeri ile RAPD-PCR tekniği ile tanımlanmıştır. Çalışma sonucunda çavdar ekmeklerinde gelişen küf türleri; *Aspergillus chevalieri*, *A. flavus/oryzae*, *A. niger*, *A. tubingensis*, *Penicillium citrinum* ve *P. corylophilum* olarak tespit edilmiştir (Emenli ve Gündüz, 2019).

Shotgun metagenomik

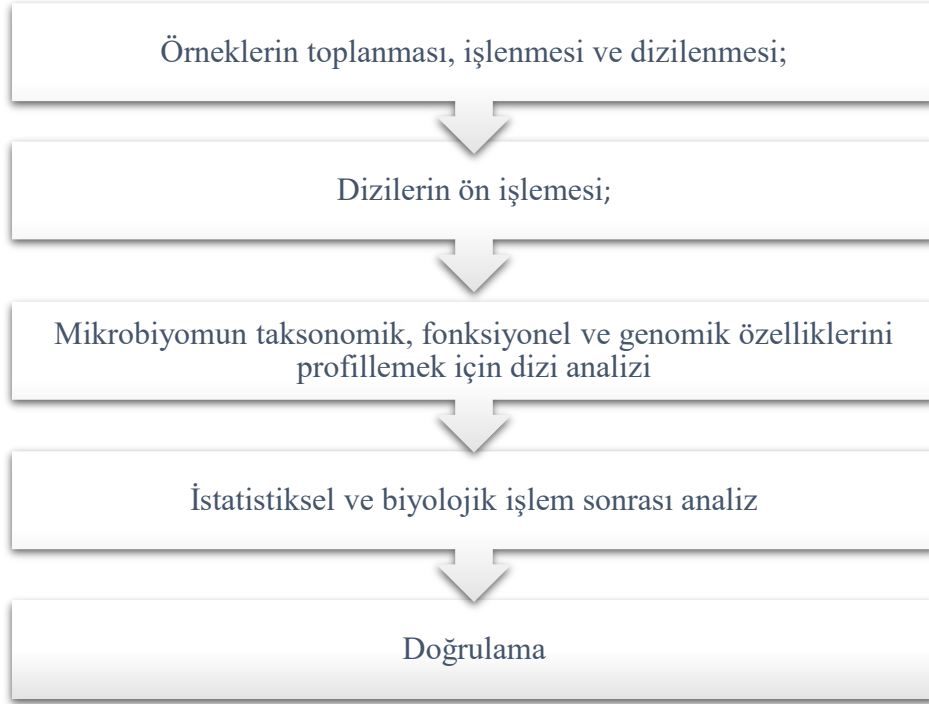
Shotgun metagenomik, bir örneğin içerdiği genomların tamamının ("meta-") hedefsiz olarak ("shotgun") dizilenmesini ifade eden bir kavramdır; Şekil 1'de gösterilmiş olduğu gibi ilk çalışma tasarımı sonrasında beş adımdan oluşmaktadır (Thomas vd., 2012; Hora, 2018; EFSA, 2019; NIST, 2020).

Shotgun dizileme tekniğinin birçok avantajı bulunmaktadır. İncelenen örneğin sahip olduğu mikrobiyotanın analiz edilmesini ve bu mikrobiyotanın fonksiyonel açıdan kullanılabilirliği belirlenebilir. Örneğin sahip olduğu metabolik üretme kapasitesi, örneğin mikrobiyotası tespit edildikten sonra daha net bir şekilde ortaya konacaktır. Shotgun dizileme sayesinde birçok mikroorganizmanın tür düzeyinde daha ayrıntılı sınıflandırılması yapılmakla beraber daha önce tanımlanmamış genleri de tespit edilebilmektedir. Çalışma konusu olan örneğe shotgun dizileme uygulandığında örneğin sahip olduğu mikrobiyotanın genomlarının net bir şekilde tespit edilmesi beklenmektedir (Calle, 2019; EFSA, 2019).

Shotgun dizileme tekniğinin aynı zamanda bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bu yöntemde her adımı gerçekleştirmek için çok sayıda deneysel ve hesaplamalı işlem gerektiğinden, araştırmacıların bu yöntemleri tercih etme konusunda çekimser kalmasına neden olmaktadır (Choudhari vd., 2022). Shotgun metagenomik analizler, basit

görünmesine rağmen, deneysel işlemlerin deneyim gerektirmesi, biyoinformatik analizler ve bunların sonuçlarının yorumlarındaki karmaşık

işlem süreçleri nedeniyle, bazı sınırlamaları barındırmaktadır (Brown vd., 2019; Ekici, 2019; Ye vd., 2019; Uçarlı, 2022).

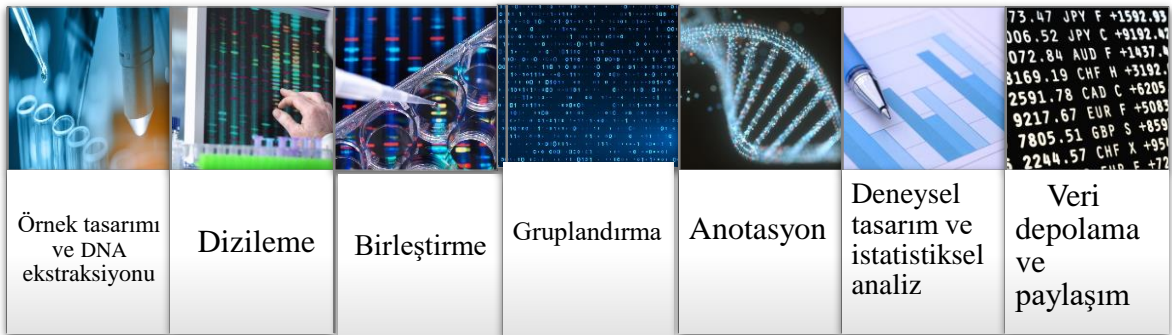


Şekil 1. Shoutgun metagenomik işlem basamakları

METAGENOMİK ANALİZ AŞAMALARI

Kültüre bağlı olmayan bir çalışma yürütüldüğünde öncelikle uygulanması gereken en önemli adım örnekten nükleik asit izolasyonudur (Thomas vd., 2012; Hora, 2018; Kaygusuz, 2019). İzole edilen DNA'nın örnekte bulunan tüm hücreleri temsil etmesi ayrıca sonraki adımlar olan dizileme ve kütüphane oluşturma için yüksek kaliteye sahip ve

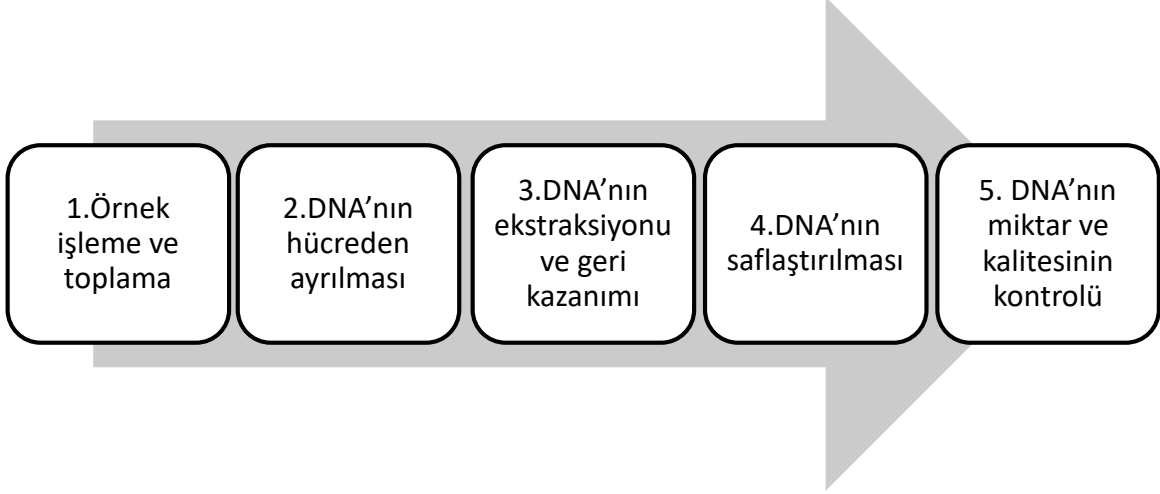
yeterli miktarda olması gerekmektedir (Cerit, 2022). DNA izolasyonu yapılırken DNA'nın hücre bileşenlerinden ve çevresel bulaşlar ile kontamine olmaması gerekmektedir (Tekin ve Kocaman, 2020; Billington vd., 2022). Şekil 2'de metagenomik analizin işlem basamakları gösterilmiştir.



Şekil 2. Metagenomik analiz işlem basamakları

DNA ekstraksiyonu, çalışılan mikroorganizma çeşidine ve türüne göre değişmekle birlikte esas olarak beş temel aşamada gerçekleştirilmektedir

(Şekil 3) (Erdoğan, 2019; Tekin ve Kocaman, 2020).



Şekil 3. DNA ekstraksiyonu işlem basamakları

Yeni nesil dizileme (NGS) teknolojilerinin uygulanmaya başlamasıyla birlikte, mikroorganizmaların konakçı hücre ile etkileşimleri sonucu oluşan sağlıklı veya hastalıklı bir durumun ortaya çıkış mekanizması ayrıntılı olarak tespit edilebilmektedir (Albanese ve Donati, 2017).

NGS teknolojileri, mikrobiyotanın sahip olduğu üyelerin belirlenmesi, metabolik aktiviteleri hakkında ayrıntılı bilgi edinilmesi için etkili ve önemli bir aşama olarak karşımıza çıkmaktadır. NGS teknolojilerindeki ilerlemeler, doğruluk oranı yüksek veri sağlamanın yanı sıra hızlı ve uygun maliyetli bir yaklaşım da sağlamaktadır (Thomas vd., 2012). Dizileme teknolojisinde zaman ve maliyet başlıca zorluklar olarak görülmektedir. NGS'nin klasik dizilime göre avantajları ise uygun maliyetli oluşu, klonlama adımı olmadığı için daha az zaman gerektirmesi ve minimum teknik uzmanlık gerektirmesi olarak sayılabilir. Bununla birlikte, NGS teknolojisi sonucunda elde edilen milyonlarca dizinin analizi aşamasındaki fazla iş yükü en büyük dezavantaj olarak kabul edilmektedir. NGS platformları mikrobiyom araştırmalarının başarılı şekilde gerçekleştirilmesine büyük katkı sağlamaktadır (Arumugam vd, 2019; Karabudak ve Akkuş,

2022). Yeni nesil dizileme teknikleri arasında çalışma başında yapılacak olan seçim çalışmanın amacı ve çalışmadan beklenen çıktılar doğrultusunda yapılmalıdır.

Birleştirme, okunan kısa DNA dizilerinin anlamlı bir şekilde bir araya getirilerek özgün DNA'nın oluşturulduğu adımdır. Bu adımda yüksek polimorfizm olduğunda dizilerin birleştirilmesinde sorunlar yaşanabilmektedir (Thomas vd., 2012). Gruplama ("Binning") adımı birleştirme adımı sonrası elde edilen DNA dizilerini, sahip oldukları genomlara göre gruptandırıldığı aşamadır. Anotasyon yapılan birleştirme sonrasında elde edilen DNA'nın sahip olduğu özelliklerin ortaya konduğu adımdır (Thomas vd., 2012).

Metagenomik çalışmalar için hem verilerin hem de hesaplama sonuçlarının doğru bir şekilde paylaşılabilmesi için var olan meta veriler ve hizmetler (ör. IMG/ M, KAMERA ve MG-RAST) geliştirilmelidir (Khan vd., 2022).

METAGENOMİK ANALİZLERİN GIDA ALANINDA KULLANIMI

Metagenomik yöntemlerin ilaç, biyoyakıt, biyoteknoloji, tarım, ekoloji ve tıp gibi birçok

farklı alanlarla birlikte gıda mikrobiyolojisi, gıda biyoteknolojisi ve gıda güvenliği alanlarında da kullanım potansiyeli bulunmaktadır (Kergourly vd.,2015; Bal vd., 2022).

Metagenomik yaklaşımların gıda güvenliği alanında gıdalarda bozulmaya sebep olan mikrobiyotanın tespiti amacıyla kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Gıda güvenliğinde metagenomik yöntemler ile gıda kaynaklı salgın hastalıklarda hangi suşların yer aldığı ve taşıdıkları direnç faktörleri de tespit edilebilmektedir (Jagadeesan vd., 2019).

Gıda işleme ve depolama süreçlerinin gıdaların mikrobiyotası üzerinde etkilerinin aydınlatılması konusunda yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Depolama süresince mikrobiyotada yer alan baskın tür ve alt türlerin tespit edilmesi, depolamadaki değişkenlerden nasıl etkilendiklerinin ortaya konması metagenomik uygulamalarıyla mümkündür. Zhuang vd. (2022) yaptıkları çalışmada Asyada tüketimi oldukça popüler olan bir balık türünün (*Ctenopharyngodon idella*) soğuk depolanması sırasında, depolamanın 4., 8. ve 12. günlerinde mikrobiyotasının değişimini metagenomik yaklaşımla ortaya koymuşlardır.

Metagenomik tabanlı analizlerin, gıda üretim ve işleme ortamlarının mikrobiyolojik yükünün belirlenmesinde de kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Bu tür yaklaşımları benimseyerek, mikrobiyel kontaminasyon kaynaklarını daha doğru bir şekilde belirlemek, bu tür kirleticiler için kritik kontrol noktalarını belirlemek, gelecekte gıda kalitesi ve güvenliği sağlamada önemli katkılar sağlayacağı ifade edilmektedir (Aw vd., 2016; Doyle vd., 2017).

Cerit, (2022) yürüttüğü çalışmada süt ürünleri üretim tesisinden hem alet ekipmandan hem de üretilen ürünlerden numune alarak Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon - Uçuş Zamanı Kütle Spektrometrisi (MALDI-TOF MS) analizine dayalı kültüromik ve shotgun metagenomik dizileme yöntemleriyle mikrobiyotanın belirlenmesini gerçekleştirmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, metagenomik analizlerle

elde edilen biyoçeşitliliğin, kültüromik yöntemle edilene kıyasla daha zengin olduğu bildirilmiştir. Metagenomik yöntemler ile örneklerde *Lactococcus* cinsine ait 11 tür, *Streptococcus* cinsine ait 64 tür *Enterococcus* cinsine ait 46 tür, *Lactobacillus* cinsine ait 54 tür ve *Pediococcus* cinsine ait 2 tür tanımlanırken, MALDI-TOF MS yönteminde *Lactococcus* cinsine ait 1 tür, *Enterococcus* cinsine ait 4 tür, *Lactobacillus* cinsine ait 5 tür, *Streptococcus* cinsine ait 1 tür ve *Pediococcus* cinsine ait 1 tür tanımlanabilmiştir.

Gıda üretiminde tarladan sofraya kadar geçen süreçte farklı birçok kaynaktan kontaminasyon oluşabilmekte, bunun sonucunda da gıda güvenliği riski oluşmaktadır (Aw vd., 2016; Billington vd., 2022). Klasik kültürel yöntemler ile bunların tümünü doğru bir şekilde tespit etmek hem zaman hem de iş gücü açısından dezavantaj oluşturmaktadır. Bu tür yaklaşımları benimseyerek, mikrobiyel kontaminasyon kaynaklarını daha doğru bir şekilde belirlemenin, bu tür bulaşanlar için kritik kontrol noktalarını belirlemenin gelecekte gıda kalitesi ve güvenliğini sağlamada önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Benzer şekilde, süt üretiminde çiğ sütün kontaminasyonu ortamdaki çeşitli alet ve ekipmanların mikrobiyel yüküne bakılarak, yaklaşık bir değerde tespit edilebilmektedir. Gelecekte ise çiğ süt üretiminin tüm aşamalarındaki (hayvan, çiftçi, alet ekipman, ortam havası vb.) mikrobiyota tespit edilip kontaminasyon riskinin en aza indirilebileceği düşünülmektedir (Doyle vd., 2017), diğer taraftan hayvancılık ve ürünlerinin üretiminin tüm aşamalarındaki kontaminasyon sonucu bulaşanların tespit edilmesinde tekniğin kullanımı ile mikrobiyel kalitesi yüksek ürün üretimi sağlanabilecektir (Billington vd., 2022). Şarap üretiminde olgunlaştırma aşamasında kullanılan fıçılarda mikrobiyotasının, şarabın olgunlaşma aşamasında değişmesi beklenen değerler üzerine ne gibi katkılar sağladığı; peynir üretiminde olgunlaşma aşamasında iç ve dış faktörlerden kaynaklanan mikroorganizmaların peynir üzerindeki etkilerinin ne olacağı konularında da metagenomik yöntemlerin kullanım potansiyeli bulacağı tahmin edilmektedir (Doyle vd., 2017; Billington vd., 2022).

Kothe vd. (2022) Brezilya'ya özgü geleneksel bir çeşidinin mikrobiyotasının metagenomik analizle ortaya konmasını amaçladıkları çalışmalarında, kültürel yöntemlerle daha önce bu peynir türünde tespit edilemeyen *Debaryomyces hansenii*, *Kodamaea ohmeri*, *Trichosporon* spp. nin varlığı tespit edilmiştir.

Görkem vd. (2021) beyaz peynir örneklerinin mikrobiyotasını kültüre bağlı olan ve kültürden bağımsız teknikleri kullanarak belirlemeye yönelik yürüttükleri çalışma sonucunda; bu tarz geleneksel gıdalarımızın mikrobiyotasının kültürden bağımsız tekniklerle daha net ve ayrıntılı olarak ortaya koyulabileceğini bildirmişlerdir.

Kergourly vd. (2015) ise çalışmalarında peynir örneklerinin genetik ve fonksiyonel metagenomik profilini çıkarmışlardır. Bu çalışma sonucunda, peynir mikrobiyotasını oluşturan işlevsel bir genomik katalog oluşturulmuş ve farklı geleneksel peynirlerin yüzeyinde bulunan mikrobiyotalar tespit edilmiştir.

Savaşan ve Beyaz (2019) çiğ koyun sütü kullanılarak özellikle dağlık bölgelerde sıklıkla üretimi yapılan peynir örneklerinin metagenomik analiz ile mikrobiyotalarının tespit edilmesi amacıyla yürüttükleri çalışmada *Firmicutes* oranının ortalama %91.5 ile en yaygın filum olduğu, *Actinobacteria*'nın ise %0.01 ile en seyrek filum olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada peynir örneklerinin mikrobiyotasında 25 farklı cins tespit edilmiştir. Bu cinslerden 23 tanesinin tüm incelenen örneklerde mevcut olduğu, ayrıca örneklerden en sık izole edilen türün ortalama %84 ile *L. lactis* olduğu belirlenmiştir.

GIDA MİKROBİYOTASININ KARAKTERİZASYONDA METAGENOMİK ANALİZLERİN KULLANIMI

Gıda mikrobiyel ekolojisinin belirlenmesinde, taksonomik öneme sahip genleri hedef alarak analiz yapılan amplikon tabanlı HTS en yaygın olarak kullanılan yaklaşımdır (Chen vd., 2017). Geleneksel ve fermente gıdaların tüketiminin sağlığımız üzerindeki pozitif etkileriyle ilgili literatür bilgileri arttıkça; bu gıdaların tüketimi de

oldukça popüler hale gelmektedir (Bozdemir, 2021). Bu gıdaların mikrobiyotasının tanımlanması ve fermentasyon sırasında oluşan ürünlerin hangi aşamada hangi mikroorganizmalar tarafından üretildiğinin tespiti, bu alanda en önemli araştırma konuları haline gelmiştir. Bu tarz araştırmaların artmasıyla birlikte bir yandan geleneksel gıdaların gelecek nesillere aktarımında daha fazla bilimsel veri üretilirken, diğer taraftan fermente gıda üretimi için yeni starter kültürler geliştirilmesinde önemli ilerlemeler sağlanmaktadır (Kergourly vd., 2015).

Fermente gıdaların mikrobiyotasını tam anlamıyla tanımlamanın bir başka önemli katkısı ise gıdanın üretim şekli hakkında bilgi sahibi olunmasını sağlamasıdır. Geleneksel yöntemlerle üretilen gıdaların üretimi esnasında tüm aşamalarda gıdanın mikrobiyotasında çeşitliliğe neden olacak aşamalar bulunurken; endüstriyel yöntemlerle üretilen gıdaların mikrobiyotasındaki çeşitliliğin nispeten daha az olduğu görülmektedir (Ercolini, 2013). Fermente gıdaların mikrobiyotasının metagenomik yöntemlerle tespiti ilk olarak 2009 yılında Burkina'da üretimi gerçekleştirilen fermente yulaf ezmesi ile gerçekleştirilmiştir. Daha sonra Moğol fermente süt ürünleri, Tayvan maş fasulyesi, İtalyan salamı, Çin soya sosu gibi birçok farklı ülkede ve farklı gıdalarda çalışmalar yapılmıştır (Kergourly vd., 2015).

Gıda endüstrisi için önemi yıllardır bilinen LAB üzerine yapılan araştırmalar her geçen gün artmaktadır. Bu bakterilerin süt ve süt ürünleri, fermente gıdalar ve geleneksel gıdaların üretimindeki rolleri hakkında daha fazla araştırma yapılarak endüstriyel ölçekli kullanımlarında daha etkili sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir. Bu amaçla metagenomik uygulamaların kullanımı gittikçe yaygınlaşmaktadır. Son yıllarda metagenomik gelişimi ve uygulama sahasının artışıyla birlikte LAB üzerine yapılan çalışmaların genom odaklı hale geldiği görülmektedir. Bu sayede endüstriyel üretimde kullanılan suşların gıda üretimindeki rolleri ve temel mekanizmaları ayrıntılı olarak incelenebilmektedir (Ektik, 2022).

LAB hali hazırda tek kültür olarak tanımlanması ve üretiminde kullanılan gıdada ürettiği metabolitleri

tespit edilebilmektedir. LAB fermente gıda başlığı altında toplanan tüm ürünlerde bulunmaktadır (Avunca, 2022). Geleneksel fermente gıdaların üretiminde tek bir LAB değil çeşitli mikroorganizmalardan oluşan bir mikrobiyota söz konusudur (Kavruk vd., 2021; Tóth vd., 2020). Bu nedenle metagenomik analizler bu karmaşık mikrobiyotaların tanımlanması ve işlevleri hakkında daha fazla bilgi üretilmesine katkı sağlamaktadır.

Ekşi mayanın ekmek üretiminde doğal starter kültür olarak kullanımı bilinen en eski biyoteknolojik uygulamalardan biridir (Karaman ve Sağdıç, 2018; Babaoğlu vd., 2021; Aydın, 2023). Genel olarak ekşi mayanın mikrobiyotası hakkında; LAB ve mayalardan oluştuğu, LAB oransal olarak daha fazla olduğu (Aydın vd., 2022; Aydın vd., 2022a), LAB çeşitliliğinin mayalardan daha fazla olduğu, hamurda oluşan metabolitlerin çoğunun LAB tarafından sentezlendiği bilinmektedir (Palla vd., 2020; Örü ve Ertop, 2021). Fakat ekşi hamur mikrobiyotasının hamurun gelişimi süresince nasıl değiştiği, hamurun olgunlaşması sırasında oluşan metabolitlerin çevresel koşullardan nasıl etkilendiği, maya ve LAB sayıları arasındaki oransal değişimin nasıl olduğu hakkında literatürde yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Metagenomik yaklaşım, mikrobiyel topluluğun ve fermentasyon sırasındaki dinamiklerinin daha iyi anlaşılmasını kolaylaştırmıştır (Kergourlay, 2015). Ercillini vd. (2013) yaptıkları çalışmada ekşi mayanın mikrobiyotasını metagenomik yaklaşımla incelemiş; sonuç olarak ise bir gün sonunda bile ekşi hamurun mikrobiyotasının önemli bir şekilde değiştiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada metagenomik yaklaşımlar ve HTS verimli dizileme teknolojilerinin ekşi hamur için modifiye edilmesiyle birlikte süreç hakkındaki soruların cevaplanmaya başladığı ve karmaşık mikrobiyota hakkında daha fazla bilgi üretildiği rapor edilmiştir.

Çin Halk Cumhuriyeti'nde tüketimi oldukça sevilen geleneksel fermente bir gıda olan da-Jiang'ın fermentasyonu sırasında bakterilerin rolünü ve fermentasyondaki önemini belirlemek

için bir çalışma yürütülmüştür (Xiea vd., 2020). Bu çalışmada, 15 ev yapımı da-Jiang örneğinin, yüksek verimli dizileme teknolojisi ile mikrobiyotası analiz edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre örneklerin mikrobiyotasında 248 cinsine ait 841 bakteri türünden, *Leuconostoc*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Pantoea*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Tetragenococcus* ve *Weissella* cinslerine ait türlerin baskın olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca fermentasyon sırasında bakterilerin fonksiyonel genlerinin, karbonhidrat metabolizması, amino asit metabolizması, membran geçirgenliği, inorganik iyon taşınması ve metabolizması, sinyal iletimi ve koenzim ve vitaminlerin metabolizması ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. *Pseudomonas* cinsinin da-jiang'ın rengiyle; *Pseudomonas floresens*'in tiramin ve histamin üretimi ile yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu bilgiler sayesinde geleneksel da-Jiang'daki mikrobiyel yapı ve enzimler hakkında önemli bilgiler elde edilmiş ve bu mikroorganizmaların biyolojik fonksiyonlarının yanı sıra yüksek kaliteli da-Jiang elde etmek için bir starter kültür olarak kullanılabilecekleri rapor edilmiştir. Çalışma sonucunda da-jiang mikrobiyotasında fermentasyona hâkim olup laktik asit üretiminde yer alan organizmalar; *Leuconostoc*, *Acinetobacter* ve *Enterobacter* cinsleri olarak tespit edilmiştir (Xiea vd., 2020).

Fermente soya fasulyesi ezmesi olan *doenjang*'ın iki farklı endüstriyel üretim süreci sırasında mikrobiyel çeşitliliğin ve metabolit profillerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amacıyla Lee vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada mikrobiyel çeşitliliğin ve ilgili metabolomların fermente ürünlerin nihai tadını, lezzetini ve dokusunu önemli ölçüde etkilediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, mikrobiyel inokulum çeşitliliği ile fermentatif koşullar altındaki ilgili metabolomlar arasındaki korelasyonlar da ortaya konulmuştur. Bu çalışmada, endüstriyel süreç (IP) ve modifiye endüstriyel süreç (mIP) olmak üzere iki *doenjang* üretim süreci için karşılaştırmalı metabolomlara karşılık gelen mikrobiyel çeşitlerle birleştiren bir korelasyon modeli oluşturulmuştur. *Doenjang* için yaygın olarak kullanılan endüstriyel üretim sürecinden ikisinin (IP ve mIP) metabolit

profillerini karşılaştırılmış ve biyosürecin her adımında bu ürünleri spesifik mikrobiyel topluluklarla ilişkilendirilmiştir. IP ve mIP'deki mikrobiyota karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiş, her basamağa özgü metabolit oluşumları belirlenmiştir. Sonuçta, *doenjang*'ın bileşenlerinin, lezzetinin ve diğer yapısal özelliklerinin her adımdaki mikrobiyel çeşitlilikten önemli ölçüde etkilendiği rapor edilmiştir.

Fermente sebzelerdeki mikrobiyotanın metagenomik yöntemle tanımlanması ve antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesi üzerine Yasir vd. (2022) tarafından yapılan bir çalışmada turşunun mikrobiyotasını ve fermentasyon sırasında ve sonrasında oluşan ürünlerin üretim yöntemlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma Orta Doğu ve Asya kıtalarında yaygın olarak tüketilen 18 farklı sebze turşusu ile gerçekleştirilmiş olup tanımlama metagenomik yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Ayrıca turşu mikrobiyotasında karbonhidrat, aminoasit, bakteriyosin ve vitaminlerin üretim yolları da tespit edilmiştir. Kimchi, küresel olarak popüler hale gelen, LAB sebzeleri fermente etmesiyle üretilen geleneksel bir Kore fermente gıdasıdır. Yapılan bir çalışmada farklı sebzeler kullanılarak üretilen kimchi'lerin fermentasyon başlangıcından sonuna kadar olan sürede mikrobiyotalarında meydana gelen değişim metagenomik yöntemlerle tespit edilmiş ve farklı sebzelerin mikrobiyota çeşitliliği üzerindeki etkisi bu güncel yöntemle ortaya konmuştur (Lee vd., 2015).

Illegheims vd. (2015) tarafından kakao çekirdeği fermentasyonu sırasındaki mikrobiyotayı net bir şekilde tespit edebilmek amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmalarında; fermentasyonda yer alan tüm mikroorganizmaların ürettikleri yan ürünler tespit edilmiş ve en uygun starter kültür seçimi yapılmıştır.

Çin kültürünün sembolize eden geleneksel fermente gıdalardan biri olan suancaı, Çin'de yüzyıllardır yaygın olarak tüketilmektedir. Bu çalışmada suancaı fermentasyonundaki azot metabolizması ve bu metabolizmanın hangi mikroorganizmalar tarafından yürütüldüğü metagenomik yaklaşımlarla tespit edilmiştir. Bu çalışma

sonucunda suancaı üretimi için en etkili starter kültürler belirlenmiş, gıda güvenliği risklerinin en aza indirebileceği ve endüstriyel üretime olumlu katkılar sağlanabileceği ortaya konulmuştur (Song vd., 2021).

Fermente deniz ürünlerinin mikrobiyel çeşitliliği yakın geçmişe kadar, diğer fermente ürünler kadar net olarak tanımlanmamışken, son yıllarda, metagenomik teknikler Asya'da da fermente deniz ürünlerini incelemek için yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. Fermente edilmiş deniz ürünleri starter kültür kullanılmadan üretildiğinden, mikrobiyotası büyük ölçüde bileşenlerinde bulunan mikrobiyel topluluğa, tesadüfen meydana gelen mikrobiyel türlere ve fermentasyon sırasında uygulanan sıcaklığa bağlı olarak oldukça değişkenlik göstermektedir. Bu tür spontan fermentasyonla üretilen fermente ürünlerin mikrobiyotasının, örneğin şarap veya süt ürünlerindeki kadar standart olmadığı, ancak LAB'nin (özellikle *Lactobacillus* türlerinin) fermentasyon işleminde önemli rol oynadığı tespit edilmiştir (Kergourlay, 2015).

Wanga vd. (2020) yaptıkları çalışmada, moleküler, duysal ve metagenomik analizlere dayanan Çin balık sosunda (Yu-lu) uçucu lezzetin oluşum mekanizmasına metagenomik teknikler kullanarak yeni bir bakış açısı kazandırmayı amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda üründe 12 adet temel uçucu bileşik olduğu; *Halanaerobium*, *Halomonas*, *Tetragenococcus*, *Halococcus* ve *Frackibacter* cinslerinden oluşan 5 mikroorganizmanın balık sosunda lezzet oluşumundan sorumlu olduğu ve mikrobiyel metabolik ağın balık sosunda lezzet oluşumunu sağladığı tespit edilmiştir.

Soyuçok vd. (2021) gerçekleştirdikleri çalışmalarında geleneksel ve fonksiyonel gıdalarımızdan olan tarhananın fermentasyonu süresince mikrobiyotasını 16S metagenomik analizle incelemişler ve hamur oluşumundaki baskın türleri *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus* ve *Streptococcus* olarak tespit etmişlerdir, fermentasyonun 4. gününden sonra *Clostridium* ve *Bacillus* türlerinin baskın hale geldiği ancak hamurun kurumasından sonra inaktive olduklarını tespit etmişlerdir. Ilıkkın ve Bağdat, (2021)

karmaşık bir mikrobiyotanın gerçekleştirdiği fermentasyon sonucunda elde edilen sağlığa yararlı içeceklerden olan kefirin üretiminde starter olarak kullanılan kefiran tanelerinin mikrobiyotasını metagenomik tekniklerle incelemişler ve ilk kez Türkiye'de üretilen kefirlerin baskın mikrobiyotasında probiyotik bir mikroorganizma olan *Bifidobacterium longum*'u tespit etmişlerdir. Uçak vd. (2022) ise fermente içeceklerimizden olan güzel aroması ve lezzeti sayesinde özellikle kış aylarında tüketimi oldukça popüler olan bozanın fermentasyonu sürecindeki mikrobiyotasını metagenomik tekniklerle tespit ederek boza üretiminde kullanılabilir en uygun starterlerin belirlenmesini amaçlamışlardır.

SONUÇ

Mikrobiyotanın anlaşılması amacıyla sağlanan bilimsel çalışmaların en önemlilerinden olan metagenomik, diğer yöntemlere kıyasla kısa zamanda ve yüksek doğruluk oranında yeni genleri, proteinleri ve kültüre edilemeyen organizmaların kesin tanımlarının yapılmasını sağlamakla birlikte, metagenomik çalışmalarda mikrobiyota ile ilgili tüm soruları cevaplayabilecek standart yöntemler veya evrensel araçlar bulunmamaktadır. Her ne kadar metagenetik çalışmalar son yıllarda farklı gıda örneklerinde farklı amaçlar için kullanılıyor olsa da halen geliştirilmesi gereken yönleri bulunmaktadır. Özellikle spontan fermantasyonla üretilen geleneksel gıdaların mikrobiyotasını daha kapsamlı bir şekilde belirlemek ve fermantasyon süreçlerini aydınlatmak için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Bu amaçla, metatranskriptomik ve metabolomik içeren multi-omik yaklaşımlarla mikroorganizmaların birbirleriyle ve çevreleriyle olan etkileşimlerinin aydınlatılması gerekmektedir. Böylece farklı meta verilerin kombinasyonu, mikrobiyel gıdaların hücreden topluluk seviyesine kadar incelenmesini sağlayacak ve bu şekilde genom ölçeğinde topluluk modellerinin geliştirilmesi sağlanacaktır. Diğer taraftan dizileme ve biyoinformatik maliyetlerin yüksek olması metagenomik yöntemlerin yaygınlaşmasını kısıtlayan faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır. Metagenomik sonucu elde edilen bilgilerin zenginliği, klasik moleküler yöntemlerin yatırım maliyetlerinin

düşmesi ve bilim insanlarının metagenomik yöntemlere ilgisinin artması ile gün geçtikçe daha da yaygınlaşacağı tahmin edilmektedir. Gelecekte metagenomik çalışmaların, PCR çalışmaları gibi rutin laboratuvar uygulamaları haline geleceği, bu nedenle metagenomik yöntemler hakkındaki bilgi birikiminin tabana yayılması ve gıda mikrobiyotası çalışmaları ile ilgilenen bilim insanına aktarılması gerektiği düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu çalışmada yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Yazarlar makalenin gerçekleşmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKLAR

- Albanese, D., Donati, C. (2017). Strain profiling and epidemiology of bacterial species from metagenomic sequencing. *Natural Communicationn* 8, 2260, doi: 10.1038/s41467-017-02209-5.
- Amrouche, T., Mounier, J., Pawtowski, A. (2020). Microbiota Associated with Dromedary Camel Milk from Algerian Sahara. *Current Microbiology* 77, 24-31, doi: 10.1007/s00284-019-01788-4.
- Arumugam, R., Uli, J., Annavi, G. (2019). A Review of the Application of Next Generation Sequencing (NGS) in Wild Terrestrial Vertebrate Research. *Annual Research & Review in Biology*, 31(5): 1-9, doi: 10.9734/arrb/2019/v31i530061.
- Avunca, S.C. (2022). Yoğurt Altı Suyu ve Sirke ile Üretilen Fermente Salatalık Turşularında Bulunan Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, Türkiye, 64s.
- Aw, T.G., Wengert, S., Rose, J.B. (2016). Metagenomic analysis of viruses associated with field-grown and retail lettuce identifies human and animal viruses, *International Journal of Food Microbiology*, 223; 50-56, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.02.008.

- Aydın, F. (2023) Ekşi Hamur Mikrobiyotasından İzole Edilen Mayaların Farklı DNA Markör Sistemleri ile Karakterize Edilmesi ve Bazı Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, Bolu, Türkiye, 154s.
- Aydın, F., Özer, G., Alkan, M., Çakır, İ. (2022). Start Codon Targeted (SCoT) markers for the assessment of genetic diversity in yeast isolated from Turkish sourdough. *Food Microbiology*, 107, 104081, doi: 10.1016/j.fm.2022.104081.
- Aydın, S., Erözden, AA, Tavşanlı, N., Müdüroğlu, A., Çalışkan, M., Kara, İ. (2022a). Anthocyanin Addition to Kefir: Metagenomic Analysis of Microbial Community Structure. *Current Microbiology*, 79 (11), 327, doi: 10.1007/s00284-022-03017-x.
- Babaoğlu, HÇ. Tontul, SA. Akın, N. (2021). Yer Elması Tozu İlavesinin Ekşi Hamur Fermantasyonu Üzerine Etkisi. *GIDA* 46(2) 367-375, doi: 10.15237/gida.GD20135.
- Bal, D., Balcı, B., Yılmaz, A., Polat, G., Arıcan, E. (2022). Balıkesir/Antandros Antik Kenti Kazısı Toprak Örneklerinin Metagenomik Analizi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(1), 1-12, doi: 10.19113/Sdufenbed.700604.
- Billington, C., Kingsbury, J.M., Rivas, L. (2022). Metagenomics Approaches for Improving Food Safety. *Journal of Food Protection*, 85(3); 448-464, doi: 10.4315/JFP-21-301.
- Bozdemir, M. (2021). Bozadan İzole Edilmiş Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Teknolojik ve Fonksiyonel Özellikleri. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 115s.
- Brown, E., Dessai, U., McGarry S., Gerner-Smith P. (2019). Use of Whole-Genome Sequencing for Food Safety and Public Health in the United States. *Foodborne Pathogens And Disease* 16(7): 441-450, doi: 10.1089/fpd.2019.2662.
- Calle, M.L. (2019). Statistical Analysis of Metagenomics Data *Genomics & Informatics*; 17(1):1-9, doi:10.5808/GI.2019.17.1.e6.
- Cerit, G.Z. (2022). Beyaz Peynir ve Süt İşleme Tesisinden İzole Edilen Mikrobiyotanın Karakterizasyonu Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü Yüksek Lisans Tezi Ankara, Türkiye, 163s.
- Chen, G., Bai, R., Zhang, Y., Zhao, B., Xiao, Y. (2022). Application Of Metagenomics To Biological Wastewater Treatment, *Science Of The Total Environment* 807, 150737, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.150737.
- Chen, G., Chen, C., Lei, Z. (2017). Meta-Omics Insights in The Microbial Community Profiling And Functional Characterization of Fermented Foods Trends, *Food Science & Technology* 65, 23-31, doi: 10.1016/j.tifs.2017.05.002.
- Choudhari, J.K., Choubey, J., Verma, M.K., Chatterjee, T., Sahariah, B.P. (2022). Metagenomics: the boon for microbial world knowledge and current challenges, *Bioinformatic methods and Applications*, Dev Bukhsh Singh, Raiesh Kumar Pathak (ed.) 159-175.
- Doyle, C.J., O'toole, P.W., Cotter, P.D. (2017). Metagenome-Based Surveillance And Diagnostic Approaches To Studying The Microbial Ecology Of Food Production And Processing Environments, *Environmental Microbiology* 19(11), 4382-4391, doi: 10.1111/1462-2920.13859.
- EFSA (2019) European Food Safety Authority. <https://www.efsa.europa.eu/en/science/scientific-committee-and-panels/biohaz> (Erişim Tarihi: 2.11.2023).
- Ekici, H. (2019). Şalgam Sularının Aroması Üzerine Etkili Mikrofloranın Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ile Belirlenmesi ve İstatistiksel Değerlendirilmesi, Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 61s.
- Ektik, N. (2022). Klasik (Olgunlaştırılmış) Beyaz Peynir Üretiminin Farklı Aşamalarından Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi Balıkesir

- Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir, Türkiye, 113 s.
- Emenli, İ., Gündüz, G. (2019). Gıdalarda Bulunan Küflerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler *GIDA* 44 (4): 692-706, doi: 10.15237/gida.GD19044.
- Ercolini, D. (2013). High-Throughput Sequencing And Metagenomics: Moving Forward In The Culture-Independent Analysis Of Food Microbial Ecology. *Applied And Environmental Microbiology* 10(79); 3148-3155, doi: 10.1128/AEM.00256-13.
- Erdoğan, I.T. (2019). Yıkılmış Kan Lekelerinden DNA Elde Edilmesi. Üsküdar Üniversitesi Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü Adli Bilimler Anabilim Dalı Adli Genetik Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye 98 s.
- Ezeonuegbu, B. A., Abdullahi, M. D., Whong, C. M., Sohunago, J. W., Kassem, H. S., Yaro, C. A., Batiha, G. E. S. (2022). Characterization and phylogeny of fungi isolated from industrial wastewater using multiple genes. *Scientific Reports*, 12(1), 2094, doi: 10.1038/s41598-022-05820-9.
- Ferrocino, I., Cocolin, F. (2017). Current Perspectives in Food-Based Studies Exploiting Multi-Omics Approaches Current Opinion. *Food Science*, 13:10-15, doi: 10.1016/j.cofs.2017.01.002
- Goolam Mahomed, T., Peters, R., Pretorius, G. (2021). Comparison of targeted metagenomics and IS-Pro methods for analysing the lung Microbiome. *BMC Microbiology* 21: 228, doi: 10.1186/s12866-021-02288-x.
- Görkem, Z., Cerit, Z.G., Baloğlu, M.C., Yılmaz, R. (2021). Beyaz Peynir Mikrobiyotasında Kültüromik ve Shotgun Metagenomik Teknolojilerin Değerlendirilmesi. *GIDA*, 46(3) 566-582, doi: 10.15237/gida.GD20136.
- Hardwick, S.A, Chen, W.Y., Wong, T. (2018). Synthetic microbe communities provide internal reference standards for metagenome sequencing and analysis. *Nature Communication* 9, 1-11, doi: 10.1038/s41467-018-05555-0
- Hora, M. (2018). Mikrobiyom kaynaklı antimikrobiyal direnç genlerinin taksonomik orijinlerinin tespiti. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, Türkiye, 120 s.
- Ilıkkın, Ö. K., Bağdat, E. Ş. (2021). Comparison of bacterial and fungal biodiversity of Turkish kefir grains with high-throughput metagenomic analysis. *LWT-Food Science and Technology*, 152, 112375, doi: 10.1016/j.lwt.2021.112375.
- Illegghems, K., Weckx, S., Vuyst, L. (2015). Applying Meta-Pathway Analyses Through Metagenomics To Identify The Functional Properties of The Major Bacterial Communities of A Single Spontaneous Cocoa Bean Fermentation Process Sample. *Food Microbiology* 50, 54- 63, doi: 10.1016/j.fm.2015.03.005.
- Jagadeesan, B., Gerner-Smidt, P., Allard, MW., Leuillet, S., Winkler, A., Xiao, Y., Chaffron, S., Van Der Vossen, J., Tang, S., Katase, M., McClure, P., Kimura, B., Ching Chai, L., Chapman, J., Grant, K. (2019). The use of next generation sequencing for improving food safety: Translation into practice. *Food Microbiology*, 79, 96-115, doi: 10.1016/j.fm.2018.11.005.
- Johny, T.K, Puthusseri, R.M, Bhat, S.G. (2021). A primer on metagenomics and next-generation sequencing in fish gut microbiome research. *Aquaculture Research*, 52, 4565-5110, doi: 10.1111/are.15373.
- Karabudak, S., Akkuş, M.S. (2022). Yeni Nesil Dizileme Verilerinin Analizinde Bulut Teknolojisi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 11(1) 1-10, doi: 10.17100/nevbittek.1005534.
- Karaman, K. Sağdıç, O. (2018). Fitaz Aktif Bazı Laktik Asit Bakteri ve Maya İzolatlarının Tam Buğday Ekmeğinde Hamur Reolojisi Üzerine Etkileri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi* 14; 1-9, doi: 10.31590/ejosat.455587.
- Kavruk, M., Zafer Yurt, M.N., Taşbaşı, B.B., Acar, E.E., Soyuçok, A., Altunbaş, O., Özalp, V.C., Sudağdan, M. (2021). Alteration of Boza Microbiota in the Fermentation Process. *Kocatepe Veterinary Journal* 14(2): 238-246, doi: 10.30607/kvj.895295.
- Kaygusuz, S. (2019). Pamuk Yağında DNA İzolasyon Yöntemlerinin Etkinliğinin

- Karşılaştırılması ve Genetiği Değiştirilmiş Organizma Analizlerine Etkisinin Değerlendirilmesi. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Karaman, Türkiye, 59 s
- Kergourlay, G., Taminiau, B., Daube, G.A., Vergès, M.C. (2015). Metagenomic insights into the dynamics of microbial communities in food. *International Journal of Food Microbiology* 213; 31-39, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.09.010.
- Khan, D., Kabiraj, A., Roy, R.K, Let, M., Majhi, K., Bandopadhyay, R. (2022). Bioremediation of Heavy Metals by Metagenomic Approaches. *Omics Insights in Environmental Bioremediation*, 393–413, doi:10.1007/978-981-19-4320-1_17.
- Kothe, C. I., Mohellibi, N., Renault, P. (2022). Revealing the microbial heritage of traditional Brazilian cheeses through metagenomics. *Food Research International*, 157, 111265, doi: 10.1016/j.foodres.2022.111265.
- Lee, S., Singh, D., Young, J., Jeon, J.E., Ryu, H.S., Lee, D.W., Kim, B.S., Lee, C.H. (2017). Comparative evaluation of microbial diversity and metabolite profiles in doenjang, a fermented soybean paste, during the two different industrial manufacturing process. *Food Chemistry* 221;1578-1586, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.10.135.
- Lee, SH., Ji, Jung, Y., Jeon, C.O., (2015). Source Tracking and Succession of Kimchi Lactic Acid Bacteria during Fermentation. *Journal of Food Science*, 80 (8): 1871- 1877, doi: 10.1111/1750-3841.12948.
- NIST (2020) ABD National Institute of Standards and Technology. Standards for Metagenomics (2020). <https://www.nist.gov/programs-projects/standards-metagenomics> (Erişim tarihi: 20.01.2023).
- Örü, F., Ertop, M.G. (2021). Siyez ve Ekmeklik Buğday Kepeğinin Ekşi Hamur Üretiminde Kullanım Olanının Değerlendirilmesi. *GIDA* 46 (2): 396-407, doi: 10.15237/gıda.GD20087.
- Palla, M., Cristani, C., Giovannetti, M., Agnolucci, M. (2020). Large Genetic Intraspecific Diversity of Autochthonous Lactic Acid Bacteria and Yeasts Isolated from PDO Tuscan Bread Sourdough *Applied Sciences*, 10(3), 1043, doi:10.3390/app10031043.
- Savaşan, S., Beyaz, D. (2019). Erken Olgunlaşma Dönemindeki Geleneksel Peynir Mikrobiyomunun Metagenomik Analizi. *Etlik Veterinerlik Mikrobiyoloji Dergisi*, 30 (1): 27-35.
- Savran, İ., Erden, E. (2019). Meta-Genomik Gen Analizi İçin Filtre Tasarımı. *DÜMF Mühendislik Dergisi* 11:2, 471-480, doi: 10.24012/dumf.496688.
- Soman, R., Kavitha, M.H., Shaji, H. (2022). Metagenomics: a genomic tool for monitoring microbial communities during bioremediation, *Microbes and Microbial Biotechnology for Green Remediation*, 813-821, doi:10.1016/B978-0-323-90452-0.00006-2
- Song, Q., Zhao, F., Wang, B., Han, Y., Zhou, Z. (2021). Metagenomic insights into Chinese northeast suancai: Predominance and diversity of genes associated with nitrogen metabolism in traditional household suancai fermentation. *Food Research International* 139,109924, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109924.
- Soyuçok, A., Yurt, M.N.Z., Altunbas, O., Ozalp, V.C., Sudagidan, M. (2021). Metagenomic and chemical analysis of Tarhana during traditional fermentation process. *Food Bioscience*, 39, 100824, doi: 10.1016/j.fbio.2020.100824.
- Tekin, K., Kocaman, M. (2020). PCR Öncesi Hazırlık, PCR Kolaylaştırıcıları ve Dengeleyici Katkılar. *Journal of Molecular Virology Immunology*; 1(2): 11-18. doi:10.46683/jmvi.2020.8.
- Thomas, T., Gilbert, J., Meyer, F. (2012) Metagenomics - a guide from sampling to data analysis. *Microbial Informatics and Experimentation* 2, 3, doi: 10.1186/2042-5783-2-3.
- Tóth, A.G, Csabai, I., Maróti, G. (2020). A glimpse of antimicrobial resistance gene diversity in kefir and yoghurt. *Nature Research* 10, 22458, doi: 10.1038/s41598-020-80444-5.
- Uçak, S., Yurt, M.N.Z., Tasbasi, B.B., Acar, E.E., Altunbas, O., Soyucok, A., Sudagidan, M. (2022). Identification of bacterial communities of fermented cereal beverage Boza by metagenomic

- analysis. *LWT-Food Science and Technology*, 153, 112465, doi: 10.1016/j.lwt.2021.112465.
- Uçarlı, C. (2022) Mikrobiyom Analizinde Metagenomik Yaklaşımlar *Mikrobiyota İçimizdeki Evren*, Yılmaz Ö (baş ed.) 142; 159- 171.
- Wang, Y., Yan, Y., Thompson, K.N (2021). Whole microbial community viability is not quantitatively reflected by propidium monoazide sequencing approach. *Microbiome* 9, 17, doi: 10.1186/s40168-020-00961-3
- Wanga, Y., Lia, C., Zhao, Y., Lia, L., Yanga, X., Wua, Y., Chena, S., Cena, J., Yanga, S., Yanga, D. (2020). Novel insight into the formation mechanism of volatile flavor in Chinese fish sauce (Yu-lu) based on molecular sensory and metagenomics analyses. *Food Chemistry* 323, 126839, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126839.
- Xiea, M., Ana, F., Zhaoa, Y., Wu, R., Wu, J. (2020). Metagenomic analysis of bacterial community structure and functions during the fermentation of da-jiang, a Chinese traditional fermented food, *LWT-Food Science and Technology* 129,109450 doi: 10.1016/j.lwt.2020.109450.
- Yasir, M., Zahrani, I.A., Bibi, F., Ghany, M.A., Azhar, E.I. (2022). New insights of bacterial communities in fermented vegetables from shotgun metagenomics and identification of antibiotic resistance genes and probiotic bacterial. *Food Research International* 157,111190, doi: 10.1016/j.foodres.2022.111190.
- Ye, S.H., Siddle K.J., Park, D.J., Sabet, P.C. (2019). Benchmarking Metagenomics Tools for Taxonomic Classification. *Cell* 178, 779-794, doi: 10.1016/j.cell.2019.07.010.
- Zhuang, S., Tan, Y., Hong, H., Li, D., Zhang, L., Luo, Y. (2022). Exploration of the roles of spoilage bacteria in degrading grass carp proteins during chilled storage: A combined metagenomic and metabolomic approach. *Food Research International*, 152, 110926, doi: 10.1016/j.foodres.2021.110926.



BITKİSEL LİF-BÜTİRİK ASİT ESTERLERİNİN ÜRETİMİ VE KEK FORMÜLASYONUNDA EMÜLGATÖR OLARAK KULLANIMI

Sena Erol, Hakan Erinc*

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Niğde, Türkiye

Geliş/Received: 03.10.2023; Kabul /Accepted: 03.11.2023; Online baskı /Published online: 11.11.2023

Erol, S., Erinc, H. (2023). Bitkisel lif-bütirik asit esterlerinin üretimi ve kek formülasyonunda emülgatör olarak kullanımı. GIDA (2023) 48 (6) 1244-1253 doi: 10.15237/ gida.GD23119

Erol, S., Erinc, H. (2023). Production of plant-based fiber-butyric acid esters and their use as emulsifier in cake formulation. GIDA (2023) 48 (6) 1244-1253 doi: 10.15237/ gida.GD23119

ÖZ

Sunulan bu çalışmada, nispeten kısa ve ince lifler içeren bir buğday kepeğinden, ıslak öğütme tekniği kullanılarak selüloz içeriği yüksek lifler elde edilmiş ve sonrasında bütirik asit ile beş farklı derecede esterleştirilmiştir. Bu esterleştirme işlemi ile farklı oranlarda hidrofilik ve lipofilik gruplara sahip bitkisel lif-bütirik asit esterleri üretilmiştir. Elde edilen bu ürünlerin karakterizasyonu için esterleşme derecesi, su tutma kapasitesi, FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi), SEM (Taramalı Elektron Mikroskopisi) ve TGA (Termogravimetrik Analiz) analizleri gerçekleştirilmiştir. Ürünlerin karakterizasyonu tamamlandıktan sonra, bu bitkisel lif-bütirik asit esterleri emülgatör olarak kullanılması amacıyla kek formülasyonuna eklenmiştir. Kek örneklerinin renk, kurumadde içeriği ve tekstürel özellikleri incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda, tüm örneklerin renk değerleri ve kuru madde içerikleri kontrol örneğine benzer bulunmuştur. Ancak, tekstürel analizlerde sertlik, gamlılık ve çiğnenebilirlik değerlerinde hafif bir azalma gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Bitkisel lif-bütirik asit ester, emülgatör, kek

PRODUCTION OF PLANT-BASED FIBER-BUTYRIC ACID ESTERS AND THEIR USE AS EMULSIFIER IN CAKE FORMULATION

ABSTRACT

In this study, fibers with high cellulose content were obtained from a wheat bran containing relatively short and fine fibers by wet milling technique and then esterified with butyric acid at five different degrees. With this esterification process, plant fiber-butyric acid esters with different ratios of hydrophilic and lipophilic groups were produced. For the characterization of these products, esterification degree, water holding capacity, FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy), SEM (Scanning Electron Microscopy) and TGA (Thermogravimetric Analysis) analyses were performed. After the characterization of the products was completed, these plant fiber-butyric acid esters were added to the cake formulation to be used as emulsifiers. Color, dry matter content and textural properties of the cake samples were analyzed. As a result of the analyses, color values and dry matter contents of all samples were similar to the control sample. However, a slight decrease in hardness, gumminess and chewiness values was observed in textural analysis.

Keywords: Plant-based fiber-butyric acid ester, emulsifier, cake

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: herinc@ohu.edu.tr

☎: (+90) 388 225 4005

☎: (+90) 388 225 0112

Sena Erol; ORCID no: 0009-0002-3526-3989

Hakan Erinc; ORCID no: 0000-0001-8858-4570

GİRİŞ

Doğada en çok bulunan polimerlerden biri olan selülozun saflaştırılması ve değişik alanlarda kullanımı ile ilgili çalışmalar yirminci yüzyılın başından itibaren başlamıştır. Günümüzde gıda endüstrisi için özellikle enerji kaynağı olmaması nedeniyle selüloz önemli bir katkı maddesidir. Selüloz çok detaylı bir şekilde araştırılmış doğal bir materyal olmasına rağmen, yeni geliştirilen metotlarla üretilen selüloz lifleri, son derece yüksek yüzey alan/birim hacim oranlarına sahip olmaları nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmektedir.

Selüloz yapısında bulunan hidroksil grupları (-OH) sayesinde hidrofilik karaktere sahiptir. Dolayısıyla uygulama alanları bakımından bazı problemler vardır. Bu nedenle selülozun fiziksel olarak yapısının değiştirilmesinin yanı sıra yağ asitleri ile esterleştirilerek elde edilen biyo-bozunur ambalajlar dikkat çekmektedir. Bu anlamda çeşitli selülozik hammaddeler yağ asitleri ile esterleştirilerek biyo-plastikler üretilebilmiştir. Bu kapsamda Gourson vd. (1999) mısır kepeğinden elde ettikleri selülozik hammaddeyi 6, 8 ve 12 C'lu yağ asitleri ile esterleştirerek biyo-bozunur film üretmişlerdir. Benzer şekilde Satgé vd. 2004 yılında yapmış oldukları bir çalışmada 20 µm boyuta sahip selülozu 12 karbonlu lauroil klorit ile esterleştirerek film oluşturmuşlardır. Bu ve benzeri birçok çalışma literatürde mevcuttur (Almasi vd., 2015; Heredia-Guerrero vd., 2017; Robles vd., 2015). Yapılan bu çalışmaların tümünde selüloz kaynağının uzun lifler içermesinden dolayı elde edilen son ürün biyo-bozunur film olarak değerlendirilebilmiştir.

Selüloz kaynaklı hammaddelerden selüloz içeriği yüksek liflerin izolasyon işlemi iki aşamada gerçekleştirilir. Birinci aşama, hammaddenin saflaştırması ve homojenizasyonu ön işlemlerine tabi tutulmasıdır. Bu uygulama, selüloz kaynağına bağlı olarak değişmektedir (Moon vd., 2011). İkinci aşama, bu "saflaştırılmış" selüloz maddesinin mikrolifler ve/veya kristal bileşenlere ayrılmasını oluşturur. Bu aşamada mekanik işlem, asit hidrolizi ve enzimatik hidroliz gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır (Siró ve Plackett, 2010).

Mikrokristalin selüloz (MKS), hemiselüloz içerikli hamurun asit hidroliziyle ve alkali ile nötralize edilmesi ile hazırlanır. Nihai parçacıklar yaklaşık 10-50 µm çapındadır. Genellikle, MKS agregaları, kompozitlerde kullanım için 1-10 µm uzunluğunda küçük parçacıklara ayrılır. Selüloz parçacıklarının bir başka türü, ahşap ve bitki lifi pulplarının mekanik olarak işlenmesiyle üretilen mikrolif selülozdur (MLS). Genişlik ve uzunlukları sırasıyla 10-100 nm ve 0.5-10 µm olup yüksek en/boy oranına sahiptirler ve hem amorf hem de kristal bölgeler içerirler. Nanolif selülozun (NLS) en-boy boyutları ise sırasıyla 4-20 nm ve 500-2000 nm'dir. NLS'nin MLS'den farklılaşması, daha ince parçacık çapı üreten lifli yapı sağlama işlemine dayanır (Moon vd., 2011). Tekin vd. (2011) mısır yapraklarından elde edilen liflerin daha büyük yapıları lifler olmasından dolayı, nispeten daha kısa liflere sahip olan mısır koçanından elde edilen liflerden daha az su tuttuğunu bildirmişlerdir. Dolayısıyla aynı bitkiden ancak farklı kısımlarından elde edilen liflerinde farklı özelliklere sahip olduğu anlaşılmaktadır.

Islak öğütme tekniği ile selüloz yapısındaki hidroksil grupları açığa çıkarak daha yüksek oranda polarite, çözünürlük ve su tutma özellikleri gösterdiği anlaşılmaktadır. Nitekim bu konu ile ilgili ülkemizde de çalışmalar yapılmış olup Tekin vd. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada çeşitli bitkisel kaynaklardan selüloz içeriği yüksek liflerin üretilebileceği, bu liflerin yüksek yüzey alan/birim hacim oranlarına sahip olduğu ve çeşitli gıda ürünlerinde çeşitli amaçlarla (reoloji düzenleyici, stabilizör, yağ ikamesi, kıvam arttırıcı) kullanılabileceği ortaya konmuştur (Tekin vd., 2011).

Son yıllarda yapılan birçok çalışma ile nispeten uzun lifli hammaddelerden elde edilen selülozun hidroksil grupları (-OH) yağ asitleri ile esterleştirilerek biyo-bozunur ambalaj maddeleri üretilmiş ve kullanım olanakları araştırılmıştır (Almasi vd., 2015; Heredia-Guerrero vd., 2017; Robles vd., 2015; Satgé vd., 2004). Diğer taraftan, yapılan bir çalışmada, çeşitli bitkisel kaynaklardan selüloz içeriği yüksek liflerin üretilebileceği ve bu

liflerin kaproik, laurik, oleik ve stearik asit ile farklı derecelerde esterleştirilerek emülgatör özellikli selüloz-yağ asidi esterlerinin üretilebileceği kanıtlanmıştır (Erinç vd., 2023).

Buğday kepeği ticari olarak değerli bir ürün olsa da gıda sanayisi için katı artık olarak sayılabilecek olan bu bitkisel materyalin katma değeri yüksek ürünlere dönüşümünün sağlanmasının oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. Sunulan bu çalışma ile buğday kepeği ve bütirik asit kullanılarak daha önce üretimi gerçekleştirilmemiş yeni bir katkı maddesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bitkisel lif-bütirik asit esterlerinin bir gıda uygulaması olarak kek üretiminde emülgatör olarak kullanımı yine ilk kez bu çalışma kapsamında araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Selüloz içeriği yüksek liflerin eldesi

Bitkisel liflerin eldesi Tekin vd. (2011) tarafından belirlenen metot kullanılarak gerçekleştirilmiş olup delignifikasyon işleminden sonra blender yardımı ile selüloz içeriği yüksek bitkisel lifler elde edilmiştir. Bu amaçla buğday kepeği 80°C sıcaklıktaki NaOH içeren alkali (pH 12) saf su içine konulmuş ve 48 saat yapıda bulunan ligninin ayrılmasını sağlamak için bekletildikten sonra, saf su ile suyun koyu rengi giderilene kadar (pH 7) yıkanmıştır. Buradan elde edilen liflerin boyutları kolloit çözelti oluşturacak düzeylere blender yardımı ile küçültülmüştür. Elde edilen lifler dondurarak kurutma cihazı ile (-90°C) vakum altında kurutulmuş ve -85°C'de saklanmıştır.

Selüloz içeriği yüksek liflerde yapılan analizler

Lignin, protein ve selüloz tayini

Bitkisel liflerde selüloz içeriği Kürschner ve Hoffner yöntemine göre (Erinç vd., 2021) belirlenmiştir. Bu amaçla yaklaşık 3 g örnek, 1:4 (v/v) nitrik asit-etanol karışımı olan 150 mL ile işleme tabi tutuldu ve ardından 1 saat boyunca kaynatıldı. Filtreleme işleminden sonra, çözünmeyen kalıntı pH 7 olana kadar damıtılmış su ile yıkandı. Örneklerin lignin tayini TAPPI T 13 m-54 standardına göre, protein içeriği AOAC Official Method 920.87'a göre belirlenmiştir.

Su tutma kapasitesi tayini

Bitkisel liflerin su tutma kapasitesi analizi McConnell vd. (1974) tarafından belirlenen santrifüj metodu kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla her örnek için darası alınmış tüpe 1 g örnek ve 15 mL su eklenip karışımın 24 saat boyunca dengelemesi sağlandı. Ardından tüp, 1 saat boyunca 12,500×g hızında santrifüj edildi ve süpernatant (üstteki sıvı kısmı) uzaklaştırıldıktan sonra tüpler tartıldı ve sonuçlar örnek başına gram cinsinden su olarak elde edildi.

Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri

Elde edilen liflerin morfolojik yapıları altın-paladyum ile kaplandıktan sonra Zeiss/Evo 40 model (Jena, Almanya) taramalı elektron mikroskobu yardımıyla belirlenmiştir.

Bitkisel lif-bütirik asit esterleri sentezi

Selüloz içeriği yüksek buğday kepeği lifleri, bütirik asidin klorit tuzu ile karıştırıldıktan sonra Satgé vd. (2004) tarafından belirtilen yöntem kullanılarak esterleştirilmiştir. Bu amaçla buğday kepeğinden elde edilen 1 g buğday kepeği lifine karşılık 3 g Dimetilaminopridin (DMAP) ve 6 g bütirik asit klorit tuzu kullanılmıştır. Metot kapsamında selüloz lifi (2 g) önce 50 mL saf su, daha sonra metanol ve son olarak dimetilasetamid (DMAc) ile yıkandıktan sonra %6,7 LiCl içeren DMAc içerisinde 50°C'de (1 gün) çözündürülmüştür. Daha sonra örneklerin üzerine belirtilen miktarlarda DMAP ve yağ asidi klorit tuzları ilave edilmiş ve 80°C'ye ayarlanmış su banyosunda 75 rpm çalkalama hızında farklı sürelerde (30, 60, 120, 240 ve 360 dk) reaksiyonun gerçekleşmesi sağlanmıştır. Bu sayede süreye bağlı olarak 5 farklı esterleşme düzeyine sahip ürünlerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonunda ortama 25 mL metanol eklenmiş ve kaba filtreden süzülükten sonra vakum altında kurutularak esterler elde edilmiştir. Yağ asidi kalıntısı kalmaması için Randall metodu ile çalışan Behr E6 (Almanya) cihazı ile hekzan kullanılarak çözgen ekstraksiyonu işlemine tabi tutulmuştur. Sonrasında kalıntı hekzanın uçurulması için vakumlu etüv kullanılmıştır (60°C'de 24 saat).

Esterleşme derecesinin belirlenmesi

Üretilen her bir örneğin esterleşme derecesi volumetrik yöntem (Gourson vd., 1999) kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, üretimi yapılan esterler, 40 °C'de 16 saat 0,25M NaOH alkollü çözelti ile sabunlaştırılmıştır. Sonrasında ise 0.1 N hidroklorik asit ile titre edilmiş ve reaksiyona giren/girmeyen NaOH üzerinden aşağıdaki formül kullanılarak esterleşme derecesi belirlenmiştir.

$$\text{Esterleşme Derecesi (ED)} = \frac{M_{\text{glk}}}{(M_{\text{örnek}/n_{\text{ya}}} - (M_{\text{ya}} - M_{\text{s}}))}$$

M_{glk} = glukoz ünitesinin moleküler ağırlığı (162,14 g)

n_{ya} = yağ asidinin mol sayısı (titrasyonla hesaplanmıştır)

$M_{\text{örnek}}$ = Örnek miktarı (g)

M_{ya} = yağ asidinin moleküler ağırlığı (g)

M_{s} = Su molekülünün moleküler ağırlığı (g)

Karakterizasyon Analizleri*TGA Analizi*

Üretilen ürünlerin termogravimetrik analizleri Linseis STA PT1600 (Selb, Almanya) termogravimetri cihazı kullanılarak azot atmosferinde ve 10 °C/dakika ısıtma hızında gerçekleştirilmiştir.

FTIR Karakterizasyonu

Elde edilen ürünlerin FTIR ölçümlerinde IR Affinity-1 Spektrofotometre (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) kullanılmıştır. 4000-400 cm^{-1} dalgasayısı arasında spektrum taranmıştır.

Kek üretimi

Kek hamuru 100 g kek unu, 100 g şeker, 12 g yağsız süt tozu, 3 g tuz, 5 g kabartma tozu, 3 g emülgatör ve 90 g su içerecek şekilde hazırlanmıştır. Emülgatör olarak kontrol örneğinde ayçiçek lesitini, diğer örneklerde ise farklı oranlarda (5 farklı düzey) esterleştirilmiş bitkisel lif-bütirik asit esterleri kullanılmıştır. Kek hamuru hazırlanışı sırasında ilk önce bütün kuru bileşenler karıştırılmıştır. Başka bir kabin içerisinde eritilip soğutulmuş olan yağ ve şeker bir mikser yardımı ile 1 dakika boyunca düşük hızda karıştırılmıştır. Bu karışıma önceden hazırlanan kuru bileşen karışımı ve su eklenmiştir. Bu işlem

sonrasında karışım 1 dakika düşük hızda, 1 dakika orta hızda, ve daha sonra 2 dakika daha düşük hızda karıştırılmıştır. Elde edilen kek hamurları 100 g olacak şekilde yağlanmış kek kalıbına konulup 175°C'de 15 dakika pişirilmiştir.

Kek analizleri*Kuru madde analizi*

Kek örneklerinin kuru madde miktarları etüvde 105 °C sıcaklıkta örnekler sabit tartıma gelene kadar kurutulması ile gerçekleştirilmiştir.

Renk analizi

Kek örneklerinin dış renk değerleri (L^* , a^* ve b^*) renk ölçüm cihazı (Konica Minolta, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir.

Tekstür Profil Analizi

Kek örneklerinin tekstür profil analizi (TPA), tekstür analiz cihazına bağlanan baskı plakası altında, homojen gıda örneğinin arka arkaya iki kez sıkıştırılması ile gerçekleştirilmiş ve elde edilen verilerden gıdanın tekstürel özelliği hakkında bilgi veren sertlik, kırılma, kohesif yapışkanlık ve esneklik gibi birincil parametreler elde edilmiştir. Birincil parametreler kullanılarak da gamlılık ve çignenebilirlik gibi ikincil parametreler hesaplanmıştır. Kek örneklerinin tekstürel özelliklerinin belirlenmesinde TA-XT2i Texture Analyzer (Stable Mikro Systems Ltd, İngiltere) cihazı kullanılmıştır. Örneklerin TPA analizinde P/35 probu kullanılarak %25 derinliğe kadar baskı uygulanmıştır.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistic 22 programı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA**Bitkisel lif analiz sonuçları**

Lignin, protein, selüloz ve su tutma kapasitesi tayini sonuçları

Buğday kepeğinden elde edilen lifin selüloz içeriği 51.18 ± 0.51 , lignin içeriği 0.35 ± 0.12 ve protein içeriği 0.015 ± 0.07 olarak belirlenmiştir. Ayrıca buğday kepeğinden elde edilen lifin 6.20 ± 0.02 g H_2O /g su tutma kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir.

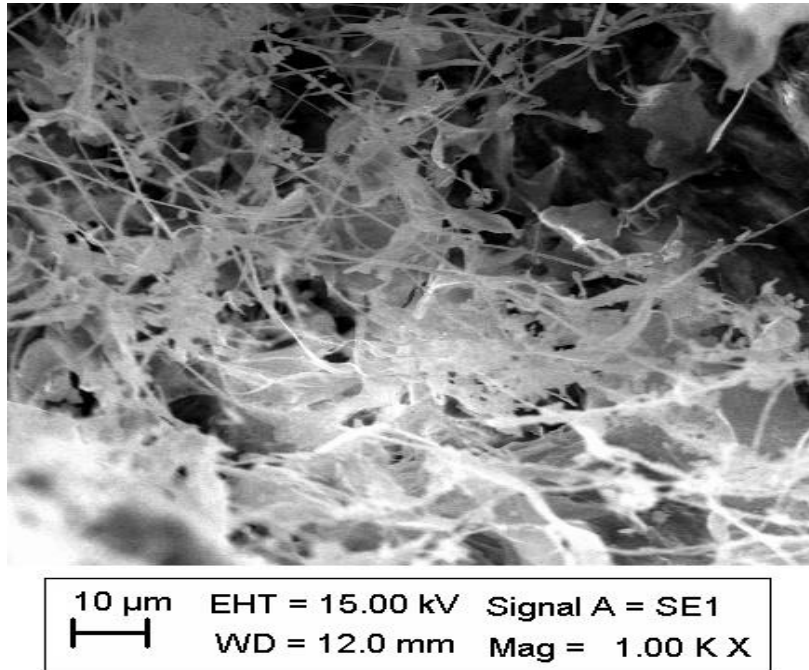
Jia vd., (2016) tarafından yapılan bir çalışmada mısır koçanından NaOH kullanılarak elde edilen liflerin selüloz miktarı mevcut çalışma sonuçlarından yüksek (%79,08) olarak belirlenmiştir. Ancak Bardak vd. (2020), delignifikasyon yapılmamış ayçiçek tablasının %39,02 selüloz içerdiğini tespit etmişlerdir (lignin içeriği %17,01).

Yine literatürde bulunan bir çalışmada delignifikasyon sonrası buğday kepeğinden %35.20±0.82 oranında selüloz içeren ürünlerin elde edildiği bildirilmiştir (Tekin vd., 2011). Benzer şekilde Erinç vd. (2018) yapmış oldukları bir çalışmada buğday kepeğinden elde edilen nanoliflerin selüloz içeriğini %35.60±0.85 olarak belirlemişlerdir. Sunulan bu çalışmada elde edilen buğday kepeği nanoliflerinin Erinç vd. (2018) tarafından elde edilen nanoliflerden daha yüksek

oranda selüloz içermesi nedeniyle daha yüksek su tutma kapasitesine (su tutma kapasitesi 5.95 ± 0.25 g H₂O/g) sahip olduğu belirlenmiştir.

Taramalı elektron mikroskobu görüntü analizi

Bitkisel liflerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 1'de verilmiştir. Bu görüntüden de anlaşıldığı üzere elde edilen lifler ipliksi yapılardan oluşmaktadır. Bu ipliksi yapılar sayesinde nanoliflerin yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu düşünülmektedir. Resimden de görülebileceği gibi yapı tam bir ağ yapısı haline dönüşmüş ve yüzey alan son derece artmıştır. Yüzey alandaki artış liflerin su tutma kapasitelerini de önemli miktarlarda artırmıştır. Şekil 1'de verilen ölçü çizgisinin 10 mikrometre olduğu göz önüne alınırsa liflerin enlerinin nano metre boyutlarında olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 1. Buğday kepeğinden elde edilen nanoliflerin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü
Figure 1. Scanning electron microscope image of nanofibers obtained from wheat bran

Nanoselüloz yağ asidi esterleri analiz sonuçları

Esterleşme derecesi ve su tutma kapasitesi

Selülozu oluşturan glikoz ünitelerinde 3 adet reaktif hidroksil (OH) grubu olduğu göz önüne alındığında esterleşme derecesi en fazla 3 olabilir.

Nitekim yapılan analizler sonucunda esterleşme derecelerinin reaksiyon süresine bağlı olarak 0.67-1.80 arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 1). Çizelgeden de görüldüğü üzere reaksiyon süresi arttıkça esterleşme dereceleri artmış ancak buna bağlı olarak ürünlerin su tutma kapasiteleri

azalmıştır. Bu durum selülozun serbest –OH gruplarının bütirik asit ile esterleşmesi ile açıklanabilir. Nitekim sonuçlardan da görüldüğü üzere en yüksek su tutma kapasitesi esterleşme

derecesi en az olan örneğe ait iken en düşük su tutma kapasitesi esterleşme derecesi en çok olan örneğe ait bulunmuştur.

Çizelge 1. Nanolif yağ asidi esterlerinin esterleşme dereceleri ve su tutma kapasitesi sonuçları
Table 1. Results of esterification degrees and water holding capacities of nanofiber fatty acid ester

Örnek Sample	Reaksiyon Süresi (dakika) Reaction Time (minute)	Esterleşme Derecesi Esterification Degree	Su tutma kapasitesi Water Holding Capacity (g H ₂ O/g)
1	30	0.67±0.01 ^a	4.75±0.03 ^e
2	60	1.01±0.01 ^b	4.05±0.01 ^d
3	120	1.36±0.01 ^c	3.27±0.02 ^c
4	240	1.65±0.02 ^d	2.72±0.02 ^b
5	360	1.80±0.01 ^e	2.50±0.03 ^a

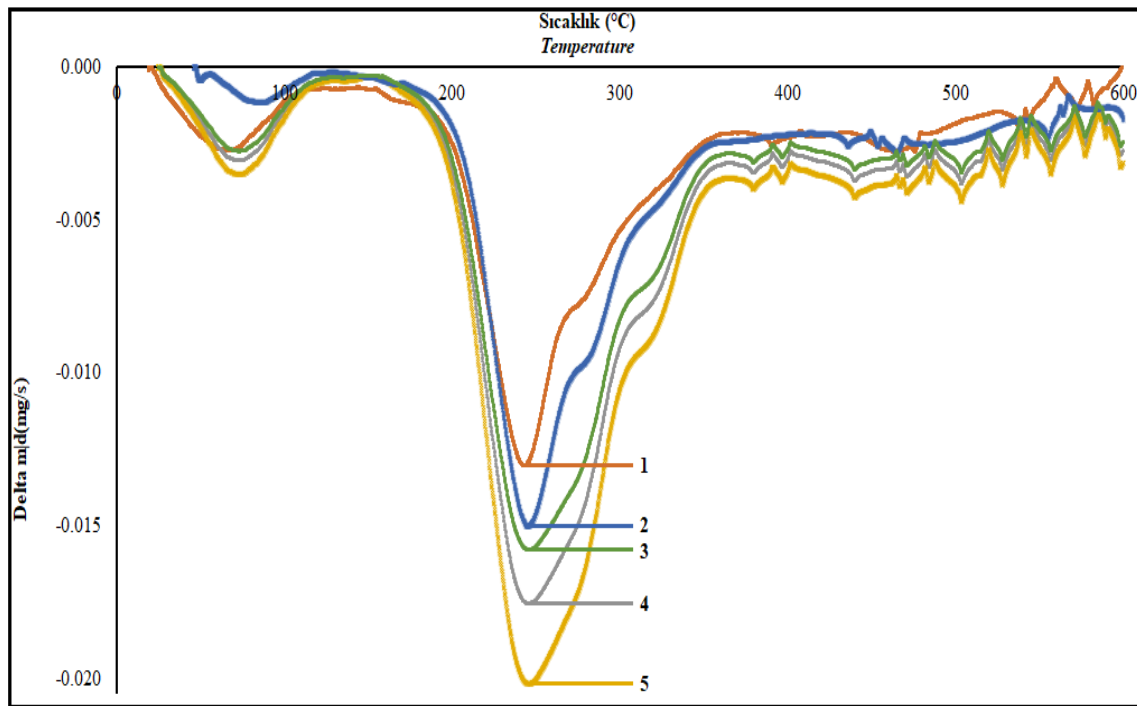
^a Aynı sütunda farklı üst simge ile gösterilen örnekler istatistiki olarak farklıdır ($P<0.05$).

^a Samples indicated with different superscripts in the same column are statistically different ($P<0.05$).

TGA Analizi

Şekil 2'de nanolif yağ asidi esterlerinin TGA analiz sonuçları verilmiştir. Şekilden de görüldüğü üzere

esterleşme dereceleri arttıkça ürünlerin 200-300 °C sıcaklıktaki kütle kaybı artış göstermiştir. Yani termal stabilite azalma gerçekleşmiştir.

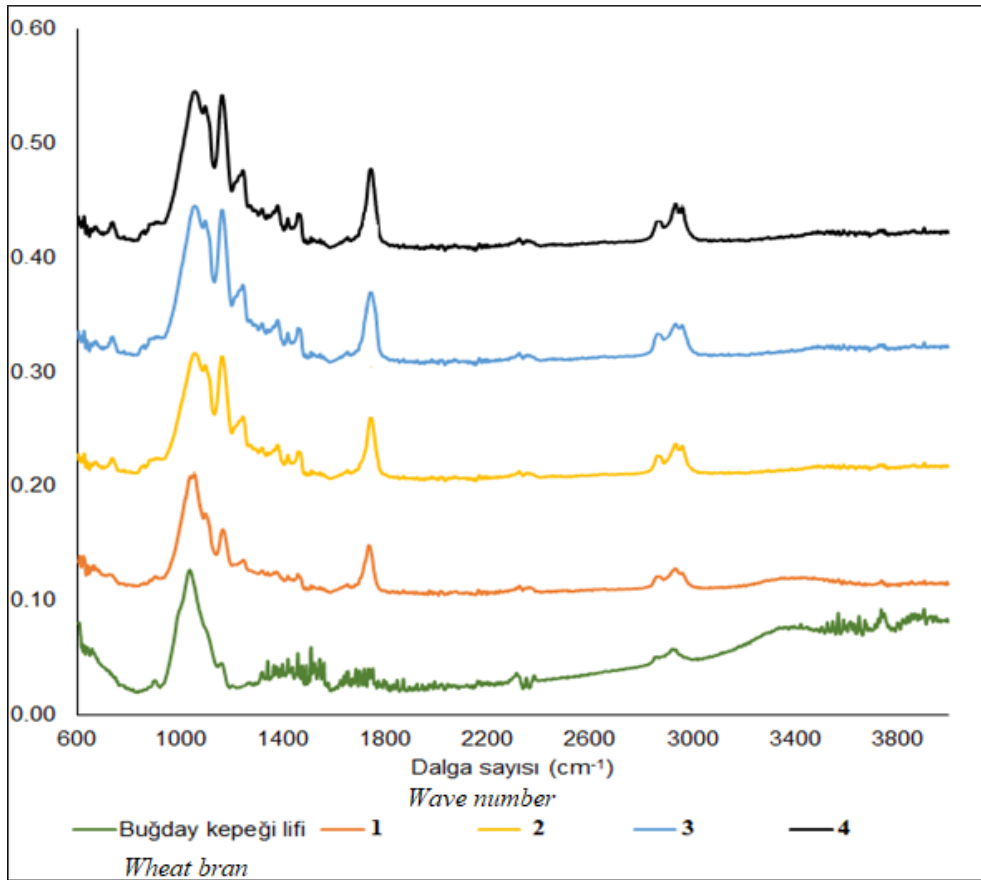


Şekil 2 Nanolif yağ asidi esterlerinin TGA analiz sonuçları,
Figure 2. TGA analysis results of nanofiber fatty acid esters

FTIR Karakterizasyonu

Elde edilen ürünlerin FTIR ölçümlerinde KBr ile hazırlanan pelletler kullanılmış olup 4000-400 cm^{-1} dalga sayısı arasında spektrum taranmıştır. Farklı esterleşme derecesine sahip 5 örneğin FTIR spektrumları Şekil 3'de verilmiştir. FTIR spektrumunda selüloz yapısına ait pikler; 3400 cm^{-1} , 2900 cm^{-1} , 1430 ve 896 cm^{-1} pikleridir (Kanwar vd., 2021; Reddy ve Rhim, 2014; Wang vd., 2021). Mevcut örneklerin ilgili dalga sayılarında alınan bu piklere sahip olması, temel selüloz yapısının korunduğunu göstermiştir.

FTIR sonuçlarında esterleşme derecesi ile artan 1700-1800 cm^{-1} arasındaki pik bir karbonil ester bağının varlığı gösterir ve açıl bağlanmasının gerçekleştiğini doğrulamaktadır. 2800-3000 cm^{-1} arasındaki iki pik alkil grubundaki C-H bağlarıyla ilgilidir ve yağ asitlerinin bağlandığının göstergesidir. Şekillerden görüldüğü üzere yağ asidinin zincir uzunluğu arttıkça C-H bağlarını gösteren piklerin boyutları artmıştır. Ayrıca 3400 cm^{-1} O-H titreşim bandının azalması da esterleşmenin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Freire vd., 2006; Guo vd., 2012; Lease vd., 2021; Wei vd., 2017).



Şekil 3. Nanolif yağ asidi esterlerinin FTIR analiz sonuçları

Figure 3. FTIR analysis results of nanofiber fatty acid esters

Kek örnekleri analiz sonuçları

Kuru madde ve renk analizi sonuçları

Kek örneklerinin kuru madde ve renk değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Sonuçlardan da görüldüğü üzere renk değerleri ve kuru madde

içerikleri tüm örneklerde benzer bulunmuştur. Dolayısıyla kek formülasyonuna emülgatör olarak eklenen nanolif-bütirik asit esterleri son ürünün renk ve kurumadde değerlerini istatistikî olarak etkilememiştir ($P<0.05$).

Çizelge 2. Kek örneklerinin kuru madde ve renk tayini sonuçları
Table 2. Results of dry matter and color for cake samples.

Örnekler Samples	L*	a*	b*	Kuru madde Dry matter (%)
Kontrol, <i>Control</i>	45.72±3.63 ^a	7.07±2.17 ^a	20.12±0.80 ^a	79.28±1.69 ^a
Kek1, <i>Cake1</i>	45.20±4.26 ^a	6.63±2.02 ^a	19.78±0.74 ^a	80.02±1.12 ^a
Kek2, <i>Cake2</i>	45.62±5.12 ^a	6.01±2.02 ^a	19.32±1.22 ^a	79.62±1.64 ^a
Kek3, <i>Cake3</i>	47.64±2.68 ^a	5.01±1.56 ^a	19.29±0.47 ^a	78.94±1.05 ^a
Kek4, <i>Cake4</i>	48.34±2.13 ^a	5.07±0.53 ^a	20.50±0.47 ^a	78.23±1.14 ^a
Kek5, <i>Cake5</i>	50.63±1.73 ^a	5.53±1.32 ^a	20.36±0.51 ^a	78.55±0.97 ^a

^a Aynı sütunda farklı üst simge ile gösterilen örnekler istatistiki olarak farklıdır ($P<0.05$).

^a Samples indicated with different superscripts in the same column are statistically different ($P<0.05$).

Tekstür Profil Analizi

Kek örneklerinin TPA analiz sonuçları Çizelge 3'de verilmiş olup sonuçlardan da görüldüğü üzere emülgatör olarak nanolif-bütirik asit

esterlerinin kullanımı ile sertlik, gamlılık, kohesif yapışkanlık ve çiğnenabilirlik değerleri bir miktar azalmış ancak diğer tekstürel parametreler değişmemiştir.

Çizelge 3. Kek örneklerinin TPA analiz sonuçları
Table 3. TPA (Texture Profile Analysis) analysis results of cake samples.

	Sertlik Hardness (g)	Adhesif Yapışkanlık Adhesiveness (g.s)	Elastikiyet Springiness	Kohesif Yapışkanlık Cohesiveness	Gamlılık Gumminess	Çiğnenbilirlik Chewiness
Kontrol, <i>Control</i>	3017±73 ^c	727±27 ^a	0.904±0.03 ^a	0.485±0.0006 ^d	1463±70 ^b	1323±58 ^b
Kek1, <i>Cake1</i>	2422±70 ^b	650±61 ^a	0.954±0.08 ^a	0.484±0.008 ^d	1172±78 ^a	1118±59 ^a
Kek2, <i>Cake2</i>	2291±55 ^a	644±58 ^a	0.945±0.04 ^a	0.481±0.007 ^c	1102±84 ^a	1041±46 ^a
Kek3, <i>Cake3</i>	2260±52 ^a	660±25 ^a	0.955±0.01 ^a	0.481±0.007 ^c	1087±48 ^a	1038±57 ^a
Kek4, <i>Cake4</i>	2210±58 ^a	661±57 ^a	0.954±0.03 ^a	0.479±0.003 ^b	1059±29 ^a	1010±38 ^a
Kek5, <i>Cake5</i>	2176±22 ^a	656±51 ^a	0.942±0.02 ^a	0.477±0.019 ^a	1038±44 ^a	978±59 ^a

^a Aynı sütunda farklı üst simge ile gösterilen örnekler istatistiki olarak farklıdır ($P<0.05$).

^a Samples indicated with different superscripts in the same column are statistically different ($P<0.05$).

SONUÇ

Buğday kepeğinden elde edilen nanolifin selüloz içeriği %51.18±0.51, lignin içeriği %0.35±0.12 ve protein içeriği %0.015±0.07 olarak belirlenmiştir. Ayrıca buğday kepeğinden elde edilen nanoliflerin 6.20±0.02 g H₂O /g su tutma kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Taramalı elektron mikroskopu görüntülerinden anlaşıldığı üzere elde edilen nanolifler iplikli yapılardan oluşmaktadır. Bu iplikli yapılar sayesinde nanoliflerin yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu düşünülmektedir. Yüzey alandaki artış liflerin su tutma kapasitelerini de önemli miktarlarda artırmıştır. Esterleşme derecelerinin reaksiyon süresine bağlı olarak 0.67-

1.80 arasında değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca reaksiyon süresi arttıkça esterleşme dereceleri artmış ancak buna bağlı olarak ürünlerin su tutma kapasiteleri azalmıştır. TGA analizinden görüldüğü üzere esterleşme dereceleri arttıkça ürünlerin termal stabiliteleri azalmıştır. FTIR sonuçlarında esterleşme derecesi ile artan 1700-1800 cm⁻¹ arasındaki pik açılmasının başarı ile gerçekleştiğini doğrulamaktadır. 2800-3000 cm⁻¹ arasındaki iki pik yağ asitlerinin bağlanmasının göstergesidir. Sonuçlardan görüldüğü üzere yağ asidinin zincir uzunluğu arttıkça C-H bağlarını gösteren piklerde artış görülmektedir. Kek örneklerinde ise renk

değerleri ve kuru madde içerikleri tüm örneklerde benzer bulunmuş ancak sertlik, gamlılık ve çignenebilirlik değerlerinde bir miktar azalma gözlemlenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZAR KATKILARI

Hakan ERİNÇ buğday kepeğinden nanoliflerin üretimini, Hakan ERİNÇ ve Sena EROL nanoliflerin esterleştirme reaksiyonlarını, kek üretimini ve analizlerini gerçekleştirmiştir. Tüm yazarlar tarafından makalenin son hali okunmuş ve onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Yazarlar, projeye destek sağladığı için TÜBİTAK'a (Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı, Proje no: 1919B012202418) teşekkür eder.

KAYNAKLAR

Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., Dehghannya, J., Entezami, A. A., Asl, A. K. (2015). Novel nanocomposites based on fatty acid modified cellulose nanofibers/poly(lactic acid): Morphological and physical properties. *Food Packaging and Shelf Life*, 5, 21–31. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2015.04.003>

Bardak, S., Nemli, G., Bardak, T., Peker, H. (2020). Possibilities of Using Sunflower Tray in Particleboard Industry. *Journal of Bartin Faculty of Forestry*, 22(2), 485–499. <https://doi.org/10.24011/barofd.685838>

Erinç, H., Mert, B., Tekin, A. (2018). Different sized wheat bran fibers as fat mimetic in biscuits: its effects on dough rheology and biscuit quality. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 3960–3970. <https://doi.org/10.1007/S13197-018-3321-9>

Erinç, Ö., Erinç, H., Mert, B., Özbey, A. (2021). Optimization of nanocellulose esterification with different fatty acids and acetic anhydride in lithium chloride/dimethylacetamide medium. *GIDA/The Journal of Food*, 46(6), 1467–1480. <https://doi.org/10.15237/GIDA.GD21118>

Erinç, Ö., Erinç, H., Mert, B., Özbey, A. (2023). Optimization of nanofiber-caproate/laurate esters synthesis, their characterization, and usage as emulsifier in o/w emulsion. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. <https://doi.org/10.1002/AOCS.12722>

Freire, C. S. R., Silvestre, A. J. D., Neto, C. P., Belgacem, M. N., Gandini, A. (2006). Controlled heterogeneous modification of cellulose fibers with fatty acids: Effect of reaction conditions on the extent of esterification and fiber properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 100(2), 1093–1102. <https://doi.org/10.1002/APP.23454>

Gourson, C., Benhaddou, R., Granet, R., Krausz, P., Verneuil, B., Branland, P., Chauvelon, G., Thibault, J. F., Saulnier, L. (1999). Valorization of Maize Bran to Obtain Biodegradable Plastic Films. *Journal of Applied Polymer Science*, 74(13), 3040–3045. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4628\(19991220\)74:13](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19991220)74:13)

Guo, Y., Wang, X., Li, D., Du, H., Wang, X., Sun, R. (2012). Synthesis and characterization of hydrophobic long-chain fatty acylated cellulose and its self-assembled nanoparticles. *Polymer Bulletin*, 69(4), 389–403. <https://doi.org/10.1007/S00289-012-0729-7>

Heredia-Guerrero, J. A., Goldoni, L., Benítez, J. J., Davis, A., Ceseracciu, L., Cingolani, R., Bayer, I. S., Heinze, T., Koschella, A., Heredia, A., Athanassiou, A. (2017). Cellulose-polyhydroxylated fatty acid ester-based bioplastics with tuning properties: Acylation via a mixed anhydride system. *Carbohydrate Polymers*, 173, 312–320. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2017.05.068>

Jia, F., Liu, H., Zhang, G. (2016). Preparation of Carboxymethyl Cellulose from Corn cob. *Procedia Environmental Sciences*, 31, 98–102. <https://doi.org/10.1016/J.PROENV.2016.02.013>

Kanwar, S., Ali, U., Mazumder, K. (2021). Effect of cellulose and starch fatty acid esters addition on microstructure and physical properties of arabinoxylan films. *Carbohydrate Polymers*, 270, 118317. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2021.118317>

- Lease, J., Kawano, T., Andou, Y. (2021). Esterification of Cellulose with Long Fatty Acid Chain through Mechanochemical Method. *Polymers*, 13(24). <https://doi.org/10.3390/POLYM13244397>
- McConnell, A. A., Eastwood, M. A., Mitchell, W. D. (1974). Physical characteristics of vegetable foodstuffs that could influence bowel function. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25(12), 1457–1464. <https://doi.org/10.1002/JSFA.2740251205>
- Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., Youngblood, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 40(7), 3941–3994. <https://doi.org/10.1039/C0CS00108B>
- Reddy, J. P., ve Rhim, J. W. (2014). Characterization of bionanocomposite films prepared with agar and paper-mulberry pulp nanocellulose. *Carbohydrate Polymers*, 110, 480–488. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2014.04.056>
- Robles, E., Urruzola, I., Labidi, J., Serrano, L. (2015). Surface-modified nano-cellulose as reinforcement in poly(lactic acid) to conform new composites. *Industrial Crops and Products*, 71, 44–53. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.03.075>
- Satgé, C., Granet, R., Verneuil, B., Branland, P., Krausz, P. (2004). Synthesis and properties of biodegradable plastic films obtained by microwave-assisted cellulose acylation in homogeneous phase. *Comptes Rendus Chimie*, 7(2), 135–142. <https://doi.org/10.1016/J.CRCI.2003.11.003>
- Siró, I., ve Plackett, D. (2010). Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. *Cellulose* 2010 17:3, 17(3), 459–494. <https://doi.org/10.1007/S10570-010-9405-Y>
- Tekin, A., Mert, B., Erinç, H., Koçak, G., Bigikoçin, E., Şahin, E., Ketenoğlu, O. (2011). *Bitkisel kökenli atıklardan mikro-akışkan yöntemiyle nano boyutlarda reoloji düzenleyicilerinin üretilmesi: Emülsiyonlarda, kolloitlerde ve hamur ürünlerinde kullanılması.* <https://open.metu.edu.tr/handle/11511/49515>
- Wang, X., Wang, N., Xu, B., Wang, Y., Lang, J., Lu, J., Chen, G., Zhang, H. (2021). Comparative Study on Different Modified Preparation Methods of Cellulose Nanocrystalline. *Polymers* 2021, Vol. 13, Page 3417, 13(19), 3417. <https://doi.org/10.3390/POLYM13193417>
- Wei, L., Agarwal, U. P., Hirth, K. C., Matuana, L. M., Sabo, R. C., Stark, N. M. (2017). Chemical modification of nanocellulose with canola oil fatty acid methyl ester. *Carbohydrate Polymers*, 169, 108–116. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2017.04.008>

**EFFECT OF DIFFERENT DRYING TECHNIQUES ON THE BIOACTIVE,
COLOR, ANTIBACTERIAL AND SENSORY FEATURES OF DATE PLUM
FRUITS (*DIOSPYROS LOTUS*L.)**

Hamza Goktas*

Istinye University, Vocational School, Food Technology Program, İstanbul, Türkiye

Received /Geliş: 08.09.2023; Accepted /Kabul: 01.11.2023; Published online /Online baskı: 15.11.2023

Goktas, H. (2023). Effect of different drying techniques on the bioactive, color, antibacterial and sensory features of date plum fruits (*Diospyros lotus* L.). *GIDA* (2023) 48 (6) 1254-1263 doi: 10.15237/gida.GD23105

Goktas, H. (2023). Farklı kurutma tekniklerinin hurma eriği meyvelerinin (*Diospyros lotus* L.) biyoaktif, renk, antibakteriyel ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2023) 48 (6) 1254-1263 doi: 10.15237/gida.GD23105

ABSTRACT

In this study, the effects of hot air drying (HD), vacuum drying (VD) and freeze drying (FD) processes on total phenolic (TPC) and flavonoid contents (TFC), antioxidant capacity (AC), color and antibacterial properties and sensory evaluation of date plum (DP) fruit were determined. Total phenolic, total flavonoid and antioxidant capacity values of dried and fresh samples were determined as 13.86-7.45 mg GAE/g, 7.17-4.09 mg CE/g and 86.60-54.98%, respectively. The highest inhibition levels against *Bacillus cereus* (24.50 mm) and *Salmonella* Typhimurium (24.67 mm), *Yersinia enterocolitica* (25.75 mm) and *Staphylococcus aureus* (25.17 mm) were determined for HD and VD, respectively. In terms of sensory evaluation, FD drying was scored similarly to fresh samples ($P>0.05$). Overall, FD drying could be applied for longer preservation of DP fruits in terms of bioactive properties, color and sensory evaluation.

Keywords: Date plum, drying techniques, bioactive properties, antibacterial properties, sensory evaluation

**FARKLI KURUTMA TEKNİKLERİNİN HURMA ERİĞİ MEYVELERİNİN
(*DIOSPYROS LOTUS*L.) BİYOAKTİF, RENK, ANTİBAKTERİYEL VE
DUYUSAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

ÖZ

Bu çalışmada sıcak havayla kurutma, vakumla kurutma ve dondurarak kurutma işlemlerinin hurma eriği meyvesinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri, antioksidan kapasitesi, renk ve antibakteriyel özellikler üzerine etkileri ve duyuşal değerlendirme belirlenmiştir. Kurutulmuş ve taze örneklerin toplam fenolik, toplam flavonoid ve antioksidan kapasitesi değerleri sırasıyla 13.86-7.45 mg GAE/g, 7.17-4.09 mg CE/g ve %86.60-54.98 olarak tespit edilmiştir. *Bacillus cereus* (24.50 mm) ve *Salmonella* Typhimurium (24.67 mm) için en yüksek inhibisyon seviyesi sıcak havayla kurutulmuş örneklerden elde edilen ekstraktlarda, *Yersinia enterocolitica* (25.75 mm) ve *Staphylococcus aureus* (25.17 mm) için ise vakum kurutma ile kurutulmuş örneklerden elde edilen ekstraktlarda en yüksek inhibisyon seviyeleri belirlenmiştir. Duyusal değerlendirme açısından dondurarak kurutma taze numunelere benzer şekilde puanlanmıştır ($P>0.05$). Bu çalışmadan elde edilen bulgular biyoaktif özellikler, renk ve duyuşal değerlendirme açısından hurma eriği meyvelerinin daha uzun süre korunması için dondurarak kurutmanın uygulanabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Hurma eriği, kurutma teknikleri, biyoaktif özellikler, antibakteriyel özellikler, duyuşal değerlendirme

* Corresponding author/ Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: hamzagoktas@yandex.com

Hamza Goktas; ORCID no: 0000-0001-9802-9378

☎: (+90) 537 910 7765

INTRODUCTION

The date plum (*Diospyros lotus* L.), a member of the *Ebenaceae* family, is native to the Asian continent and is grown in various countries (Hassan et al., 2022). Ripe DP fruits are collected for their eatable, nourishing and therapeutic features (Hassan et al., 2022). DP fruits offer some useful effects on human health such as antidiabetic, antiseptic, antidiarrhea, dry cough suppressant and blood pressure regulator (Uddin et al., 2014). Also, in alternative Chinese medicine, DP fruits are used to as antifebrile and for becoming calming (Gao et al., 2014). The aforementioned healthy features of the DP are due to its phenolic substances including some hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids and flavanoids. (Gao et al., 2014; Ayaz et al., 1997). It is necessary to increase the storage time of DP fruits in order to offer stated health benefits by using preservation techniques.

Date plum is seasonal fruit and inherently exposed and quickly to biological, biochemical and microbiological alterations (Hassan et al., 2022). Therefore, the most basic method could be used to reduce the water content of the date plum in order to prevent stated alterations is the application of drying techniques. Different drying processes like hot air drying, vacuum drying and freeze drying have been applied for the preservation of fruits and vegetables (Kayacan et al., 2020; Goztepe et al., 2022; Argyropoulos et al., 2011). Each drying technique has its own advantages and disadvantages. For example; HD is the most preferred method for its low cost and simply uses, on the other hand, FD is not much choosed because it is a long and high cost method and not easy to apply (Wojdyło et al., 2016; Kayacan et al., 2020). Although HD may cause some undesired conditions such as corruption of secondary metabolites and loss of nutritional and sensorial characteristics, FD is considered the best drying process as it preserves the nutritional and visual features of foods (Wojdyło et al., 2016; Kayacan et al., 2020). Water in foods can be evaporated by VD at lower temperatures, and also it raises drying rate by speeding up water transfer (Başlar et al., 2015). However, if the food has a high water content, higher temperatures will be

required for VD to dry the inner part (Tekin et al., 2017). Thus, the effects of varied drying processes on the bioactive and color features and sensory evaluation of foods should be determined, and drying technique alternatives specific to each food should be created.

In the last two decades, interest in drying methods has increased in order to improve the final product quality of seasonal and perishable products and to obtain longer shelf life (Petikirige et al., 2022). Studies about drying have substantially focused on drying kinetics, modelling, positive effect on health and physiochemical features of dried products. However, limited number of studies has been carried out to understand between sensory quality and different drying techniques (Petikirige et al., 2022). With this study, the effects of HD, VD and FD processes on the bioactive features, color properties and sensory evaluation of DP fruits were investigated. In addition, the antibacterial effects of the extracts obtained from different drying techniques on some pathogenic bacteria were determined.

MATERIALS AND METHODS

Materials

DP fruits were harvested from Erzurum, Turkey. For analysis and drying, DP fruits of similar elliptical or round shape (approximately 4-5 cm in size), ripe and of similar colour were selected and stored at 4 °C until different drying techniques were applied. For analyzes Merck (Darmstad, Germany) chemical products were used.

Applying Different Drying Techniques

Three different techniques, (HD, VD and FD), were applied to dry to DP fruits and results were compared to fresh DP fruits. Before drying, DP fruits were divided into two equal slices with a knife and approximately 9- 11 grams of fruits were placed in tared porcelain cups. HD (Mikrotest, MST-55, Turkey) and VD (JP Selecta, Vaciotem-T, Spain) were applied at 55 °C air temperatures. The evaporated water (%) for HD and VD drying techniques was calculated based on moisture loss (%) during drying process at 4-hour intervals with using the following formula.

The drying process was applied to DP fruit samples for HD and VD techniques until the total moisture content was reached at 20%, and total moisture content of the samples were determined by equation below. However, the FD was carried out according to the standard fruit drying program installed in the freeze dryer (Christ, Alpha 1-2 LDplus, Germany) at $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ and 0.054 mbar for 72 h and at the end of the drying program, DP fruits were weighed to determine the moisture content of samples. The weight of DP fruit samples was recorded by a precision balance (Mettler Toledo, Switzerland). The drying processes were carried out in 4 different repetitions, and drying graphs were created by expressing the results in terms of average (\pm) standard error.

Moisture content (%) = $(M_2 - M_1) / (M_2 - M_3) * 100$
 Evaporated water (%) = Total moisture content (%) - Moisture content (%) at 4-hour intervals
 M_1 :tare of drying container
 M_2 :fresh DP fruit+drying container
 M_3 :dried DP fruit+drying container

Extraction Process of DP Fruits

Five grams of fresh and dried DP fruits were mixed with solvent methanol:water (1:1, v/v) at a ratio of 1:9 (solid material to solvent) and homogenized for 2 minutes with hand blender. Then, the mixtures were extracted by magnetic stirrer for 2 hours at room temperature. To obtain a clear supernatant, extracts were centrifuged (Hitachi, CF15RN, Japan) at 14,200 rpm for 15 minutes at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, filtered by a $0.45\text{ }\mu\text{m}$ filter and stored $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analyzes.

Total Phenolic Content

TPC of the DP fruits was determined according to Singleton and Rossi (1965). DP fruits extracts, Folin Ciocelteau's phenol reagent and sodium carbonate (7.5%, w/v) were mixed at volume of 0.5, 2.5 and 2 mL, respectively. The mixtures were stood at ambient temperature for 30 minutes, absorbance values were recorded at 765 nm (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Scientific, USA). The results were presented in milligrams of gallic acid equivalent per/g (mg GAE/g).

Antioxidant Activity

A method was adopted described by Singh et al. (2002) to determine antioxidant activity of DP fruits. Briefly, 0.1 mM DPPH solution was prepared by methanol and 200 μL extract was mixed with 1.6 mL DPPH solution. After incubated for 20 min at ambient temperature in darkness place, absorbance values were recorded at 517 nm. Using following equation % antioxidant activity of DP fruits were determined:

$$\% \text{ Antioxidant Activity} = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}} * 100$$

A_{blank} : Absorbance value of methanolic DPPH solution

A_{sample} : Absorbance value of DP fruit extracts

Total Flavonoid Content

TFC of DP fruits were determined by defined Zhishen et al. (1999) with some modifications. Briefly, 0.25 mL DP fruits extracts were mixed with 1.25 mL pure water, 0.075 mL sodium nitrite (5%), 0.150 mL aluminum chloride (10%) and 0.5 mL sodium hydroxide (1M) and 0.275 mL pure water added to mixture. Finally, absorbance values of the extracts were recorded at 415 nm. Results were given in mg catechin equivalent per/g (mg CE/g).

Color Parameters

Color parameters L^* (brightness), a^* (red (+) to green (-)), b^* (yellow (+) to blue (-)), C^* (Chroma) and h° (hue angle) of DP fruits were determined with colorimeter (3nh NR200, Shenzhen, China). For color measurement, 4 different fresh and dried fruit samples were selected and measurements were carried out two different points of the outer shell of the samples. Results are given in mean (\pm) standard deviation.

Antibacterial Activity

Antibacterial activity of fresh and dried DP fruits on some pathogenic bacteria was determined according to the method described by Goktas et al. (2021). Firstly, DP fruit extracts were filtered by $0.22\text{ }\mu\text{m}$ to sterilize. Overnight bacteria of *Bacillus cereus* BC 6830, *Salmonella* Typhimurium RSK 95091, *Staphylococcus aureus* ATC 25923 and *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729 were inoculated in nutrient agar at 1% ratio and agars containing

pathogenic bacteria were poured into petri dishes. Then, agars were perforated using the number 2 cork borer and 150 μ L of extract was placed in the holes. A methanol:water mixture was used as the control group. Finally, petri dishes were incubated for 24 h at 37°C and inhibition zones were measured. Antibacterial activity analysis was performed as three parallels of two replications for each pathogen, and the zones formed were expressed in mm.

Sensory Evaluation

Sensorial evaluation of dried DP fruits was actualized with 10 panelists who were informed about study (aim of the study, applied drying techniques were used, etc.) and requested to compared with fresh DP fruit. A 5-scale hedonic scale was prepared and the panelists were asked to evaluate the samples according to the parameters of color and appearance, odor, taste, chewiness (tissue crispness) and general acceptability. At last, scoring was done from 1 to 5 (very liked=5, liked=4, not bad=3, bad=2, very bad=1) (Mahjoorian et al., 2017). Sensorial evaluation protocol was reviewed and approved by the Istinye University Food Technology Department.

Statistical Analysis

Statistical differences between the samples were determined by using statistical programme of JMP software. Results were expressed as mean plus standard deviation of the replicates. Student's t test at 95% importance level was carried out to estimate the effect of varied drying processes and compared to fresh samples.

RESULTS AND DISCUSSION

Relationship Between Drying Technique, Moisture Content and Drying Time

The primary aim of drying techniques is to prevent of microbial growth and eliminate enzymatic changes by means of a decreasing in the moisture content and water activity and so to preserve the products for a long time (Alp and Bulantekin, 2021). For this, the total dry matter content of fresh date plums was determined for an effective drying. Total dry matter of fresh date plum products was calculated by taking the average of 5 independent parallels and it was

determined that has an average of 51.27% dry matter. The drying processes (HD and VD) were applied until the total moisture content of the fresh date plum samples was reduced to approximately 20% (20.46 ± 1.11 and 21.24 ± 2.21 for HD and VD, respectively) and the results are shown in Figure 1. To obtain the expressed moisture content, 28 hours of drying time was applied for both HD and VD drying, but to obtain the desired moisture content for FD standard freeze drying procedure was applied until 72 h, and at the completion of the standard freeze-drying procedure, the moisture content reached a total of $20.74\pm 2.04\%$. Different drying times have been reported for different fruits in the literature. Kayacan et al. (2020) reported that drying time for persimmon fruits as 4, 5 and 12 h for hot air drying (HAD), ultrasound assisted vacuum drying (UAVD) and infrared drying (IR), respectively. Also, for pomegranate arils these times were reported for HAD, VD and UAVD as 15.8, 10.8 and 8.5 h (Ozay-Arancioglu et al., 2021). However, compared to literature drying times, in our study, for HD and VD were similar. The difference in the required times for drying of fruits could be explained by differences in the water content or the amount of soluble substances of the fruits.

TPC, TFC, AC of DP Fruits

Total phenolic and flavonoid contents of the DP fruits are shown in the Figure 2. The TPC values were found 7.45 ± 0.06 , 10.09 ± 0.12 , 11.67 ± 0.03 and 13.85 ± 0.02 mg GAE/g for fresh, HD, VD and FD drying, respectively. The maximum TPC value was recorded for FD drying, followed by VD drying, but the lowest TPC value was detected in fresh samples. Drying methods affected the TPC results of the samples and increased compared to the fresh samples. Among the drying processes applied, the lowest TPC values were determined for HD drying. In addition, the statistical difference between TPC values of samples was found to be significant ($P\leq 0.05$). Similar findings have been cited in many studies on drying, and it has been stated that FD is the best drying method (Goztepe et al., 2022; Kayacan et al., 2020; Ozay-Arancioglu et al., 2021; Turkmen et al., 2020).

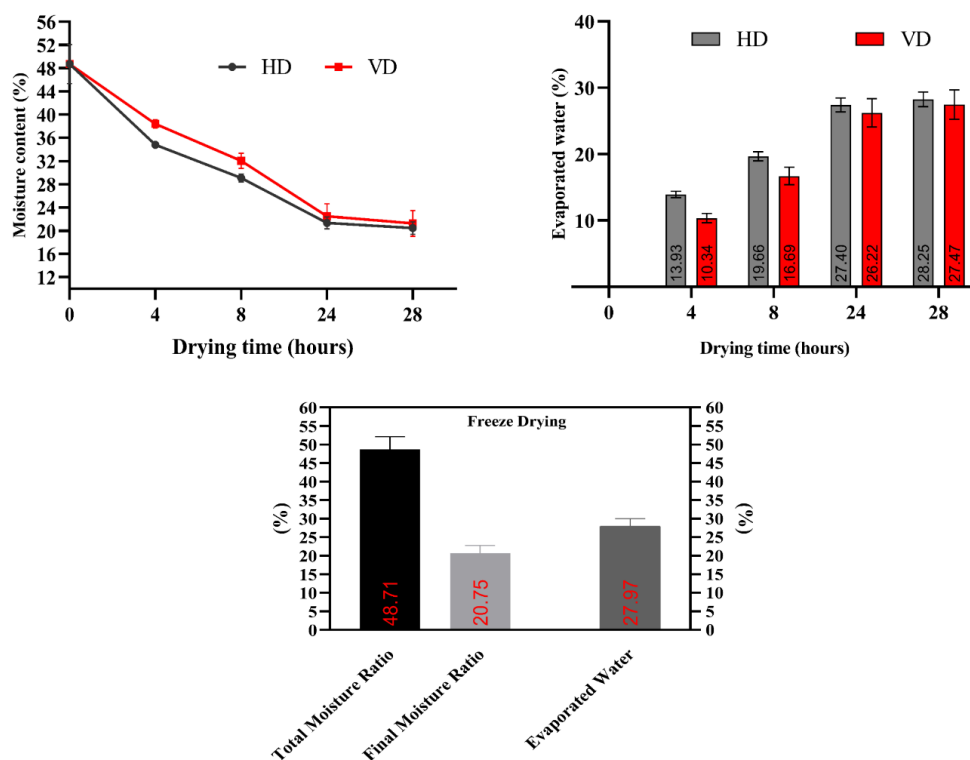
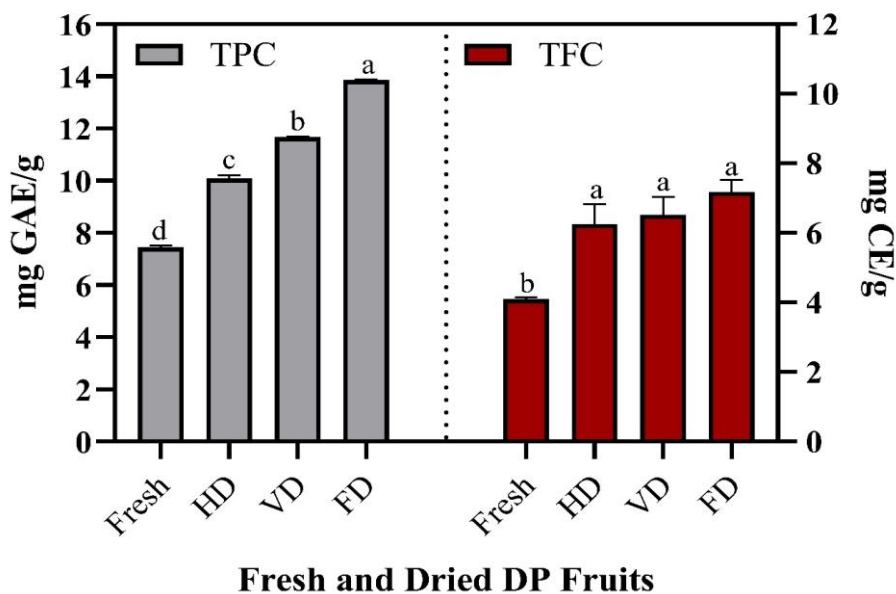


Figure 1. Total moisture content and evaporated water amount of dried DP fruits with different drying techniques

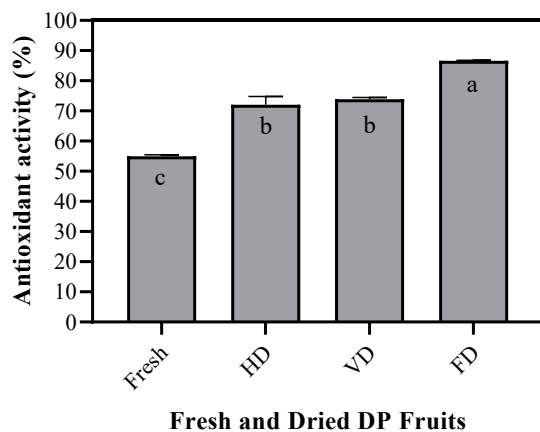


HD: Hot air drying, VD: Vacuum drying, FD: Freeze drying. Different letters show statistical difference ($P \leq 0.05$).

Figure 2. Total phenolic and flavonoid content of fresh and dried DP fruits

Similar results were found in TFC and these values of dried samples were greater than fresh DP fruit. Although the TFC findings of the dried samples were statistically different from the fresh sample ($P \leq 0.05$), there was no significant difference between the different drying techniques ($P > 0.05$).

The antioxidant capacity (AC, %) of the DP fruits were determined with DPPH radical scavenging ability and result were shown in the Figure 3. The AC values of fresh and dried DP fruits showed a similar tendency with TPC and TFC values. At the end of the drying treatment, the AC values increased compared to the fresh samples. The highest and lowest AC values were found for fresh and FD samples and were determined as 86.60 ± 0.23 and 54.98 ± 0.46 , respectively. The AC values of the dried samples were significantly different compared to the control ($P \leq 0.05$), and FD significantly increased the AC value of the DP fruit. There was no statistical difference between AC values of HD and VD samples ($P > 0.05$).



HD: Hot air drying, VD: Vacuum drying, FD: Freeze drying. Different letters show statistical difference ($P \leq 0.05$).

Figure 3. Antioxidant activity (%) of fresh and dried DP fruits

Temperature is a crucial parameter affecting oxidation reactions. At freeze drying process, samples dried at low temperatures and vacuum conditions, however, during hot air drying and vacuum drying process samples dried at higher

temperatures and times. As a result of the low temperature and vacuum application in FD, the samples are not exposed to thermal degradation and oxidation reactions, so phenolic compounds have been preserved and TPC values of the samples were found to be higher than other drying methods (Turkmen et al., 2020). Phenolic compounds are highly susceptible to heat and oxidation reactions (Kayacan et al., 2020). The lower TPC values detected in HD may be related to the degradation occurring in phenolic compounds.

Color Properties of DP Fruits

The color values of the DP fruits varied according to the applied drying techniques, and the results were given in the Table 1. L^* values were indicated the brightness of the samples and values changed between 27.39 ± 1.39 and 17.59 ± 3.67 . Applied drying techniques decreased L^* values of the DP fruits. L^* values of the dried DP fruits, except dried FD fruits, found significantly important compared to fresh fruits ($P \leq 0.05$). However, no significant differences were found between the L^* values of dried HD and VD fruits ($P > 0.05$). Consequently, DP fruits that were dried using HD and VD methods had a darker colour than fresh and FD dried fruits. Although HD and VD drying techniques decreased the a^* and b^* values of DP fruits, the FD drying technique increased the a^* and b^* values. The a^* and b^* values of the dried fruits were found to be significantly important compared to the control ($P \leq 0.05$). As a result, FD drying increased the redness and yellowness of the DP fruits, while HD and VD drying decreased it. Chroma indicates the density of color values and C^* values of the DP fruits were changed between 1.39 ± 0.37 and 6.12 ± 3.54 . Applying drying techniques increased C^* values of the samples, but only the HD dried samples were found statistically important compared to fresh DP fruits ($P \leq 0.05$). However, applying drying techniques significantly decreased h° values of the samples compared to fresh DP fruits ($P \leq 0.05$). Additionally, changes in color values of DP fruits, for HD and VD drying, could potentially be linked to non-enzymatic browning reactions that transpire due to the influence of temperature. However, since

browning reactions are absent in FD drying, color values may be similar or slightly different from fresh products. Parallel results to our study have been reported by many studies expressing the

changes in the color values of fruits with different drying techniques (Kayacan et al., 2020; Goztepe et al., 2022; Guclu et al., 2022).

Table 1. Color properties of fresh and dried DP fruits

	L*	a*	b*	C*	h°
Fresh	27.39±1.84 ^a	-0.17±0.88 ^b	-0.94±0.58 ^b	1.39±0.37 ^b	273.39±57.90 ^a
HD	17.59±3.67 ^b	-5.27±3.03 ^c	-2.96±1.95 ^c	6.12±3.54 ^a	207.41±9.11 ^b
VD	20.83±0.43 ^b	-3.48±0.83 ^c	-1.44±0.16 ^{b,c}	3.97±0.86 ^{a,b}	191.51±23.89 ^b
FD	24.84±0.94 ^a	3.86±1.48 ^a	1.32±0.71 ^a	4.20±1.59 ^{a,b}	18.89±10.87 ^c

HD: Hot air drying, VD: Vacuum drying, FD: Freeze drying. Different letters in the same column show statistical difference ($P \leq 0.05$).

Antibacterial Activity of DP Fruits

Antibacterial effect of fresh and dried DP fruits methanolic extracts on some pathogenic bacteria, *B. cereus*, *S. Typhimurium*, *S. aureus* and *Y. enterocolitica*, was determined and the extracts inhibited growth of tested pathogenic bacteria at different rates (Table 2). Although *B. cereus* and *S. Typhimurium* were inhibited at the highest inhibition levels by HD methanolic extract, *Y. enterocolitica* and *S. aureus* were inhibited at the highest inhibition levels by VD methanolic extract. Moreover, for *B. cereus*, HD samples were found to be statistically different from VD, for *S. Typhimurium*, fresh samples were found to be statistically different from HD and VD samples. Fresh and FD samples were statistically different from VD and HD samples for *Y. enterocolitica*. Finally, for *S. aureus* fresh samples were statistically different from VD, and VD samples were statistically different from FD. And also, the inhibition levels of *B. cereus*, *S. Typhimurium*, *Y. enterocolitica* and *S. aureus* ranged between 22.75 and 24.5 mm, 23.08 and 24.67 mm, 22.67 and 25.75 mm, 23.00 and 25.17 mm, respectively. According to gram characteristics of the tested bacteria, the highest (25.75 mm) and the lowest (22.67 mm) inhibition levels were determined against *Y. enterocolitica*, gram-negative bacterium. However, between the Gram positive bacteria, the highest inhibition level was determined against *S. aureus*, while the lowest inhibition level was determined against *B. cereus*. Pathogens inhibition levels of methanolic extracts of dried DP fruits compared to control; for *B. cereus* no significant differences was found, for *S. Typhimurium* and *Y. enterocolitica* HD and VD

extracts were found to be significantly differences, and for *S. aureus* only VD extract was found statistically important. This study showed that methanolic extracts of HD, VD and FD have potential to inhibit pathogens at a higher level compared to fresh DP fruits, although there is little differences or no significant differences in the level of inhibition of pathogens. Similarly to our study, Opara et al. (2009) reported that the antibacterial effects of fresh and dried pomegranate extracts on different pathogens are at different levels. Also, Thamburaj et al. (2022) found that antibacterial effect of *Ficus benghalensis* fruit fresh and dried extracts showed different inhibition zone against *S. typhi*. The antibacterial effect of methanolic extracts of fresh and dried fruits may be due to amount of phenolic compounds (Farahmandfar et al., 2019). In this study, different drying methods resulted in varying levels of inhibition against the tested bacteria. These results may be related to tested bacteria, phenolic profile of the fruit, and the antibacterial method applied.

Sensory Evaluation of DP Fruits

The sensorial evaluation of the dried products is the most important parameter in defining the success of a drying methods as it is related to the consumer perception (Petikirige et al., 2022). Fresh and dried DP fruits were assessed for sensory attributes including color and appearance, odor, taste, chewiness and overall acceptability (Figure 4). Color and appearance scores of the samples changed from 3.33 to 4.5, and although no statistically differences was found between the all samples, fresh DP fruit had the higher score.

Although there was a difference between the colour values of fresh and dried fruit in the colorimetric colour measurement, no statistical difference in colour and appearance was found between fresh and dried samples in the panelist

evaluation. As colourimetry is more sensitive, panelists' ratings may vary from person to person. Similarly, it was determined that there were no differences in the panelist evaluation in terms of odor and taste.

Table 2. Antibacterial effects of fresh and dried DP fruits methanolic extracts against some pathogenic bacteria represented as inhibition zone (mm)

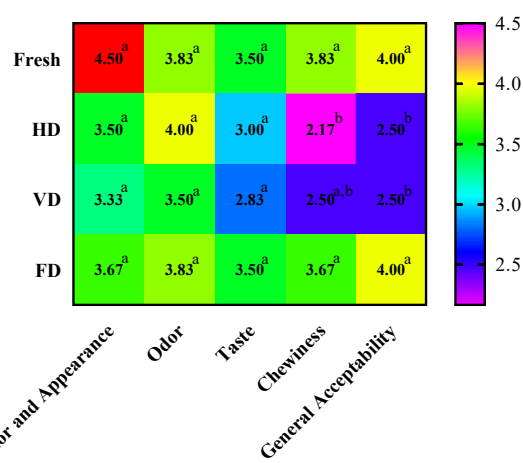
	<i>B. cereus</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>S. aureus</i>
Fresh	23.9±0.13 ^{a,b}	23.08±0.07 ^b	22.67±0.11 ^b	23.00±0.08 ^b
HD	24.5±0.10 ^a	24.67±0.14 ^a	25.50±0.07 ^a	24.40±0.12 ^{a,b}
VD	22.75±0.13 ^b	24.60±0.10 ^a	25.75±0.13 ^a	25.17±0.14 ^a
FD	23.3±0.12 ^{a,b}	23.75±0.12 ^{a,b}	22.92±0.16 ^b	23.08±0.14 ^b

HD: Hot air drying, VD: Vacuum drying, FD: Freeze drying. Different letters in the same column show statistical difference ($P \leq 0.05$).

Chewiness scores of the fresh and dried DP fruits ranged between 3.83 and 2.17 for all samples, and so the highest and the lowest scores were detected for fresh and HD samples, respectively. FD samples were scored similarly to fresh samples by the panelists according to the chewiness and statistical importance was not determined for fresh and FD fruits. However, the chewiness scores of HD and VD samples were statistically different from both fresh and FD samples. Drying of fresh DP fruits with HD and VD resulted in a harder finished product and lower scores of chewiness are related to hardness of the samples and HD and VD samples were not preferred by the panelists due to their harder structure.

study revealed that HD and VD drying were different compared to fresh samples, especially in terms of chewiness and general acceptability values, on the other hand, FD drying had similar scores with fresh samples and was more appreciated in terms of sensory evaluation compared to the other two drying techniques.

General acceptability scores of fresh and dried DP fruits were changed between 2.5 and 4 and the mean values of the HD and VD samples and the mean values of the fresh and FD samples were the same and were scored by the panelists as 2.5 and 4, respectively. The general acceptability scores of the HD and VD samples were not statistically significant. Additionally, the overall acceptability scores of fresh and FD samples were not statistically significant. However, the overall acceptability scores of HD and VD samples were found to be statistically significant compared to fresh and FD samples. Similarly to our study, Piotrowski et al. (2021) and Wojdyło et al. (2016) were reported that FD drying is the best drying technique for the sensory evaluation of strawberry and jujube fruits, respectively. As a result, this



HD: Hot air drying, VD: Vacuum drying, FD: Freeze drying. Different letters show statistical difference ($P \leq 0.05$).

Figure 4. Sensory evaluation of fresh and dried DP fruits

CONCLUSION

At this work, the effects of some drying process on the quality parameters and sensory features of DP fruit were studied. In terms of sensory assessment, TPC, TFC, AC and color properties

FD was the best drying technique. Also, different drying techniques had the different antibacterial effect on selected pathogenic bacteria and generally inhibitory effect of the HD, VD and FD extracts were greater than fresh DP fruit extract. In conclusion, this study has shown that freeze-drying is the optimal method for maintaining the properties of DP fruits. Additionally, due to their high antioxidant content, DP fruits can find potential applications in the field of food technology.

CONFLICT OF INTEREST

The author inform no conflict of interest.

REFERENCES

- Alp, D., Bulantekin, Ö. (2021). The microbiological quality of various foods dried by applying different drying methods: a review. *European Food Research and Technology*, 247, 1333-1343. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03731-z>.
- Argyropoulos, D., Heindl, A., Müller, J. (2011). Assessment of convection, hot-air combined with microwave-vacuum and freeze-drying methods for mushrooms with regard to product quality. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(2), 333-342. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02500.x>.
- Ayaz, F. A., Kadioğlu, A., Reunanen, M. (1997). Changes in phenolic acid contents of *Diospyros lotus* L. during fruit development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2539-2541. <https://doi.org/10.1021/jf960741c>.
- Başlar, M., Kılıçlı, M., Yalınkılıç, B. (2015). Dehydration kinetics of salmon and trout fillets using ultrasonic vacuum drying as a novel technique. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 495-502. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.018>.
- Farahmandfar, R., Targarian, B., Dehghan, B., Nemati, A. (2019). Comparison of different drying methods on bitter orange (*Citrus aurantium* L.) peel waste: changes in physical (density and color) and essential oil (yield, composition, antioxidant and antibacterial) properties of powders. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 862-875. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00334-x>.
- Gao, H., Cheng, N., Zhou, J., Wang, B., Deng, J., Cao, W. (2014). Antioxidant activities and phenolic compounds of date plum persimmon (*Diospyros lotus* L.) fruits. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 950-956. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0591-x>.
- Goktas, H., Dertli, E., Sagdic, O. (2021). Comparison of functional characteristics of distinct *Saccharomyces boulardii* strains isolated from commercial food supplements. *LWT-Food Science and Technology*, 136, 110340. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110340>.
- Goztepe, B., Kayacan, S., Bozkurt, F., Tomas, M., Sagdic, O., Karasu, S. (2022). Drying kinetics, total bioactive compounds, antioxidant activity, phenolic profile, lycopene and β -carotene content and color quality of Rosehip dehydrated by different methods. *LWT-Food Science and Technology*, 153, 112476. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112476>.
- Guclu, G., Polat, S., Kelebek, H., Capanoglu, E., Selli, S. (2022). Elucidation of the impact of four different drying methods on the phenolics, volatiles, and color properties of the peels of four types of citrus fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(13), 6036-6046. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11956>.
- Hassan, A. M., Zannou, O., Pashazadeh, H., Ali Redha, A., Koca, I. (2022). Drying date plum (*Diospyros lotus* L.) fruit: Assessing rehydration properties, antioxidant activity, and phenolic compounds. *Journal of Food Science*, 87(10), 4394-4415. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16322>.
- Kayacan, S., Karasu, S., Akman, P. K., Goktas, H., Doymaz, I., Sagdic, O. (2020). Effect of different drying methods on total bioactive compounds, phenolic profile, in vitro bioaccessibility of phenolic and HMF formation of persimmon. *LWT-Food Science and Technology*, 118, 108830. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108830>.
- Mahjoorian, A., Mokhtarian, M., Fayyaz, N., Rahmati, F., Sayyadi, S., Ariaii, P. (2017). Modeling of drying kiwi slices and its sensory evaluation. *Food Science & Nutrition*, 5(3), 466-473. <https://doi.org/10.1002/fsn.3.414>.

- Opara, L. U., Al-Ani, M. R., Al-Shuaibi, Y. S. (2009). Physico-chemical properties, vitamin C content, and antimicrobial properties of pomegranate fruit (*Punica granatum* L.). *Food and Bioprocess Technology*, 2, 315-321. <https://doi.org/10.1007/s11947-008-0095-5>.
- Ozay-Arancioglu, I., Bekiroglu, H., Karadag, A., Saroglu, O., Tekin-Cakmak, Z. H., Karasu, S. (2021). Effect of different drying methods on the bioactive, microstructural, and in-vitro bioaccessibility of bioactive compounds of the pomegranate arils. *Food Science and Technology*, 42. <https://doi.org/10.1590/fst.06221>.
- Petikirige, J., Karim, A., Millar, G. (2022). Effect of drying techniques on quality and sensory properties of tropical fruits. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(11), 6963-6979. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16043>.
- Piotrowski, D., Kostyra, E., Grzegory, P., Janiszewska-Turak, E. (2021). Influence of drying methods on the structure, mechanical and sensory properties of strawberries. *European Food Research and Technology*, 247(8), 1859-1867. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03682-5>.
- Singh, R., Chidambara Murthy, K., Jayaprakasha, G. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 81-86. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03682-5>.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>.
- Tekin, Z. H., Başlar, M., Karasu, S., Kilicli, M. (2017). Dehydration of green beans using ultrasound-assisted vacuum drying as a novel technique: Drying kinetics and quality parameters. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6), e13227. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13227>.
- Thamburaj, S., Rajagopal, V., Palanivel, R., Pugazhendhi, S. (2022). Effect of different drying treatments on total polyphenolics content and in-vitro biological properties of *Ficus benghalensis* fruit: A comparative study. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 102249. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102249>.
- Turkmen, F., Karasu, S., Karadag, A. (2020). Effects of different drying methods and temperature on the drying behavior and quality attributes of cherry laurel fruit. *Processes*, 8(7), 761. <https://doi.org/10.3390/pr8070761>.
- Uddin, G., Rauf, A., Siddiqui, B. S., Muhammad, N., Khan, A., Shah, S. U. A. (2014). Antinociceptive, anti-inflammatory and sedative activities of the extracts and chemical constituents of *Diospyros lotus* L. *Phytomedicine*, 21(7), 954-959. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.03.001>.
- Wojdyło, A., Figiel, A., Legua, P., Lech, K., Carbonell-Barrachina, Á. A., Hernández, F. (2016). Chemical composition, antioxidant capacity, and sensory quality of dried jujube fruits as affected by cultivar and drying method. *Food Chemistry*, 207, 170-179. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.099>.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2).



MUSHROOM CONSUMPTION HABITS IN TURKIYE

Esen Eyiler Kaya, Nurhan Öztürk*

Akdeniz University, Korkuteli Vocational School, Antalya, Türkiye

Received / Geliş: 06.09.2023; Accepted / Kabul: 13.11.2023; Published online / Online baskı: 23.11.2023

Eyiler Kaya., E., Öztürk, N. (2023). Mushroom consumption habits in Türkiye. GIDA (2023) 48 (6) 1264-1275 doi: 10.15237/ gida.GD23104

Eyiler Kaya., E., Öztürk, N. (2023). Türkiye'deki mantar tüketim alışkanlıkları. GIDA (2023) 48 (6) 1264-1275 doi: 10.15237/ gida.GD23104

ABSTRACT

The per capita mushroom consumption rate in Türkiye is known to be lower compared to developed countries. In this regard, a statistical study aiming to reveal mushroom consumption habits has been conducted. The statistical results of the study were analyzed using the chi-square test. A survey consisting of 17 questions determining socio-demographic information and certain mushroom consumption habits was carried out with 1302 participants collected from all regions. According to the survey results, 1116 individuals consume mushrooms. 47.2% of the participants consume mushrooms several times a month. The most common preference for mushroom consumption was the delicious taste. The highest consumption rate was in the 18-45 age range, with over 50%. Within this age range, mushrooms were mostly consumed as a main course, on pizza, and as a garnish. The reasons for not consuming mushrooms were primarily not liking the taste, not being accustomed to the flavor, and lack of trust.

Keywords: Mushroom consumption, consumer behavior, socio-demographics, influencing factors

TÜRKİYE'DEKİ MANTAR TÜKETİM ALIŞKANLIKLARI

ÖZ

Türkiye'de kişi başına düşen mantar tüketim oranının gelişmiş ülkelere kıyasla daha düşük olduğu bilinmektedir. Bu bağlamda, mantar tüketim alışkanlıklarını ortaya koymayı amaçlayan istatistiksel bir çalışma yapılmıştır. Çalışmanın istatistiksel sonuçları ki-kare testi kullanılarak analiz edilmiştir. Tüm bölgelerden toplanan 1302 katılımcı ile sosyodemografik bilgileri ve bazı mantar tüketim alışkanlıklarını belirleyen 17 sorudan oluşan bir anket yapılmıştır. Anket sonuçlarına göre 1116 kişi mantar tüketmektedir. Katılımcıların %47.2'si ayda birkaç kez mantar tüketmektedir. Mantar tüketiminde en yaygın tercih nedeni mantarın lezzetli olması olarak tespit edilmiştir. En yüksek tüketim oranı %50'nin üzerinde bir oranla 18-45 yaş aralığında gerçekleşmiştir. Bu yaş aralığındaki tüketiciler mantar en çok ana yemek olarak, pizza üzerinde ve garnitür olarak tükettiklerini belirtmişlerdir. Mantar tüketmeme nedenlerini ise tüketiciler öncelikle tadını beğenmeme, lezzetine alışkın olmama ve güvenmeme olarak sıralamışlardır.

Anahtar kelimeler: Mantar tüketimi, tüketici davranışı, sosyodemografik özellikler, etkileyen faktörler

* Corresponding author: Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: ozturkn@akdeniz.edu.tr

☎: (90) 242 643 5000

☎: (90) 242 643 5005

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

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

INTRODUCTION

Mushrooms are the edible parts (mostly stem and cap) of the fruiting bodies of mushroom and can be collected from the nature or some can be cultivated under controlled conditions (Oguntoye et al., 2022). They belong to another kingdom called Fungus and are mainly classified under Basidiomycota and Ascomycota divisions (Barea-Sepulveda et al., 2022). Mushrooms do not have chlorophyll and they must get their nutrients from the soil, or the production material composed by the manufacturer. They differ from the plant kingdom in this aspect (Oguntoye et al., 2022).

Mushrooms have long been considered beneficial for human nutrition and health because of their easily digestible proteins, and vitamin and mineral content. They are also low in fat and cholesterol and grouped under vegetables (Boin et al., 2016; Boin and Nunes, 2018). Aside from these properties, mushrooms can easily be used in low-calorie diets because of their low-calorie values (Selvi et al., 2007). It has been reported that by consuming the same volume of mushrooms instead of meat or meat-containing meals, more dietary fiber is consumed, and the same level of satiety is obtained (Cheskin et al., 2008). In addition, mushrooms contain essential amino acids, and they are a good alternative for those who prefer vegan/vegetarian diets (Verma et al., 1987). Besides being consumed as a food, mushrooms have beneficial effects on health such as anticancer, antiviral, antitumor, antioxidant, lowering cholesterol levels, etc. (Cohen et al., 2002; Kerrigan, 2016).

According to the FAO data (FAO, 2022), China has the highest production value of mushrooms and truffles in 2020 which is over 40 million tons. This value comprises 93% of the world's production value. Türkiye was the 17th country in production with over 55 tons in 2020 which was 0.13% of the overall production of the world. The production values in Türkiye are quite low when compared to many other countries. The mushrooms that are cultivated in Türkiye are *Agaricus bisporus* (white button mushroom) and *Pleurotus ostreatus* (Oyster mushroom). However, the amount of consumption is not known. The

studies that were performed for the consumption values were local (Kibar, 2015; Yılmaz et al., 2016; Uysal, 2014).

The aim of this study was to investigate the consumption behaviors and influencing factors on the consumption of mushrooms in Türkiye's population. The focus of the study was overall frequency of consumption, and frequency of consumption by type (fresh, canned, frozen, dried). *A. bisporus* and *P. ostreatus* species were selected for the study because these two species are produced in most parts of Türkiye and then transferred to the markets and bazaars all over Türkiye.

MATERIALS AND METHODS

A survey for mushroom consumption was applied to a sample of Türkiye population (n=1302) through an online questionnaire. The survey results include socio-demographic and mushroom consumption data collected from April 2022 to August 2022. The questionnaire was prepared on Google documents and was available online which was spread through social media and e-mails.

Structure of the questionnaire

The questionnaire was comprised of 17 questions. The seven questions were socio-demographic questions (age, gender, marital status, education, household size, region, and income). The rest of the questions included mushroom consumption behaviors which are overall mushroom consumption periodicity (often, once a week, more than once a week, more than once a month, rarely), frequency of consumption by species (*A. bisporus*, *P. ostraetus*), frequency of how the mushrooms are consumed (main course, pizza topping, soups, sauce, pickle), how the consumers buy the mushrooms (fresh, canned, frozen, dried), where the consumers choose to buy the mushrooms (Market, bazaar or the producer), whether the consumers know the nutritious value of the mushrooms and for the consumers that do not consume mushroom the reason was questioned.

Statistical analysis

The statistical analyses were performed with IBM Statistics 23. The statistical analysis was performed using the Chi-square test. Significance was considered for P -values < 0.05 . In cases where the P -value is < 0.05 , odds ratios below 1 indicate a negative effect of the explanatory variable on the dependent variable, while odds ratios above 1 indicate a positive effect of the explanatory variable on the dependent variable (Wang and Verbeke, 2016).

RESULTS

Socio-demographic results

The socio-demographic results of the participants were shown in Table 1 as frequency and percentage. 1302 people were participated in the questionnaire, 57.1% of the participants were female and 42.9% were male. The majority of the participants were at the age of between 18 and 45 years, predominantly the age range of 36-45 with a rate of 33.1%. Considering the education level of consumers, 40.7% had an undergraduate degree, 32.8% had a graduate degree and 14.25 of the participants had an associate degree. It was seen that the number of individuals in the family of the participants was mainly in the range of 2-4 people with a percentage of 70.4%. When income level was considered, very close distributions were observed, 25.7% of the participants' income level was between 7001-10000 TL. When the distribution of mushroom consumption by region was considered, the Marmara region (29%) and the Mediterranean Region (25.3%) have represented more than 50% of the participants. Marmara region has the highest population in Türkiye, which is over 24 million, and the Mediterranean region is the third most highly populated region according to the Turkish Statistical Institute (TUIK2022). Also, it should be considered almost 70% of the cultivated mushroom production takes place in Korkuteli (Antalya) which is in the Mediterranean region. The population and the production of place were considered the reasons for the high amount of consumption in these regions. Eastern Anatolian Region was the least participated region in the survey with a rate of 6.5%. This region has the lowest population among Türkiye and it has been

noted that the rates are approximately in proportion to the population distribution of the regions.

Mushroom consumption behavior

It was observed from the results that 85.7% of the participants consume mushrooms (Table 2), and generally, white button mushroom *Agaricus bisporus* was preferred by the participants (Table 3). The number of participants who preferred to consume *Pleurotus ostreatus* with a frequency of often or always was 131 and 40 respectively which was very low when compared to the numbers of *Agaricus bisporus*. 480 of the participants stated that they often consume white button mushrooms and 32 of them stated that they never consume them. Mushrooms were consumed more than once a week by only 5.5% of the participants. Among the participants, 88.8% choose to consume mushrooms primarily because they find them tasty. Additionally, it was believed by 50.5% of the participants that mushrooms are nutritious, and they were consumed predominantly as a main course or as a topping on pizza. Although mushrooms were chosen for consumption by most of the participants the consumption frequency was not often. The results showed that 47.2 and 29.6% of the participants stated that they consume mushrooms a few times a month or very rarely respectively. This was thought to be due to cultural reasons. Consumers in Türkiye tend to prefer vegetables such as legumes, peas, zucchini, and eggplant rather than mushrooms. The reason why consumers do not consume mushrooms was also stated as taste. A small percentage of participants who did not consume mushrooms were allergic (6.7%) or did not consider them nutritious (7.5%). Furthermore, it was mentioned by 25.2% of the participants who did not consume mushrooms that they find them unreliable, suggesting concerns about potential poisoning.

Fig. 1 shows the differences among the consumption behaviors according to the age. It can be seen from the figure that for all ages the main consumption type was as the main course and consumption of mushrooms as pickles was the least.

Table 1. Socio-demographic characteristics of participants

Variable (Type, Range)	Category	Frequency (n =1302)	Percentage (%)
Gender	Female	744	57.1
	Male	558	42.9
Age	18-25	244	18.7
	26-35	301	23.1
	36-45	431	33.1
	46-55	196	15.1
	Over 56	130	10
Education	Primary Education	11	0.8
	Secondary Education	18	1.4
	High School	131	10.1
	Associate Degree	185	14.2
	Undergraduate	530	40.7
	Graduate	427	32.8
Household Size	1	83	6.4
	2-4	916	70.4
	4-6	249	19.1
	6+People	54	4.1
Region	Marmara	377	29
	Mediterranean	329	25.3
	Aegean	107	8.2
	Central Anatolia	194	14.9
	Southeastern Anatolia	92	7.1
	Black Sea	118	9.1
	Eastern Anatolia	85	6.5
Income	0-4300	157	12.1
	4301-7000	261	20
	7001-10000	334	25.7
	100001-13000	238	18.3
	Over 13000	312	24
Marital Status	Married	765	58.8
	Single	537	41.2

Table 2. Mushroom consumption behavior of participants

	Category	Frequency	Percentage (%)
Mushroom consumption	Yes	1116	85.7
	No	186	14.3
How often (n =1302)	Very often	16	1.4
	One day a week	188	16.3
	More than once a week	64	5.5
	A few times a month	546	47.2
	Very rare	342	29.6
Consumption preference (n =1302)	Tasty	1023	88.8
	Easy to find	134	11.6
	Highly nutritious	582	50.5
	Suitable for diet (vegan-vegetarian)	86	7.5
	Suitable for dietary consumption	140	12.2
	Price is affordable	105	9.1
Reasons for not consuming	Dislike the taste	97	38.2
	Unreliable	64	25.2
	Allergic	17	6.7
	Not nutritious	19	7.5
	Not the usual taste	96	37.8
	Expensive	35	13.8

Table 3. Consumption by mushroom species (n =1302)

	Category	Frequency
<i>Agaricus bisporus</i>	Always	175
	Often	480
	Rarely	433
	Never	32
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Always	40
	Often	131
	Rarely	516
	Never	169

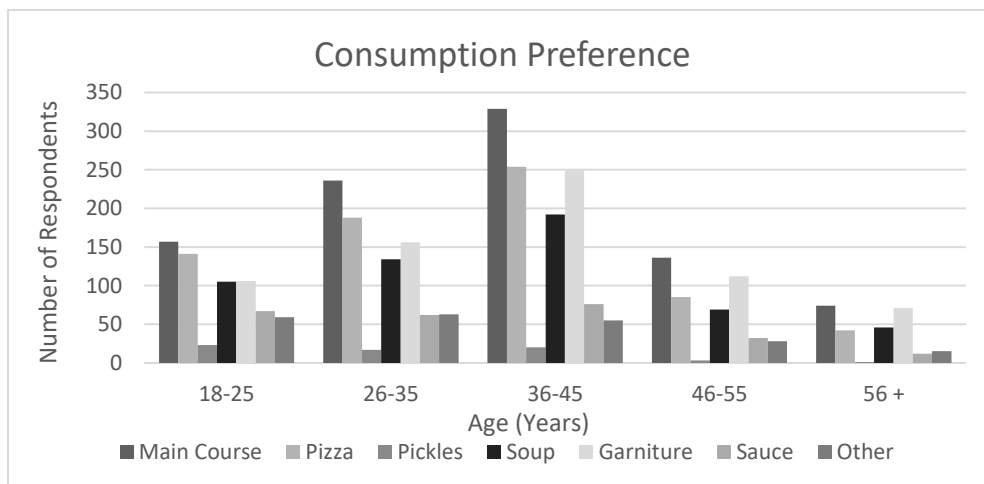


Figure 1. Consumption preferences according to the age

Table 4 provides information regarding how and where the mushrooms were bought and what was considered while purchasing by the consumers. The results showed that mushrooms were bought mostly fresh as packed (77.25%) or unpacked (53.2%) and mainly from the market (78.8%) or bazaar (56.3%). The participants who chose to buy dried, frozen or canned mushrooms were lower than 2%. 90.9% of consumers stated that

color and appearance of the mushrooms were the major criterion when purchasing mushroom. Also, it was determined that 60.2% of the participants checked the production date of the product. It has been observed that the least important thing according to participants was the brand of the product. Only 7.9% of the participants were paying attention to the brand of the mushrooms when purchasing.

Table 4. Mushroom purchasing behavior of the participants

	Category	Frequency	Percentage (%)
How to purchase	Fresh (packed)	891	77.2
	Fresh (outdoor)	614	53.2
	Preserves	20	1.7
	Frozen	15	1.3
	Dried	13	1.1
Place of purchase	Open field	648	56.3
	Market	908	78.8
	Mushroom grower	110	9.5
	Greengrocer	250	21.7
Factors purchase	Color-appearance	1050	90.9
	Size	497	43
	Packaging shape	333	28.8
	Packing date	695	60.2
	Where it is produced	155	13.4
	Brand	91	7.9
	Price	438	37.9
	Amount	240	20.8

Overall frequency results of mushroom consumption

In the study, the relationship between mushroom consumption and socio-demographic characteristics was analyzed using the Chi-Square test. The "Pearson Chi-Square" value was obtained from the test results table. If the *P*-value associated with this value was less than 0.05, it indicated that there was a statistically significant difference between the variables being compared. On the other hand, if the *p-value* is greater than 0.05, it was suggested that there was no significant difference between the variables, and the relationship was considered non-committal or inconclusive. According to this, when the

relationship between mushroom consumption and socio-demographic characteristics was examined; it was observed that age, education, household size, marital status, region, and income status had a significant effect on mushroom consumption ($P < 0.001$) whereas gender had no significant effect on the overall consumption of the mushrooms ($P = 0.244$) (Table 5).

According to the Chi-Square analysis between socio-demographic characteristics and consumption behaviors, it was found that gender had no significant effect on how often the mushroom was consumed ($P = 0.533$), type of purchase ($P = 0.172$), place it was purchased ($P =$

0.062) and the reason for consumption ($P=0.660$). However, gender was determined to have a significant effect on considerations when purchasing. Another independent variable was established between the regions and the reason for consumption ($P=0.264$) which had no significant effect. It was confirmed that variables

such as age, education level, household size, region, income level and marital status, have a significant effect on how often the mushrooms are consumed, the place and type of purchase, the considerations when purchasing, and the reason for choosing to consume ($P<0.05$) (Table 6).

Table 5. Socio-demographic characteristics of people consuming and not consuming mushrooms and Chi-Square results

Variable	Chi-Square Value (χ^2)	Asymptotic Significance (P)
Gender	1.360	0.244
Age. Years	49.098	$P<0.001^*$
Education	26.732	$P<0.001^*$
Household Size	31.793	$P<0.001^*$
Region	16.367	0.012
Income	29.662	$P<0.001^*$
Marital Status	32.227	$P<0.001^*$

* $P=0.000$

Table 6. Chi-Square results of consumption behaviors with socio-demographic characteristics

Variable		How often	How to purchase	Place of Purchase	Factors purchase	Consumption preference
Gender	χ^2	4.112	18.819	22.902	143.837	36.756
	P	0.533	0.172	0.062	0.012	0.660
Age	χ^2	60.983	106.742	161.688	509.072	240.795
	P	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$	0.006	$P<0.001$
Education	χ^2	48.080	124.777	148.105	625.218	358.033
	P	0.004	$P<0.001$	$P<0.001$	0.006	$P<0.001$
Household Size	χ^2	41.465	59.829	79.642	377.278	164.213
	P	$P<0.001$	0.036	$P<0.001$	0.022	0.008
Region	χ^2	47.663	186.062	303.311	739.978	260.310
	P	0.021	$P<0.001$	$P<0.001$	0.007	0.245
Income	χ^2	44.651	89.362	125.165	512.931	197.639
	P	0.001	0.003	$P<0.001$	0.004	0.038
Marital Status	χ^2	38.555	44.738	59.085	177.274	77.630
	P	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$

* $P=0.000$

Table 7 gives information about the Chi-Square analysis results between socio-demographic characteristics and the way of mushroom consumption (main dish, side dish, pizza, soup, pickles, sauce, and other). Consumption of mushrooms in pizza, soup, sauce, or pickles was

identified as a variable independent of gender. Age and education were seen to be significantly effective in how the mushrooms were consumed. 188 of the participants stated that they always consume mushrooms as a main course and 397 of them often consume as fresh mushrooms. Pickles

was the least preferred type of consumption by the participants. The number of participant that rarely or often consumed mushrooms as pickles

was 65. 353 of the participants stated that they never consume mushrooms as pickles.

Table 7. Chi-square results of the socio-demographic properties and mushroom consumption type

Variable		Main course	Garniture	Pizza	Soup	Pickles	Sauce	Other
Gender	χ^2	22.757	29.594	2.753	4.158	5.029	5.854	27.305
	<i>P</i>	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	0.600	0.385	0.284	0.210	<i>P</i> <0.001
Age. Years	χ^2	51.596	42.910	75.258	38.546	66.691	63.687	39.992
	<i>P</i>	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	0.001	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	0.001
Education	χ^2	55.305	119.435	53.870	81.367	50.234	50.239	46.124
	<i>P</i>	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	0.001
Household Size	χ^2	17.033	22.244	25.228	8.678	10.896	7.350	13.664
	<i>P</i>	0.141	0.035	0.014	0.730	0.538	0.834	0.323
Region	χ^2	38.645	60.785	34.353	54.861	53.281	30.606	34.338
	<i>P</i>	0.030	<i>P</i> <0.001	0.079	<i>P</i> <0.001	0.001	0.165	0.079
Income	χ^2	52.587	76.418	53.165	44.908	18.313	21.579	24.992
	<i>P</i>	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.001	0.306	0.157	0.070
Marital Status	χ^2	8.740	5.785	4.371	5.453	19.070	7.803	3.777
	<i>P</i>	0.068	0.216	0.358	0.244	0.001	0.099	0.437

**P*=0.000

Table 8 shows the results of the comparison between socio-demographic characteristics and not consuming mushrooms. According to these results, independence was observed between gender, region, and the behavior of not consuming mushrooms in which the *P*-value was greater than 0.05. Therefore, gender and region were not significantly effective on mushroom consumption. It was seen that the other characteristics (age, education, household size, income, and marital status) were dependent (*P*<0.05). According to the pivot tables obtained from Microsoft Excel most of the participants that do not consume mushrooms were between the age of 18-25 and were single. This may be because this single age group was mostly students and mushrooms were seen as an expensive food for students. Also, this effect was seen in the income results because the results showed that as the income of the participants were increased the number of participants that do not consume mushrooms were decreased. Interestingly as the level of education was increased the number of participants that did not consume mushrooms

were increased. Participants with primary and secondary school education stated that they thought mushrooms could be poisonous. On the other hand, most of the highly educated participants stated that they did not consume mushrooms because they did not like the taste and were not used to them.

Table 8. Chi-Square results of socio-demographic characteristics and preferences for not consuming mushrooms

Variable	χ^2	<i>P</i>
Gender	21.030	0.395
Age, Years	56.336	<i>P</i> <0.001
Education	170.017	<i>P</i> <0.001
Household Size	125.013	0.001
Region	141.698	0.086
Income	155.735	<i>P</i> <0.001
Marital Status	123.356	<i>P</i> <0.001

**P*=0.000

53.6% of the participant (698 participants) stated that they had information about the nutritional value of the mushrooms. The statistical analysis results shown in Table 9 give information about the relationship between socio-demographic characteristics and the nutritional value of the mushrooms. The findings indicate that gender, age, education, income, and marital status were significantly effective on knowledge of the nutritional value of mushrooms. The results demonstrate that as the level of education was increased, there was a notable increase in the

number of individuals who possessed knowledge regarding the nutritional value of mushrooms. This suggests that higher levels of education were associated with a greater understanding of the nutritional benefits offered by mushrooms. Also, the knowledge about the nutritive value of the mushrooms was increased until the ages of 36-45 then it was decreased. It was also found that 429 of the 698 participants who stated that they had information about the nutritional value of mushrooms were women.

Table 9. Chi-Square results of the nutritional value of mushrooms

Variable		χ^2	P
Gender		11.458	0.001
Age. Years		57.487	$P<0.001$
Education		27.156	0.006
Household Size		5.126	0.163
Region		9.555	0.145
Income		11.547	0.021
Marital Status		6.674	0.010
Reason for consumption		318.790	$P<0.001$
Consumption frequency		71.922	$P<0.001$
How to Purchase		45.075	$P<0.001$
Consumption Preference	Main course	12.571	0.014
	Garniture	19.873	0.001
	Pizza	2.527	0.640
	Soup	17.600	0.001
	Soauce	8.292	0.081
	Pickles	9.167	0.530
	Other	13.999	0.007

* $P=0.000$

DISCUSSION

Until now, studies on mushroom consumption habits in Türkiye were performed at the provincial level, and no study encompassing the entire country was found. According to the previous studies: Paksoy and Aksüt (2012) carried out a study in the province of Kahramanmaraş and found that 56% of the consumers were female and 44% were male, with 73.4% of the participants reported consuming mushrooms. In a survey conducted in Antalya with 300 individuals, it was determined that 73% of them

consumed mushrooms, and 52.1% reported consuming mushrooms once a month. The study in Antalya also revealed that 54.7% of mushroom consumers obtained mushrooms from the market, 36.8% from shopping malls and supermarkets, and 8.4% from gathering them in nature (Uysal, 2014). According to a study of Kibar (2015) in Iğdır with 210 participants it was found that mushroom consumption rate was 68.6%. The main reasons for not consuming mushrooms were reported as not liking the taste (40.7%) and fear of poisoning (33.3%). Among

the mushroom consumers, only cultivated mushrooms were reported to be consumed by 56.6%, both cultivated and wild mushrooms were consumed by 37.2%, and only wild mushrooms were consumed by 6.2%. In a study performed by Yilmaz et al. (2016) with 260 participants in Trabzon, it was determined that 74.6% of the participants consumed cultivated mushrooms. Kaplan and Gözener (2022) conducted a study in Sivas with 384 individuals, and the results indicated that the participants were most familiar with cultivated mushrooms and mostly purchased them from the market. Other studies carried out in different regions also reported that the main reasons for not consuming mushrooms were fear of poisoning, taste preferences, and habits (Paksoy and Aksüt, 2012; Uysal, 2014).

The overall consumption habits showed that 49.4% of the participants consumed mushrooms, while 50.6% did not. According to the study of Wen et al. (2016) in Shanghai, China, and reported that gender, education level, and household size were not significantly effective on the frequency of mushroom purchases. However, the frequency and volume of edible mushroom purchases were significantly influenced consumer behavior. Boin and Nunes (2018) showed in their study that the mushroom consumption rate in Portugal was 81.9% with a participant number of 925. They also found that canned mushrooms were consumed more than fresh mushrooms. Among mushroom species, *Agaricus bisporus* was the most consumed mushroom. The frequency of mushroom consumption was determined to be once a week (41.1%) or once a month (23.7%). Ballesterol et al. (2021) conducted a mushroom consumption survey with 222 participants. It was reported that the majority of participants (99%) were consuming mushrooms due to their taste (71%) and perceived healthiness (26%). However, 76.0% of consumers were consuming mushrooms only once a month or rarely once a year. Oguntoye et al. (2022) performed a study on mushroom consumption in Nigeria with 250 participants. In this study it was found that the majority of participants (66%) were in the age range of 31-60, 68.8% were married, and 52% were with a higher education level. Among the

participants, 87.2% consumed mushrooms, with 50.8% were consuming mushrooms occasionally. Predanócyová et al. (2023) conducted a study in Slovakia with the participation of 1166 individuals to examine mushroom consumption behaviors. They found that 88.5% of the participants were consumers. When looking at the frequency of mushroom consumption, the rate of consuming mushrooms once or twice a month was determined to be 48.7%.

Türkiye mushroom consumption has shown rapid development in recent years; however, it cannot be said that mushroom consumption has reached to a desired level yet. Mushroom consumption in Türkiye is far behind European countries. As the population of Türkiye is rapidly increasing, it is necessary to show the required sensitivity regarding the importance and necessity of mushroom consumption, considering its role in human health and nutrition. Increasing mushroom consumption habits is crucial in reducing the protein gap in our people's diet.

CONCLUSION

In this study mushroom consumption behaviors in all regions of Türkiye was examined. As a result, it was found that 85% of the participants consumed mushrooms and 14% did not consume mushrooms. When the responses to some socio-demographic questions were examined, it was observed that the consumption rate of mushrooms was higher among women compared to men, and the consumption rate was over 50% in the age range of 26-45. Additionally, for individuals with undergraduate and postgraduate education, the consumption rate was found to be over 70%. According to the survey results on consumption behavior, the highest rates were: mushroom consumption mostly occurring a few times a month, preference for fresh mushrooms, purchasing mushrooms from supermarkets, consideration of color and appearance when buying mushrooms, and the preference for consuming mushrooms due to their delicious taste. Among non-consumers, the main reasons for not consuming mushrooms were the dislike of taste and lack of familiarity. Based on these results, it can be inferred that new activities

focusing on the nutritional content and marketing methods of edible mushrooms could be developed to address the reasons for not consuming mushrooms.

In another study, 53.6% of the participants were found to have knowledge about the nutritional value of mushrooms. Developing solutions to increase the consumption of mushrooms, which are important in terms of nutrition, health, and balanced diet, is crucial. The results of the survey indicated the need for better promotion of mushrooms, which are a protein-rich food (Koopman and Laney, 2010) with various beneficial properties due to their composition (Chang and Miles, 2004; Manz et al., 2001), and raising public awareness in this regard.

Researches performed in different countries emphasizes that more than 80% of participants consume mushrooms; however, the frequency of mushroom consumption was generally occasional. In this study, it was also found that although mushroom consumption was preferred, the frequency or consumption rates were generally occasional or in small quantities, like other studies.

It is important to develop solutions such as appealing and delicious usage options for the younger generation to popularize mushroom consumption among them, more affordable prices for families who are neglected due to low income, and easy-to-use forms for single individuals. Increasing mushroom consumption habits would be beneficial in reducing the protein gap for consumers. According to the survey results, participants believe that to increase the amount of mushroom consumption, consumer awareness about the nutritional value of mushrooms should be improved, mushroom consumption habits should be encouraged, and prices should be reduced to some extent.

Based on this information, it is believed that the research results will contribute significantly to the development of marketing-consumption chains in the mushroom sector, the determination of

marketing strategies, and the target audiences of companies.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank all institutions, individuals, and participants who participated in this study.

DISCLOSURE STATEMENT

The study was carried out with the decision of Akdeniz University Science and Engineering Sciences Scientific Research and Publication Ethics Committee (2022). Apart from the authors mentioned, no one or no institution has made any contribution to the preparation and publication of this study. Both authors contributed equally to the writing and editing of the article.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have no competing interests to declare.

REFERENCES

- Ballesteros, J., Manaois, R., Morales, A., Abilgos-Ramos, R. (2021). Towards Consumer-Oriented Mushroom-Based Product Development: An Exploratory Study in Rice-Based Farming Communities in Central Luzon, Philippines. *The Journal of Economics, Management and Agricultural Development*, 7, 1–19.
- Barea-Sepúlveda, M., Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Bouziane, H., López-Castillo, J. G., Palma, M. F., Barbero, G. (2022). Exposure to Essential and Toxic Elements via Consumption of Agaricaceae, Amanitaceae, Boletaceae, and Russulaceae Mushrooms from Southern Spain and Northern Morocco. *Journal of Fungi*, 8, 545. <https://doi.org/10.3390/jof8050545>.
- Boin, E. A. S. F., Azevedo, C. M. A. M., Nunes, J. M. S. A., Guerra, M. M. (2016). Consumer Acceptability and Descriptive Characterization of Fresh and Dried King Oyster (*Pleurotus eryngii*) and Hedgehog (*Hydnum repandum*) Mushrooms. *Journal of Food Research*, 5(4), 55–64. doi:10.5539/jfr.v5n4p55.
- Boin, E., Nunes, J. (2018). Mushroom Consumption Behavior and Influencing Factors in a Sample of the Portuguese Population. *Journal*

- of *International Food and Agribusiness Marketing*, 30 (1), 35-48, DOI: 10.1080/08974438.2017.1382420.
- Chang, S. T., Miles, P. G. (2004). *Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact*, 2nd Edition, CRC Press, Boca Raton. *Mushrooms*, 480.
- Cheskin, L. J., Davis, L. M., Lipsky, L. M., Mitola, A. H., Lycan, T., Mitchell, V., Mickle, B., Adkins, E. (2008). Lack of energy compensation over 4 days when white button mushrooms are substituted for beef. *Appetite*, 51(1), 50-57. <http://doi.org/10.1016/j.appet.2007.11.007>.
- FAO (2022). World crop production statistics. <http://faostat.fao.org/site/613/default>. (Erişim tarihi: 2023).
- Kaplan, E., Gözener, B. (2022). Determination of Mushroom Consumption Habits in Sivas Province. *Gaziosmanpaşa Journal of Scientific Research*. 11(3), 84-94. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gbad/issue/74308/1180236>.
- Kerrigan, R. W. (2016). *Agaricus* of North America. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 114, 1-574.
- Kibar, B. (2015). Determination of Mushroom Consumption Habits in Iğdir Province. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 5(4), 9-16.
- Koopman, R., Laney, K. (2010). *Mushrooms Industry and Trade*. United States International Trade Commission, Washington-USA.
- Manz, P., Aguzz, A., Pzzoferrato, L. (2001). Nutritional Value of Mushrooms Widely Consumed in Italy. *Food Chemistry*, 73, 321-325.
- Mayett, Y., Martinez-Carrera, D., Sinchez, M., Macías, A., Moraaf, S., Estrada-Torres, A. (2006). Consumption trends of edible mushrooms in developing countries: The case of Mexico. *Journal of International Food and Agribusiness Marketing*, 18, 151-176.
- Oguntoye, T. O., Adesope, A. A., Fatoki, O. A., Arowolo, O. V., Olawale, O. O., Oyetoki, A. O. (2022). Mushroom Consumption Pattern Among Residents Of Ibadan Metropolis In Oyo State, Nigeria. *Agro-Science*. 21(1), 34-38.
- Paksoy, M., Aksüt, M. (2012). Determination of mushroom consumption and consumption habits: The case of Kahramanmaraş. IX. Türkiye Edible Mushroom Congress, Pamukkale University. 18-20 October.
- Predanócyová, K., Július, Á., Marek, Š. (2023). "Exploring Consumer Behavior and Preferences towards Edible Mushrooms in Slovakia. *Foods*.12(3), 657.
- Selvi, S., Devi, P. U., Suja, S., Murugan, S. (2007). Comparison of nonenzymic antioxidant status of fresh and dried form of *Pleurotus florida* and *Calocybe indica*. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6(5), 468-71.
- Tuik (2023). Data.tuik.gov.tr
- Uysal, E. (2014). *Mushroom Market In Turkey And Behaviors Household Consumption Of Mushroom (The Case Of Antalya Province Urban Areas)*. Master Thesis.
- Verma, R. N., Singh, G. B., Bilgrami, K. S. (1987). Fleshy fungal flora. India- Manipur and Meghalaya. *Indian Mushroom Science*, 2:414-421.
- Wang, O., Gellynck, X., Verbeke, W. (2016). Chinese consumers and European beer: Associations between attribute importance, socio-demographics, and consumption. *Appetite*, 108, 416-424.
- Wen, Q., Lu, J., Cai, X., Yang, S., Zhang, C. (2016). Research on consumer behavior of edible mushroom and its influencing factors: Based on spot investigation in Beijing. *Advanced Journal of Social Science*, 5(3), 442-451. doi:10.12677/ASS.2016.53062.
- Yılmaz, A., Yıldız, S., Yıldırım, I., Aydın, A. (2016). Determination of Mushroom Consumption and Consumption Habits in Trabzon. *Journal of Fungi*, 7(2), 135-142.



IMPACT OF WET GLUTEN CONTENT ON NON-LINEAR VISCOELASTIC PROPERTIES OF WHEAT FLOUR DOUGHS

Gamze Yazar*

University of Idaho, Department of Animal, Veterinary and Food Sciences, Moscow, ID, USA

Received /Geliş: 27.09.2023; Accepted /Kabul: 21.11.2023; Published online /Online baskı: 27.11.2023

Yazar, G. (2023). Impact of wet gluten content on non-linear viscoelastic properties of wheat flour doughs. *GIDA (2023) 48 (6) 1276-1291 doi: 10.15237/ gida.GD23118*

Yazar, G. (2023). Yaş glüten miktarının buğday unu hamurunun doğrusal olmayan viskoelastik özellikleri üzerindeki etkisi. *GIDA (2023) 48 (6) 1276-1291 doi: 10.15237/ gida.GD23118*

ABSTRACT

The impact of wet gluten content in wheat flours on viscoelastic responses of the resulting wheat flour doughs under large deformations were studied using the Large Amplitude Oscillatory Shear (LAOS) tests. For this purpose, dough samples of hard red winter (HRW) wheat flour with $29.8\pm 0.26\%$ wet gluten and soft red winter (SRW) wheat flour with $23.9\pm 0.15\%$ wet gluten were obtained at the end of the Farinograph tests. Farinograph mixing stability and optimum water absorption capacity were higher for HRW wheat flour. LAOS tests revealed the contribution of gluten content to the resilience of wheat flour dough against the increasing deformations. Higher strain stiffening was found for HRW wheat flour dough with higher gluten content under large deformations with high frequency, resembling the deformations experienced during dough processing steps such as mixing or sheeting. Intracycle shear thinning behaviors of doughs were not affected by the gluten content at each frequency studied.

Keywords: wet gluten content, wheat flour dough, rheology, LAOS

YAŞ GLÜTEN MİKTARININ BUĞDAY UNU HAMURUNUN DOĞRUSAL OLMAYAN VİSKOELASTİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

ÖZ

Buğday unlarındaki yaş glüten miktarının, bu unlardan elde edilen hamurların yüksek deformasyonlar altında göstermiş oldukları viskoelastik özellikleri üzerindeki etkisi Yüksek Genlikli Salınımlı Kayma (LAOS) testi ile belirlenmiştir. Bu amaçla, $29.8\pm 0.15\%$ yaş glüten içeren sert kırmızı kışlık buğday unu ve $23.9\pm 0.26\%$ yaş glüten içeren yumuşak kırmızı kışlık buğday unundan Farinograf testi ile hamur örnekleri elde edilmiştir. Sert kırmızı kışlık buğday ununun Farinograf stabilite ve optimum su kaldırma değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. LAOS testleri, buğday unundaki glüten miktarının, artan deformasyonlar karşısında hamurun göstermiş olduğu mukavemete katkı sağladığını ortaya koymuştur. Daha yüksek yaş glüten miktarına sahip olan sert kırmızı kışlık buğday unu hamuru, yoğurma ve açma gibi hamur işleme aşamalarında görülen yüksek frekanslı deformasyonlar altında daha fazla gerinim katılmasına davranışı göstermiştir. Diğer taraftan, hamur örneklerinin her bir frekansta belirlenen döngü içi (salınım döngüsü) kayma incelenmesi değerlerinde glüten miktarına bağlı olarak belirgin bir değişiklik gözlemlenmemiştir.

Anahtar kelimeler: Yaş glüten miktarı, buğday unu hamuru, reoloji, LAOS

* Corresponding author/ Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: gamzey@uidaho.edu

☎: (+1) 208 874 9807

☎: (+1) 208 885 6420

Gamze Yazar; ORCID no: 0000-0002-9463-2425

INTRODUCTION

Protein content of wheat varies between 7% and 18% and the proteins that form gluten constitute a large part (around 80%) of the total proteins (Shewry et al., 1997; Peña et al., 2002; Uthayakumaran and Wrigley, 2017; Guzmán et al., 2022). In general, the quality of wheat flour for bread making is evaluated by the amount of protein and the quality of gluten (Best et al., 2023), as gluten is the main network-forming protein in wheat flour with its ability to impart the desired viscoelasticity to dough (Yazar et al., 2017a). The viscoelastic properties of the gluten network formed upon hydration of flour particles during mixing help dough retain gas to obtain the desired loaf volume and crumb texture in bread (Shewry et al., 1997; Uthayakumaran and Wrigley, 2017; Yazar et al., 2017a). Thus, variations in the breadmaking abilities of different wheat flours have been found to relate to the differences in gluten proteins (Uthayakumaran et al., 2002). The differences in gluten content, gluten composition (i.e., gliadin to glutenin ratio), and gluten quality in different wheat flours have been suggested as the origin of textural differences between a wide variety of baked products (Bonilla et al., 2022). Therefore, gluten quality and quantity characterization constitute a major part of wheat flour quality assessment in terms of baking performance (Yazar, 2023).

Gluten properties and functionality can be determined either using the physicochemical tests such as Gluten wash, Zeleny sedimentation; or it can be measured by testing the rheological properties of the whole wheat flour dough through the empirical methods including Farinograph, Extensograph, Mixograph, and Alveograph tests (Uthayakumaran and Wrigley, 2017; Best et al., 2023). Empirical methods have demonstrated their usefulness in industry and research to relate the rheological behavior of dough to baking performance, they have the disadvantage of providing data in arbitrary units, which makes the fundamental interpretation of results difficult (Campanella and Peleg, 2002; Dobraszczyk and Morgenstern, 2003). Therefore, fundamental rheological methods, that enable an accurate comparison and interpretation of the

obtained data, have gained attention for the characterization of dough's viscoelastic properties (Yazar and Demirkesen, 2023; Yazar, 2023). Fundamental rheological tests are classified as small deformation and large deformation tests based on the magnitude of the applied deformation (Duvarcı et al., 2019). Small deformation tests show little relationship with end-use performance as they are generally conducted under deformation conditions inappropriate for breadmaking (Amemiya and Menjivar, 1992; Dobraszczyk and Morgenstern, 2003; Yazar, 2023). Studies have shown that small strain rheology was more advantageous for understanding molecular interactions and microstructure, while fundamental large strain rheology could be used to differentiate different types of wheat flours as these tests can approach the deformations dough experiences during processing (Kim et al., 2008).

In general, the higher the protein content of a wheat flour, the greater the gluten formation (Best et al., 2023). In other words, the amount of gluten in wheat flour is an index of the protein content (Kulkarni et al., 1987). Different varieties of wheat vary in their protein content and in the composition and distribution of gluten proteins (Best et al., 2023). Hard wheat flours (both durum and common) tend to have higher protein content than soft wheat flours (Hoseney and Rogers, 1990). Therefore, hard red winter wheat and soft red winter wheat flours were used in this study to determine the impact of gluten content in wheat flours on non-linear viscoelastic properties of the resulting doughs. For this purpose, gluten functionality of the selected wheat flours was studied through the gluten wash method, Farinograph mixing, and Large Amplitude Oscillatory Shear (LAOS) tests. Thus, this study aims to reveal the possibility of using LAOS tests as a fundamental large strain rheological testing method to differentiate between wheat flours based on their gluten contents, rather than using empirical dough testing methods.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Hard red winter wheat flour [$11.54 \pm 0.14\%$ moisture, determined according to the AACC Approved Method 44-15.02 (AACC, 2010)] and soft red winter wheat flour [$12.7 \pm 0.11\%$ moisture, determined according to the AACC Approved Method 44-15.02 (AACC, 2010)] were obtained from Siemer Milling Company (Hopkinsville, KY).

Methods

Wet gluten content

Wet gluten contents of wheat flours were determined according to the hand-washing method [AACC Approved Method 38-10.01 (AACC, 2010)]. The results were corrected to 14% moisture content and expressed in percentages (%).

Farinograph test and dough preparation for the LAOS tests

Farinograph tests according to the AACC Approved Method 54-21.02 (AACC, 2010) were conducted using the Brabender Farinograph (Duisburg, Germany) equipped with a 300-g capacity mixing bowl to determine the mixing properties and optimum water absorption capacities of the wheat flours used in this study. Mixing tests were performed in triplicates and a representative Farinogram for both dough samples were provided. Wheat flour samples (weighed based on 14% moisture) were mixed with added water at their optimum water absorption capacities for 20 minutes at 63 rpm. Samples for the LAOS tests were prepared in an identical manner.

Large Amplitude Oscillatory Shear (LAOS) tests

The non-linear viscoelastic properties of doughs from wheat flours with different wet gluten contents were measured with a DHR-3 Rheometer (TA Instruments, USA) using the LAOS (Large Amplitude Oscillatory Shear Test) mode. Measurements were conducted at strain amplitudes ranging from 0.01% to 200% at three different frequencies (1, 10, and 20 rad/s) at 25°C. A 40 mm sand-blasted plate and a gap of 2 mm were used. Dough samples were rested until the

axial normal force relaxed to 1 N. LAOS tests were conducted in triplicates and the averages of oscillatory data were calculated using Fourier transforms as suggested by Ewoldt et al. (2008). LAOS data were analyzed using the TRIOS software (TA Instruments, USA) and plotted using OriginPro 8.6.

Statistical analysis

OriginPro 8.6 was used for statistical analyses with 95% confidence level. Tukey's comparison tests were applied ($P < 0.05$) to compare the data obtained for the dough samples with different gluten content. Rheology data were compared separately for each frequency applied (1 rad/s, 10 rad/s, 20 rad/s) at each LAOS strain. Lettering system was used to show significant difference between samples.

RESULTS AND DISCUSSION

Wet gluten contents of flours

Wet gluten content for HRW wheat flour was $29.8 \pm 0.15\%$, while it was $23.9 \pm 0.26\%$ for SRW wheat flour, indicating a significantly higher wet gluten content for HRW wheat flour ($P < 0.05$). Hard wheat flours were suggested to have higher protein content, and thus higher gluten content compared to soft wheat flours (Hoseney and Rogers, 1990). Wet gluten contents of HRW wheat flour and SRW wheat flour were found to range between 15.8- 42.1% (Kulkarni et al., 1987; Ohm and Chung, 2002; Maghirang et al., 2006) and between 8.6- 32.8% (Finney and Bains, 1999; Ma and Baik, 2016), respectively in earlier studies that were in line with the findings of this study.

Mixing properties of wheat flours

Figure 1 shows the Farinograms for hard red winter wheat flour and soft red winter wheat flour for an evaluation of the mixing properties and optimum water absorption capacities. Hard wheat flour showed two hydration peaks, appearing at the 1st minute and at the 9th minute of Farinograph mixing (Figure 1a). Certain flours show an exceptionally large hydration peak followed by a second later peak. This second peak is considered as the true dough development time as it correlates more directly with the baking performance of the flour being tested (Bock,

2022). Therefore, the peak time or dough development time for the HRW wheat flour was determined as 9 minutes in this study. Besides, the optimum water absorption capacity of HRW wheat flour was found as $63.3 \pm 0.11\%$ (v/w, flour weight basis), arrival time was 0.5 minutes, departure time was longer than 20 minutes, and its stability was equal to 16.0 minutes (Figure 1a). On the other hand, soft wheat flour dough showed only one development peak during the Farinograph mixing at 0.6 minute (Figure 1b). The optimum water absorption capacity of SRW wheat flour was $60.2 \pm 0.15\%$ (v/w, flour weight basis), arrival time was 0.35 minutes, departure time was 3.0 minutes, and its stability was 2.65 minutes. According to the classification of wheat flour strength using the Farinograph tests that was brought by Bock (2022), HRW wheat flour can be classified as a strong flour (Figure 1a) with the stability ranging between 5- 10 minutes, dough development time ranging between 2.5- 14

minutes, and water absorption ranging between 60-63%. When the shape of the Farinogram is considered, HRW wheat flour can be defined as very strong due to the presence of double hydration peaks (Don, 2022). On the other hand, the strength of SRW wheat flour can be defined as weak to medium (Figure 1b) with its stability below 3 minutes, dough development time below 2.5 minutes, and water absorption ranging from 55% to 60% (Bock, 2022). Ultimately, all the Farinograph parameters suggested a less resilient and a weaker network for SRW wheat flour compared to HRW wheat flour. The optimum water absorption capacity determined for HRW wheat flour was significantly higher ($P < 0.05$) than that of SRW wheat flour. The water absorption for soft wheat lines were 50.7–59.0%, while it ranged between 54.2–63.4% for hard wheat lines (Cao et al., 2017), supporting the Farinograph results reported in this study.

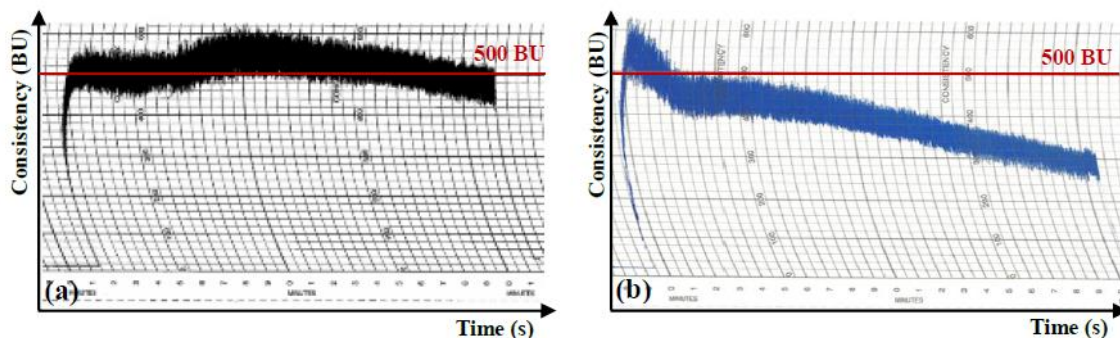


Figure 1. Farinograms for hard red winter wheat flour (a) and soft red winter wheat flour (b)

The mixing properties determined for hard and soft wheat flours using the Farinograph tests concurred with the wet gluten content values found for these wheat flours. This outcome indicates that the higher the gluten content, the higher the ability of the flours to absorb water. Besides the gluten properties, the higher water absorption capacity of HRW wheat flour has also been attributed to the higher levels of starch damage occurring during the milling of hard wheats (Ohm and Chung, 2002). However, as the Farinograph mixing proceeds, damaged starch granules lose their ability to hold all the water they absorbed in the early stages of mixing, leading to a progressive decrease in the stability (Sapirstein

et al., 2007). This was not the case for the HRW wheat flour tested in this study, as evidenced by the double peak, and improved stability observed in the Farinograms for this flour (Figure 1a). Water absorption capacities determined through the Farinograph test have been reported to increase with respect to an increase in the grain protein content (Maghirang et al., 2006). Thus, the stronger network and higher water absorption found for HRW wheat flour compared to SRW wheat flour can be affiliated to the gluten contents of these flours. Starch damage was not included as a quality parameter in this study but should be considered in future work.

LAOS properties of wheat flour doughs with different wet gluten content

Linear and non-linear viscoelastic properties

Strain sweep data obtained in the linear region showed slightly higher G' values for SRW wheat flour dough (Figure 2b) compared to HRW wheat flour dough (Figure 2a) at all frequencies studied, indicating a relatively elastic network for soft wheat flour dough as G' was related to elastic properties. This result was interesting as HRW wheat flour had higher wet gluten content. However, it should be noted that gluten quality and gluten composition (i.e., gliadin to glutenin ratio) in wheat flours contributed to dough strength besides the gluten content (Khatkar et al., 1995; Uthayakumaran et al., 2002; Meerts et al., 2017). The higher G' values obtained for SRW wheat flour dough in the linear region could be due to the higher gluten quality and/or higher

glutenin to gliadin ratio in this flour. The impact of gluten quality and composition could be reflected on to linear viscoelastic properties of HRW and SRW wheat flour doughs as both wheat flour doughs were mixed at their optimum water absorption capacities. This difference in the viscoelastic behaviors of HRW and SRW wheat flours determined in the linear region conflicted with the Farinograph data as Farinograms indicated a weaker network for SRW wheat flour (Figure 1a,b). This is plausible as the deformations applied in the Farinograph mixing are large, complex, and non-uniform, while LAOS sweeps apply small and uniform deformations in the linear region (Yazar, 2023). Thus, for the hard and soft wheat flours tested in this study, the differences in the gluten composition became prominent under small deformations, while the difference in the gluten content dominated the viscoelastic behavior under large deformations.

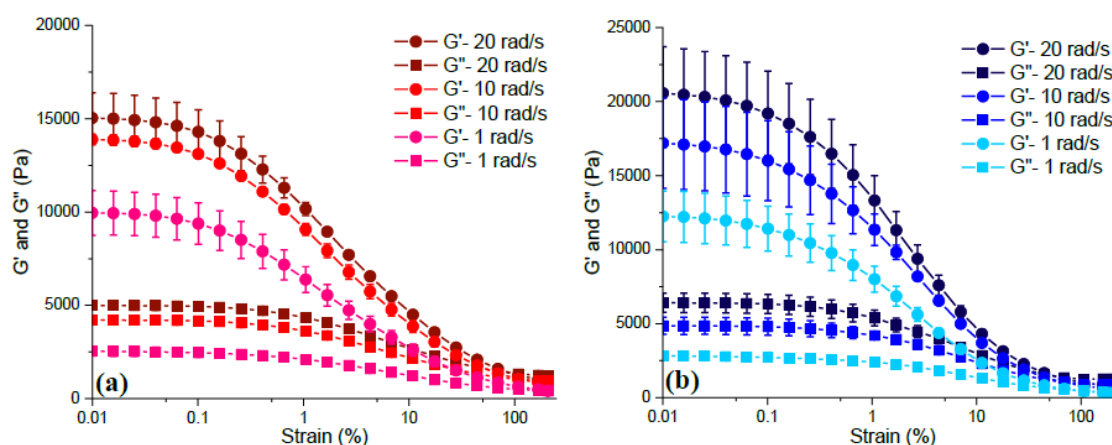


Figure 2. Strain sweeps: (a) hard wheat flour dough, (b) soft wheat flour dough [strain amplitude (γ): 0.01- 200%; frequencies (ω): 1 rad/s, 10 rad/s, 20 rad/s]

G' and G'' values should be evaluated simultaneously for an in-depth analysis of the viscoelastic behavior. Thus, $\tan\delta$ values resulting from the ratio of G'' to G' (Duvarcı et al., 2019) were evaluated for both wheat flour doughs at selected strain amplitudes (Table 1). Even though, G' values were higher for SRW wheat flour dough, $\tan\delta$ values revealed no significant difference ($P > 0.05$) between the linear viscoelastic behaviors of both wheat flour

doughs. As the amplitude of strain increased beyond 1.5%, the differences in $\tan\delta$ values of HRW and SRW wheat flour doughs started to become more evident. In the non-linear region, $\tan\delta$ values for HRW wheat flour dough were lower than those of SRW wheat flour dough ($P < 0.05$), suggesting a more elastic behavior for HRW wheat flour dough with higher gluten content against large deformations.

Table 1. Phase angle values for soft wheat flour dough and hard wheat flour dough at different LAOS strains (0.015%, 1.5%, 25%, 70%, 110%, 200%) and frequencies (1, 10, and 20 rad/s).

LAOS Strains (%)	Tangent δ					
	1 rad/sec		10 rad/sec		20 rad/s	
	Hard wheat flour dough	Soft wheat flour dough	Hard wheat flour dough	Soft wheat flour dough	Hard wheat flour dough	Soft wheat flour dough
0.015	0.25±0.00 ^a	0.23±0.02 ^a	0.30±0.00 ^a	0.28±0.01 ^a	0.33±0.01 ^a	0.31±0.01 ^a
1.5	0.35±0.01 ^a	0.33±0.01 ^a	0.42±0.01 ^a	0.40±0.01 ^a	0.45±0.00 ^a	0.43±0.01 ^a
25	0.55±0.03 ^a	0.72±0.01 ^b	0.66±0.03 ^a	0.79±0.00 ^b	0.71±0.02 ^a	0.83±0.01 ^b
70	0.68±0.04 ^a	0.91±0.03 ^b	0.85±0.03 ^a	1.01±0.02 ^b	0.91±0.05 ^a	1.08±0.04 ^b
110	0.79±0.05 ^a	1.04±0.04 ^b	0.98±0.03 ^a	1.17±0.03 ^b	1.06±0.07 ^a	1.25±0.06 ^b
200	0.99±0.06 ^a	1.31±0.06 ^b	1.24±0.04 ^a	1.50±0.02 ^b	1.34±0.10 ^a	1.58±0.03 ^b

tan δ values of hard and soft winter wheat flour doughs were evaluated separately at different LAOS strain amplitudes for each frequency applied.

Means that do not share a letter are significantly different ($P < 0.05$).

Significance level is 0.05.

G' and G'' values for SRW wheat flour dough showed crossover ($G' = G''$) between the strain amplitudes of 45% and 70% at the frequencies studied (Figure 2b). Beyond these strain amplitudes, SRW wheat flour dough had more viscous-like behavior ($G'' > G'$). On the other hand, G' and G'' showed crossover for HRW wheat flour dough at the strain amplitudes of 70% and 110% when the frequency was 20 rad/s and 10 rad/s, respectively (Figure 2a). At the lowest frequency (1 rad/s), G' and G'' did not show a crossover up to the highest strain amplitude (200%), suggesting higher resilience for HRW wheat flour dough under large deformations when compared to SRW wheat flour dough.

The strain amplitudes at which G' and G'' crossover occurs increased for both wheat flour doughs as the frequency decreased. This revealed a delay in the viscous-like behavior against increasing deformations when the frequency was low. A similar trend was also captured through tan δ values, which increased as the amplitude of strain gradually increased, but decreased as frequency decreased (Table 1). This relatively more elastic behavior of wheat flour doughs at lower frequencies was attributed to the gluten network having more time to recover against the increasing magnitude of deformations at low frequencies (Yazar et al., 2022).

Strain sweep data showed similar linear viscoelastic properties for both HRW and SRW wheat flour dough. However, the higher wet gluten content in HRW wheat flour dough resulted in higher resilience against large deformations in comparison to SRW wheat flour dough. The information obtained regarding the viscoelastic behavior of wheat flour doughs in the non-linear region through the strain sweeps concurred with the Farinograph data that pointed out to a higher stability for HRW wheat flour dough against mixing deformations (Figure 1).

Hyun et al. (2002) provided a classification for the LAOS behaviors of materials. According to this classification, both wheat flour doughs showed type I non-linear behavior regardless of their wet gluten contents (Figure 3). Type I non-linear behavior (strain thinning) is described by the decrease in both normalized G' and G'' versus increasing amplitude of strain (Hyun et al., 2002). The normalization of G' and G'' in this evaluation helps us eliminate the redundancies and better observe the overshoots or decays (Yazar et al., 2023). In the linear region, the polymer chains are in a state of entanglement and thus G' and G'' versus strain are constant, as observed in Figure 2 for both wheat flour doughs. As the amplitude of strain is gradually increased, polymer chains disentangle, and then align with the flow field resulting in a decrease in the moduli as seen in Figure 3. Yazar et al. (2022) characterized the non-linear viscoelastic behavior of hydrated

gluten as a mixture of type III and type IV. In addition, hydrated wheat glutenin was found to have type III non-linear behavior (Yazar et al., 2023), while hydrated gliadin showed type IV non-linear behavior (unpublished data). Type III non-linear behavior (weak strain overshoot) is characterized by the decrease in G' and the increase in G'' with respect to increasing strain amplitude. The complex structure of a materials with type III LAOS behavior resists against deformation up to a certain strain, where G'' increases. Then, the complex structure is destroyed by large deformation over the critical strain, after which the polymer chains align with the flow field, resulting in a decrease in G'' . On the other hand, in type IV non-linear behavior (strong strain overshoot), the interaction between polymers was considered to be related with the intermolecular interaction between the hydrophobic groups and the interaction energy was suggested to be stronger than in type III (Hyun et al., 2002). Thus, wheat gluten consisting of almost equal portions of gliadin and glutenin proteins showed a mixture of type III and IV LAOS behaviors as suggested by Yazar et al.

(2022). Although wheat gluten showed G' and G'' overshoots at the onset of non-linearity, G' and G'' values of both wheat flour doughs decreased as strain amplitude increased. Materials with type I non-linearity (i.e., wheat flour dough) were suggested to flow more readily compared to other materials with type III and IV non-linear behaviors (i.e., gluten, gliadin, glutenin). (Hyun et al., 2002). These findings revealed the contribution of starch to the decay observed in the moduli for wheat flour doughs in the non-linear region. There is an inverse relationship between amount of protein and starch. Thus, if protein content is higher in a flour, starch content must be lower (Hoseney and Rogers, 1990). As seen in Figure 3, the magnitudes of moduli for SRW wheat flour dough were slightly lower than those of HRW wheat flour dough at large strain amplitudes, indicating a more viscous-like behavior for SRW wheat flour dough under large deformations. This could be due to the presence of lower gluten content in SRW wheat flour dough, which eventually resulted in higher starch content compared to HRW wheat flour dough.

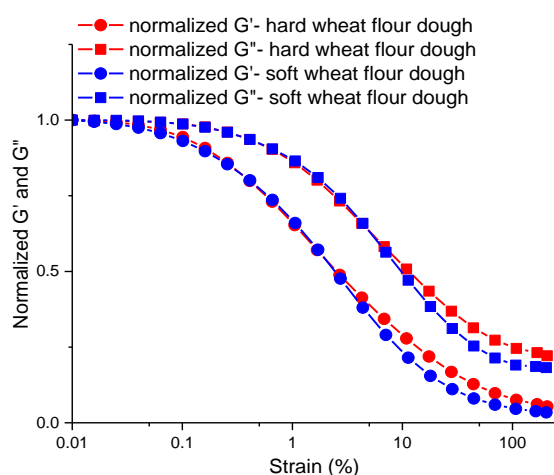


Figure 3. Normalized storage (G') and loss (G'') moduli as a function of strain at 10 rad/s for soft wheat flour dough and hard wheat flour dough

Analysis of the Lissajous-Bowditch curves

Lissajous-Bowditch curves, which provide a unique rheological fingerprint of complex fluids (Ewoldt et al., 2007), are parametric plots of strain versus stress (elastic perspective) or strain rate versus stress (viscous perspective) (Macias-

Rodriguez et al., 2018; Yazar et al., 2019). In this study, Lissajous-Bowditch curves were used to gain a qualitative insight into the impact of wet gluten content in wheat flours on non-linear viscoelastic properties of the resulting wheat flour doughs. Figure 4 shows the transition from linear

to non-linear viscoelastic region for HRW and SRW wheat flour doughs through the elastic Lissajous-Bowditch curves at selected strain amplitudes including 0.015%, 1.5%, 25%, 70%, 110%, 200% and at low and high frequencies (1 rad/s and 20 rad/s). For both wheat flour doughs, linear viscoelasticity dominated the stress response at $\gamma_0 = 0.015\%$ as evidenced by the narrow elliptical trajectories for the elastic Lissajous-Bowditch curves (Figure 4a,b). At strain amplitudes $\gamma_0 \geq 1.5\%$, elliptical trajectories started to become wider gradually as the amplitude of strain increased gradually up to 200%, suggesting a transition from an elastically dominated to a viscously dominated viscoelastic behavior. These findings were concurrent with the strain sweep data indicating the onset of non-linearity to occur at strain amplitudes ranging from 0.1% to 0.25% (Figure 2a,b).

Plotting the raw data from each strain cycle as $\sigma(t)$ versus $\gamma(t)$ reveals additional non-linear characteristics that are obscured by G_1' and G_1'' (Ewoldt et al., 2008). The clockwise rotation of the elastic Lissajous-Bowditch curves with increasing strain amplitudes was reported to be an indication of gradual softening (Ewoldt et al., 2007). When the elastic Lissajous-Bowditch curves of the wheat flour doughs were evaluated (Figure 4a,b), the loops for SRW wheat flour dough showed a higher degree of clockwise rotation at $\gamma_0 \geq 25\%$, suggesting a higher degree of softening for wheat flour doughs with lower gluten content against the increasing deformations. The softening behavior was more pronounced at 1 rad/s (Figure 4b), compared to that probed under LAOS deformations at 20 rad/s frequency (Figure 4a). This finding pointed out to a higher degree of softening for SRW wheat flour dough as the strain amplitude increased gradually at low frequencies, which supported the $\tan\delta$ values (Table 1).

As the amplitude of strain increased, the distortion from the elliptical shape in the elastic Lissajous-Bowditch curves was associated with strain stiffening (Ewoldt et al., 2007). Elastic Lissajous-Bowditch curves for both wheat flour doughs (Figures 4a and 4b) started to show

distortion from elliptical shape with increasing strain amplitude at $\gamma_0 > 1.5\%$ (stress upturns within a cycle), indicating intracycle strain stiffening behavior. These stress upturns were more pronounced for both wheat flour doughs when the deformation frequency was 1 rad/s (Figure 4b), which suggested a higher degree of strain stiffening behavior under large deformations with low frequency regardless of the gluten content in wheat flour doughs. On the other hand, at the highest strain amplitude (200%) and the highest frequency (20 rad/s) combination studied, the distortion from the elliptical shape was more pronounced for HRW wheat flour dough, while the elastic Lissajous-Bowditch curve was more rounded for SRW wheat flour dough (Figure 4a). This finding obtained through the elastic Lissajous-Bowditch curves revealed a higher strain stiffening behavior for wheat flour doughs with higher gluten content under high frequency-large deformation processing conditions (Figure 4a), which could be experienced during dough processing steps such as mixing, or sheeting (Dobrazsczyk and Morgenstern, 2003).

Viscous Lissajous-Bowditch curves started to show narrower elliptical trajectories for both HRW and SRW wheat flour doughs as the amplitude of strain increased (Figure 5), suggesting viscous dissipation. The increase in the viscous-like behavior with increasing strain amplitudes was more pronounced for SRW wheat flour dough (Figure 5), as evidenced by the higher degree of decrease in the area of the curves from circular trajectories to narrow ellipses when compared to the change found for HRW wheat flour dough. The change in the viscous Lissajous-Bowditch curves of SRW wheat flour and HRW wheat flour dough was more pronounced at 1 rad/s (Figure 5b) compared to that at 20 rad/s (Figure 5a). This higher degree of difference between the viscous Lissajous-Bowditch curves of the wheat flour doughs at 1 rad/s concurred with the $\tan\delta$ values (Table 1) and elastic Lissajous-Bowditch curves (Figure 4a,b), indicating a higher viscous decay for wheat flour dough with lower gluten content under large deformations with low frequency.

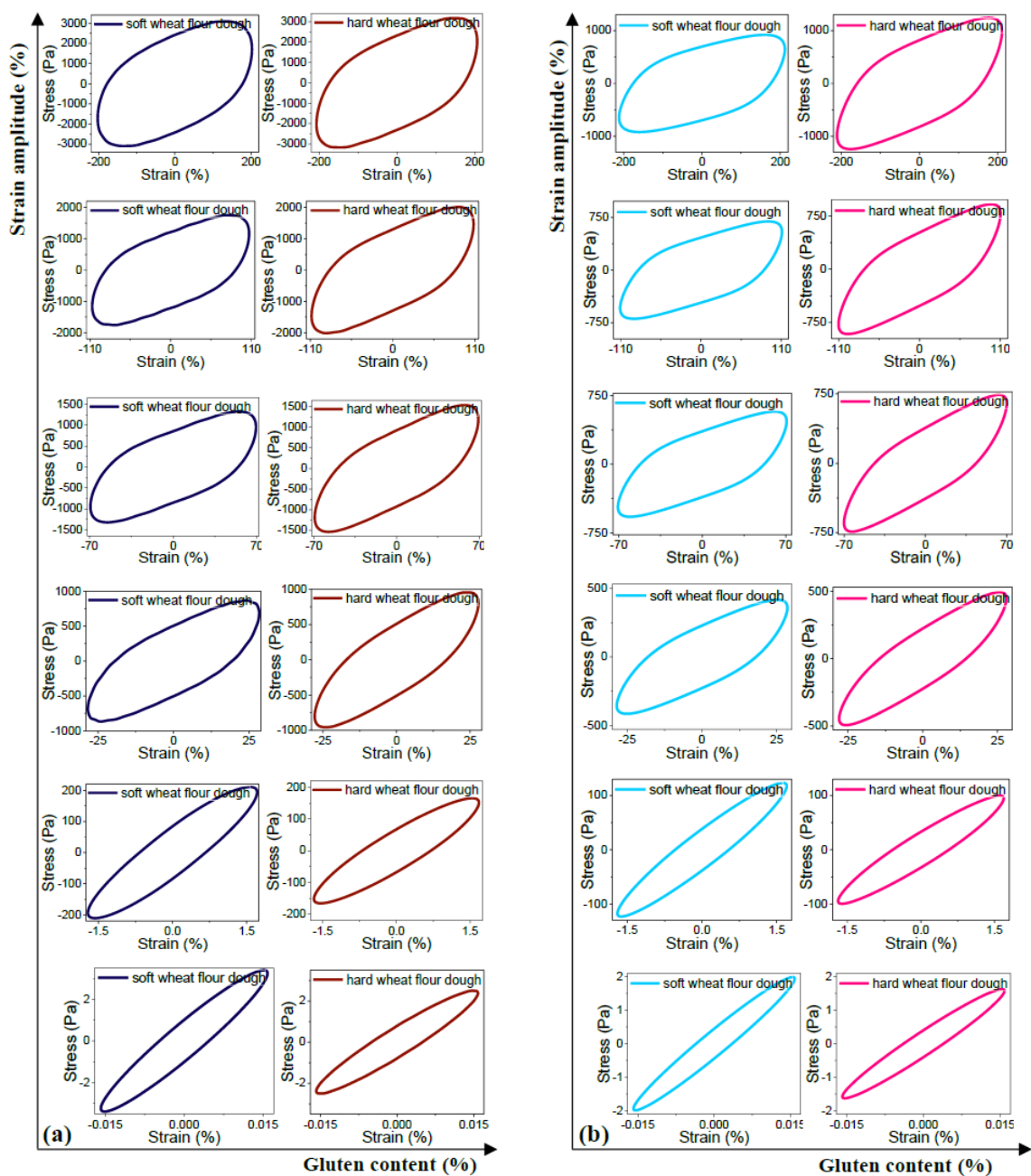


Figure 4. Raw elastic Lissajous-Bowditch curves for HRW and SRW wheat flour doughs at selected strains of 0.015%, 1.5%, 25%, 70%, 110%, 200%. Dark color indicates high frequency [(a): 20 rad/s] and light color indicates low frequency [(b): 1 rad/s].

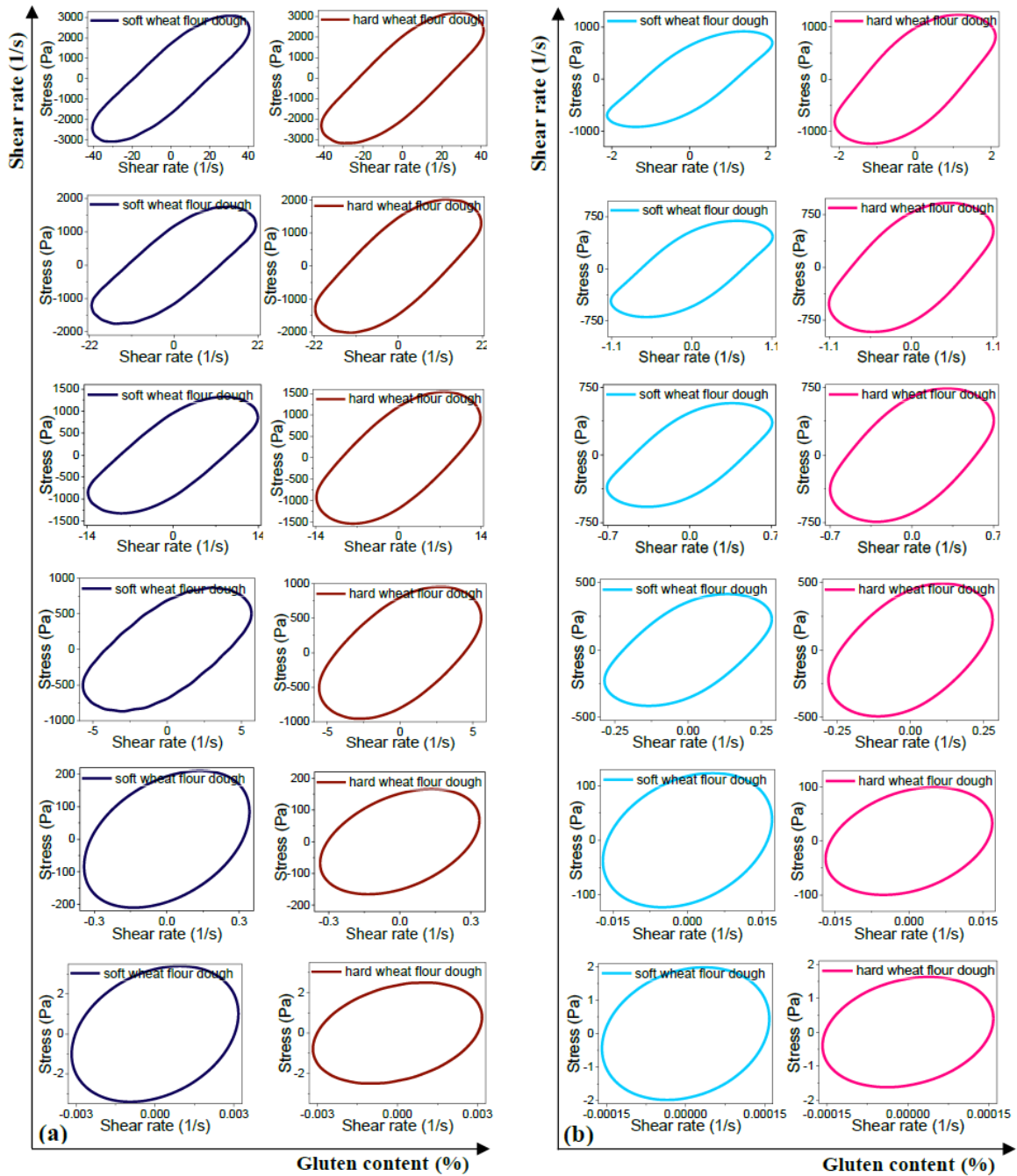


Figure 5. Raw viscous Lissajous-Bowditch curves for HRW and SRW wheat flour doughs. Shear rates correspond to strains 0.015%, 1.5%, 25%, 70%, 110%, 200%. Dark color indicates high frequency [(a): 20 rad/s] and light color indicates low frequency [(b): 1 rad/s].

LAOS parameters for wheat flour doughs as a function of gluten content

Elastic LAOS parameters

To further describe the non-linear viscoelastic properties captured by the elastic and viscous Lissajous-Bowditch curves for wheat flour doughs with different gluten content, meaningful LAOS parameters described by Ewoldt et al. (2008) were also analyzed. Non-linear elastic properties of SRW wheat flour dough and HRW wheat flour dough were shown in Figure 6a through the elastic Chebyshev coefficients. The magnitudes of the third-order elastic and viscous Chebyshev coefficients e_3 and v_3 can be used to indicate SAOS to LAOS transitions. Moreover, e_3 and v_3 can reveal the underlying causes driving the nonlinear elastic and viscous intracycle stress response (Yazar et al., 2019). The sign of the third-order elastic Chebyshev coefficient indicates if the material shows strain stiffening ($e_3 > 0$) or strain softening ($e_3 < 0$). Ultimately, the magnitude of e_3/e_1 provides a quantitative measure of the degree of non-linearity (Ewoldt et al., 2007). A positive value for the ratio of the third-order elastic Chebyshev coefficient to the first-order elastic Chebyshev coefficient ($e_3/e_1 > 0$) was associated with intracycle strain stiffening behavior (Ewoldt et al., 2008). Figure 6a indicated positive values (> 0) for the magnitudes of e_3/e_1 for both HRW and SRW wheat flour doughs, suggesting intracycle strain stiffening behavior in the non-linear region at all frequencies studied. Strain stiffening behavior for HRW wheat flour dough (Yazar et al., 2016a) and for SRW wheat flour dough (Yazar et al., 2016b) obtained at different stages of Farinograph mixing were found earlier. At the highest frequency (20 rad/s), as the amplitude of strain increased, a decrease was observed in the magnitude of the strain stiffening behavior of SRW wheat flour dough at a strain amplitude of 70%; while it occurred at around 110% for HRW wheat flour dough (Figure 6a). These critical strain amplitudes indicating a decay in the strain stiffening behaviors of wheat flour doughs emphasized the resilience of the HRW wheat flour dough against the increasing deformations due to its higher gluten content when compared to SRW wheat flour dough. At these critical strain amplitudes,

the gluten network starts to weaken with increasing strain at high frequencies and the resulting mechanical energy introduced in the dough (Yazar et al., 2016b).

As the frequency of the LAOS deformation decreased to 10 rad/s, the decrease in e_3/e_1 values was observed at 110% strain for SRW wheat flour dough and at 170% strain for HRW wheat flour dough (Figure 6a). When the frequency of deformation further decreased to 1 rad/s, the magnitude of e_3/e_1 for SRW wheat flour dough started to decrease at the strain amplitude of 170%, while no decrease was observed in the strain stiffening behavior of HRW wheat flour dough up to the strain amplitude of 200% (Figure 6a). The change found in the e_3/e_1 values elucidated the impact of deformation frequency on the strain stiffening behavior of wheat flour dough (Yazar, 2023). Due to its viscoelastic nature, wheat flour dough is known to partially recover after being stretched rapidly, followed by the sudden removal of the force (Delcour and Hosoney, 2010). The gluten network might undergo bond ruptures as the amplitude of strain kept increasing at high frequencies (Yazar et al., 2016a,b), leading to a more limited recovery. On the other hand, Chebyshev coefficients also showed that the gluten network had time to stretch and reached its limit in terms of its ability to elastically deform at the lower frequencies, as evidenced by the strain amplitude where the decay in the strain stiffening behavior started to increase with the decrease in frequency (Figure 6c). In other words, the energy delivery from the applied strain at low frequencies was quite slow. Thus, gluten filaments found enough time to recreate network junctions that had been lost during stretching. And the higher rate of network junction creation than the rate of loss under low frequency LAOS deformations resulted in higher strain stiffening behavior (Yazar et al., 2019). When e_3/e_1 values of HRW and SRW wheat flour doughs were evaluated at the highest LAOS strain applied (200%), a significant difference ($P < 0.05$) was found at 20 rad/s (Figure 6a). However, the difference was not significant ($P > 0.05$) at lower frequencies (Figure 6b,c), which revealed that the contribution of gluten content in wheat flours to

the strain stiffening behavior of doughs being more pronounced at high frequencies under large deformations.

Strain stiffening behavior of wheat flour dough is considered to occur due to entanglement coupling of large glutenin molecules (Sroan et al., 2009). The higher degree of strain stiffening behavior found for HRW wheat flour dough especially at high frequencies (Figure 6) is indicative of stronger entanglements in the presence of higher gluten content in wheat flours. Strain stiffening can be simply defined as the stress developed by the protein–starch matrix against the deformation resulting from the expanding gas cells (van Vliet et al., 1992; Yazar et al., 2017a). Expansion of gas cells during fermentation causes thinning of the dough film surrounding the gas cells (Sroan et al., 2009), and the extended gluten-starch matrix around the gas cells was suggested to be prevented from rupturing by the strain stiffening response (van Vliet et al., 1992; van Vliet, 2008).

If the strain stiffening behavior of a dough system is above or below the optimum, a decrease is expected to occur in the loaf volume of the resulting baked product (Yazar et al., 2017a). Therefore, strain stiffening is an important phenomenon in terms of baking performance of wheat flours. The viscoelastic nature of wheat flour dough determines the degree of strain stiffening behavior under large deformations and, thus, the degree of dough expansion and loaf volume (Yazar, 2023). Gluten is the origin of the viscoelastic behavior in wheat flour doughs (Uthayakumaran et al., 2002; Yazar et al., 2017b). And the higher gluten content in HRW wheat flour compared to SRW wheat flour enabled HRW wheat flour dough to show higher degree of strain stiffening behavior against high frequency-large deformations (Figure 6a), that shed light on to the differences in the quality characteristics of baked products formulated with HRW and SRW wheat flours.

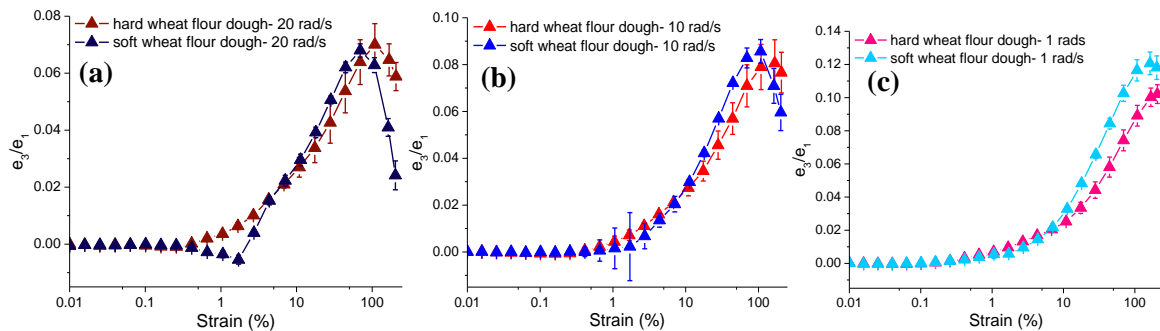


Figure 6. e_3/e_1 values for hard red winter wheat flour dough and soft red winter wheat flour dough [γ : 0.01%- 200%, ω : 20 rad/s (a), 10 rad/s (b), 1 rad/s(c)]

A constant increase in e_3/e_1 values of dough systems against the increasing LAOS strain at 10 rad/s frequency was found to deteriorate loaf volume in the resulting breads. However, an increase in e_3/e_1 followed by a decrease at larger strain amplitudes, as in the case of wheat flour doughs (Figure 6), was reported to contribute to loaf volume (Yazar et al., 2017a). The delay observed in the strain stiffening behavior of HRW wheat flour dough against the increasing strain amplitudes (Figure 6) suggested an understanding of the reason behind the decrease in the loaf volume for breads prepared with strong wheat

flour with high gluten content and quality (Sapirstein et al., 2007).

Viscous LAOS parameters

In the non-linear region, a positive value for the ratio of the third-order viscous Chebyshev coefficient to the first-order ($v_3/v_1 > 0$) is associated with intracycle shear thickening, while a negative value ($v_3/v_1 < 0$) indicates intracycle shear thinning behavior (Ewoldt et al., 2008). Figure 7 shows the v_3/v_1 values for the HRW and SRW wheat flour doughs. Both wheat flour doughs showed intracycle shear thinning behavior

in the non-linear region as evidenced by the negative values obtained for v_3/v_1 values (< 0) at all frequencies studied (Figure 7). Intracycle shear thinning behavior for HRW wheat flour dough (Yazar et al., 2016a) and SRW wheat flour dough (Yazar et al., 2016b) obtained at different stages of Farinograph mixing was also reported. The magnitude of intracycle shear thinning behavior in the non-linear region was higher at higher frequencies for both wheat flour doughs, as evidenced by the lower v_3/v_1 values observed at 20 rad/s (Figure 7a) compared to those at 10 rad/s (Figure 7b) and 1 rad/s (Figure 7c).

The degree of shear thinning behavior for both wheat flour doughs started to decrease once a certain strain amplitude was reached. At the highest frequency applied (20 rad/s), this decrease occurred at 110% strain amplitude (Figure 7a). As

the frequency decreased to 1 rad/s (Figure 7c), the decrease in the shear thinning behaviors of wheat flour doughs was observed at the strain amplitude of 170%. A difference at this strain amplitude was found between HRW and SRW wheat flour doughs at 10 rad/s frequency (Figure 7b), where the decrease in shear thinning occurred at 110% for SRW wheat flour dough and at 170% for HRW wheat flour dough. This difference probed in the shear thinning behaviors of the tested wheat flour doughs under large deformations indicated that lower gluten content in wheat flour doughs induced shear thinning behavior at smaller deformations with high frequencies. The shear thinning behavior started to occur at larger deformations in the presence of higher gluten content in wheat flours, which was revealed for the first time in this study through the LAOS tests.

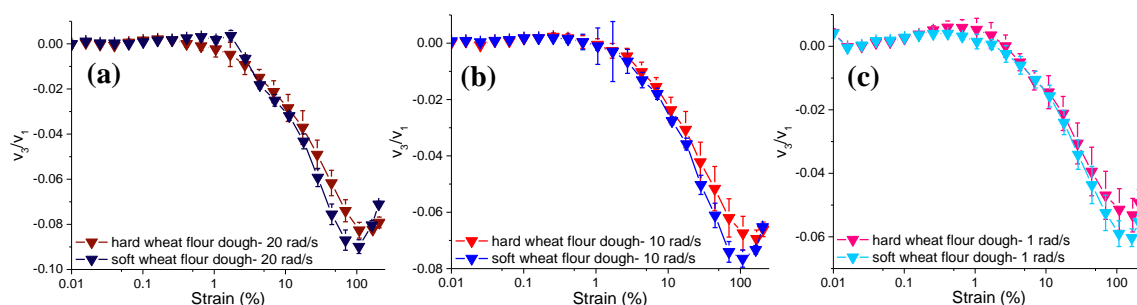


Figure 7. v_3/v_1 values for hard red winter wheat flour dough and soft red winter wheat flour dough (γ : 0.01%- 200%, ω : 1 rad/s, 10 rad/s, 20 rad/s)

Viscous LAOS properties revealed that the gluten content of wheat flours did not significantly affect the shear thinning behaviors of the resulting doughs at each frequency studied. This finding showed that the differences in the gluten content of wheat flours affected the elastic properties of the resulting doughs in the non-linear region, rather than their viscous properties. Similarly, a more pronounced non-linearity was found in the elastic component for hard wheat flour doughs obtained at different stages of mixing, where the gluten network development characteristics were different (Yazar et al., 2016a).

CONCLUSIONS

LAOS tests conducted on HRW and SRW wheat flour doughs were shown to successfully

differentiate between wheat flours in terms of wet gluten content. As an empirical dough testing method, Farinograph tests indicated a stronger network for HRW wheat flour as evidenced by the higher stability, formation of double hydration peak, and higher water absorption capacity when compared to SRW wheat flour. It was possible to obtain deeper insight into the impact of gluten content on the non-linear viscoelastic properties of wheat flour doughs through the LAOS tests. In the linear viscoelastic region, $\tan\delta$ values revealed similar viscoelastic network properties for both wheat flour doughs, indicating no significant impact of gluten content in flours on the linear viscoelastic properties of the resulting doughs. However, as the amplitude of strain increased into the non-linear region, differences in the

viscoelastic properties of doughs resulting from the different gluten contents of the wheat flours became evident. Both wheat flour doughs showed strain stiffening and shear thinning behaviors under large deformations, which was clearly observed by the distortion in the elliptical trajectories of the elastic and viscous Lissajous-Bowditch curves. Among the elastic LAOS parameters, e_3/e_1 values were able to better differentiate between different wheat flour doughs based on their gluten contents. The higher gluten content in HRW wheat flour dough compared to SRW wheat flour dough resulted in higher degree of strain stiffening behavior for HRW wheat flour dough against high frequency-large deformations, as evidenced by the higher e_3/e_1 values at 200% strain with 20 rad/s frequency. These results highlighted the prominent influence of gluten content in wheat flours on the non-linear viscoelastic properties of the resulting doughs at high frequencies, resembling those experienced during certain dough processing steps, leading to differences in baked product quality. On the other hand, viscous LAOS parameters did not point out to a significant change in the shear thinning behaviors of HRW and SRW wheat flour doughs at each frequency studied. Elastic and viscous LAOS parameters indicated that the by the gluten content in wheat flours affected the elastic properties of wheat flour dough under large deformations more than the viscous properties. This revealed the contribution of gluten content in wheat flours to the resilience of the resulting wheat flour doughs against the increasing deformations.

This study only focused on the impact of gluten content on LAOS properties of wheat flour doughs. However, future studies should focus on the gluten quality and composition of wheat flours and discuss these results through the LAOS properties of the resulting doughs to provide a better understanding of the influence of gluten characteristics on the mechanical properties of wheat flour doughs.

ACKNOWLEDGEMENT

I gratefully acknowledge Dr. Jozef L. Kokini (Purdue University) and Dr. Şebnem Tavman (Ege University), who supported me to conduct this research.

CONFLICT OF INTEREST

The author has declared no conflict of interest.

REFERENCES

- AACC (2010). *Approved Methods of Analysis*. 11th Edition, AACC International, St. Paul, MN, the USA, 1200 p.
- Amemiya, J.I., Menjivar, J.A. (1992). Comparison of small and large deformation measurements to characterize the rheology of wheat flour doughs. *Journal of Food Engineering* 16: 91-108, doi: 10.1016/b978-1-85166-877-9.50011-0.
- Best, I., Portugal, A., Casimiro-Gonzales, S., Aguilar, L., Ramos-Escudero, F., Honorio, Z., Rojas-Villa, N., Benavente, C., Muñoz, A.M. (2023). Physicochemical and rheological characteristics of commercial and monovarietal wheat flours from Peru. *Foods* 12: 1789, doi: 10.3390/foods12091789.
- Bock, J.E. (2022). The Farinograph: understanding Farinograph curves. In: *The Farinograph Handbook- Advances in Technology, Science, and Applications*, Bock, J.E., Don, C. (eds.), 4th Edition, Woodhead Publishing, the UK, pp. 33-41.
- Bonilla, J.C., Bozdoğan, N., Kokini, J.L. (2022). Advanced research applications. In: *The Farinograph Handbook- Advances in Technology, Science, and Applications*, Bock, J.E., Don, C. (eds.), 4th Edition, Woodhead Publishing, the UK, pp. 161-192.
- Campanella, O.H., Peleg, M. (2002). Squeezing Flow Viscometry for Nonelastic Semiliquid Foods- Theory and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 42: 241-264, doi: 10.1080/10408690290825547.
- Cao, W., Falk, D., Bock, J.E. (2017). Protein structural features in winter wheat: Benchmarking diversity in Ontario hard and soft winter wheat.

- Cereal Chemistry* 94(2): 199-206, doi: 10.1094/CCHEM-03-16-0073-R.
- Delcour, J.A., Hosney, R.C. (2010). *Principles of Cereal Science and Technology*. 3rd Edition, AACC International Inc, Saint Paul, MN, the USA, 222 p.
- Dobraszczyk, B.J., Morgenstern, M.P. (2003). Rheology and the breadmaking process. *Journal of Cereal Science* 38: 229-245, doi: 10.1016/S0733-5210(03)00059-6.
- Don, C. (2022). Dough rheology and the Farinograph: the mechanism underlying dough development. In: *The Farinograph Handbook-Advances in Technology, Science, and Applications*, Bock, J.E., Don, C., (eds.), 4th Edition, Woodhead Publishing, the UK, pp. 43-68.
- Duvarci, Ö.Ç., Yazar, G., Doğan, H., Kokini, J.L. (2019). Linear and nonlinear rheological properties of foods. In: *Handbook of Food Engineering*, Heldman, D.R., Lund, D.B., Sabliov, C., (eds.), 3rd Edition, CRC Press, the USA, pp. 1-152.
- Ewoldt, R.H., Clasen, C., Hosoi, A.E., McKinley, G.H. (2007). Rheological fingerprinting of gastropod pedal mucus and synthetic complex fluids for biomimicking adhesive locomotion. *Soft Matter* 3: 634-643, doi: 10.1039/b615546d.
- Ewoldt, R.H., Hosoi, A.E., McKinley, G.H. (2008). New measures for characterizing nonlinear viscoelasticity in large amplitude oscillatory shear. *Journal of Rheology* 52: 1427-1458, doi: 10.1122/1.2970095.
- Finney, P.L., Bains, G.S. (1999). Protein functionality differences in eastern U.S. soft wheat cultivars and interrelation with end-use quality tests. *LWT - Food Science and Technology* 32: 406-415, doi: 10.1006/fstl.1999.0574.
- Guzmán, C., Ibba, M.I., Álvarez, J.B., Sissons, M., Morris, C. (2022). Wheat quality. In: *Wheat Improvement- Food Security in a Changing Climate*, Reynolds, M.P., Braun, H.-J., (eds.), 1st Edition, Springer, Switzerland, pp. 177-195.
- Hosney, R.C., Rogers, D.E. (1990). The formation and properties of wheat flour doughs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 29: 73-93, doi: 10.1080/10408399009527517.
- Hyun, K., Kim, S.H., Ahn, K.H., Lee, S.J. (2002). Large amplitude oscillatory shear as a way to classify the complex fluids. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics* 107(1-3): 51-65, doi: 10.1016/S0377-0257(02)00141-6.
- Khatkar, B.S., Bell, A.E., Schofield, J.D. (1995). The dynamic rheological properties of glutes and gluten sub-fractions from wheats of good and poor bread making quality. *Journal of Cereal Science* 22: 29-44, doi: 10.1016/s0733-5210(05)80005-0.
- Kim, Y.-R., Cornillon, P., Campanella, O.H., Stroshine, R.L., Lee, S., Shim, J.-Y. (2008). Small and large deformation rheology for hard wheat flour dough as influenced by mixing and resting. *Journal of Food Science* 73(1): E1-E8, doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00599.x.
- Kulkarni, R.G., Ponte Jr., J.G., Kulp, K. (1987). Significance of gluten content as an index of flour quality. *Cereal Chemistry* 64(1): 1-3.
- Ma, F., Baik, B.-K. (2016). Quality requirements of soft red winter wheat for making northern-style Chinese steamed bread. *Cereal Chemistry* 93: 314-322, doi: 10.1094/CCHEM-06-15-0127-R.
- Macias-Rodriguez, B.A., Ewoldt, R.H., Marangoni, A.G. (2018). Nonlinear viscoelasticity of fat crystal networks. *Rheologica Acta* 57: 251-266, doi: 10.1007/s00397-018-1072-1.
- Maghirang, E.B., Lookhart, G.L., Bean, S.R., Pierce, R.O., Xie, F., Caley, M.S., Wilson, J.D., Seabourn, B.W., Ram, M.S., Park, S.H., Chung, O.K., Dowell, F.E. (2006). Comparison of quality characteristics and breadmaking functionality of hard red winter and hard red spring wheat. *Cereal Chemistry* 83(5): 520-528, doi: 10.1094/CC-83-0520.
- Meerts, M., Cardinaels, R., Oosterlinck, F., Courtin, C.M., Moldenaers, P. (2017). The impact of water content and mixing time on the linear and non-linear rheology of wheat flour dough. *Food Biophysics* 12: 151-163, doi: 10.1007/s11483-017-9472-9.
- Ohm, J.B., Chung, O.K. (2002). Relationships of free lipids with quality factors in hard winter

- wheat flours. *Cereal Chemistry* 79(2): 274-278, doi: 10.1094/CCHEM.2002.79.2.274.
- Peña, R.J., Trethowan, R., Pfeiffer, W.H., Van Ginkel, M. (2002). Quality (end-use) improvement in wheat: compositional, genetic, and environmental factors. *Journal of Crop Production* 5(1-2): 1-37, doi: 10.1300/J144v05n01_02.
- Sapirstein, H.D., David, P., Preston, K.R., Dexter, J.E. (2007). Durum wheat breadmaking quality: Effects of gluten strength, protein composition, semolina particle size and fermentation time. *Journal of Cereal Science* 45: 150-161, doi: 10.1016/j.jcs.2006.08.006.
- Shewry, P.R., Tatham, A.S. (1997). Biotechnology of wheat quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 73: 397-406, doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(199704)73:4<397::AID-JSFA758>3.0.CO;2-Q.
- Sroan, B.S., Bean, S.R., MacRitchie, F. (2009). Mechanism of gas cell stabilization in bread making. I. The primary gluten–starch matrix. *Journal of Cereal Science* 49: 32-40, doi: 10.1016/j.jcs.2008.07.003.
- Uthayakumaran, S., Newberry, M., Phan-Thien, N., Tanner, R. (2002). Small and large strain rheology of wheat gluten. *Rheologica Acta* 41: 162-172, doi: 10.1007/s003970200015.
- Uthayakumaran, S., Wrigley, C. (2017). Wheat: grain-quality characteristics and management of quality requirements. In: *Cereal Grains*, Wrigley, C., Batey, I., Miskelly, M. (eds.) 2nd Edition, Woodhead Publishing, the UK, pp. 91-134.
- Van Vliet, T., Janssen, A.M., Bloksma, A.H., Walstra, P. (1992). Strain hardening of dough as a requirement for gas retention. *Journal of Texture Studies* 23: 439-460, doi: 10.1111/j.1745-4603.1992.tb00033.x.
- Van Vliet, T. (2008). Strain hardening as an indicator of bread-making performance: A review with discussion. *Journal of Cereal Science* 48: 1-9, doi: 10.1016/j.jcs.2007.08.010.
- Yazar, G., Duvarcı, O., Tavman, S., Kokini, J.L. (2016a). Effect of mixing on LAOS properties of hard wheat flour dough. *Journal of Food Engineering* 190: 195-204, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.06.011.
- Yazar, G., Duvarcı, O., Tavman, S., Kokini, J.L. (2016b). Non-linear rheological properties of soft wheat flour dough at different stages of farinograph mixing. *Applied Rheology* 26: 1–11, doi: 10.3933/applrheol-26-52508.
- Yazar, G., Duvarcı, O., Tavman, S., Kokini, J.L. (2017a). Non-linear rheological behavior of gluten-free flour doughs and correlations of LAOS parameters with gluten-free bread properties. *Journal of Cereal Science* 74: 28-36, doi: 10.1016/j.jcs.2017.01.008.
- Yazar, G., Duvarcı, O., Tavman, S., Kokini, J.L. (2017b). LAOS behavior of the two major gluten fractions: Gliadin and glutenin. *Journal of Cereal Science* 77: 201-210, doi: 10.1016/j.jcs.2017.08.014.
- Yazar, G., Çağlar Duvarcı, Ö., Yıldırım Ertürk, M., Kokini, J.L. (2019). LAOS (Large Amplitude Oscillatory Shear) applications for semisolid foods. In: *Rheology of Semisolid Foods*, Joyner, H.S. (ed.), 1st Edition, Springer, Switzerland, pp. 97-131.
- Yazar, G., Kokini, J.L., Smith, B. (2022). Effect of endogenous wheat gluten lipids on the non-linear rheological properties of the gluten network. *Food Chemistry* 367: 130729, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130729.
- Yazar, G., Demirkesen, I. (2023). Linear and non-linear rheological properties of gluten-free dough systems probed by fundamental methods. *Food Engineering Reviews* 15: 56-85, doi: 10.1007/s12393-022-09321-3.
- Yazar, G. (2023). Wheat flour quality assessment by fundamental non-linear rheological methods: a critical review. *Foods* 12(18): 3353, doi: 10.3390/foods12183353.



VAKUM KURUTMA YÖNTEMİ İLE PROPOLİS TOZU ÜRETİMİ VE TOZUN BAZI ÖZELLİKLERİ

Ceren Mutlu*

Balıkesir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Balıkesir, Türkiye

Geliş/Received: 11.09.2023; Kabul /Accepted: 21.10.2023; Online baskı /Published online: 30.11.2023

Mutlu, C. (2023). Vakum kurutma yöntemi ile propolis tozu üretimi ve tozun bazı özellikleri. GIDA (2023) 48 (6) 1292-1303 doi: 10.15237/gida.GD23109

Mutlu, C. (2023). Production of propolis powder by vacuum drying and some properties of the powder. GIDA (2023) 48 (6) 1292-1303 doi: 10.15237/gida.GD23109

ÖZ

Araştırmada %70 etanol ile ekstrakte edilmiş propolisin Arap zıncığı ilavesiyle ve vakumda kurutulmasıyla üretilen propolis tozunun bazı özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Propolis tozunun toplam fenolik madde ve flavonoid içerikleri sırasıyla 5.65 g galik asit eşdeğeri/100 g ve 1.08 g kuersetin eşdeğeri/100 g olarak belirlenmiş ve bu sonuçların ham propolis örneğine ait sonuçlardan daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca üretilen tozun TEAC ve CUPRAC analiz sonuçları sırasıyla 541.54 ve 462.47 µmol Troloks eşdeğeri/g olarak bulunmuştur. Hausner oranı ve Carr indeksi değerleri sırasıyla 1.33 ve %24.65 olarak belirlenmiş olup, toz örneğin akışkanlığının orta düzeyde olduğu değerlendirilmiştir. Propolis tozunun nem adsorpsiyonunun Tip 2 özellik gösterdiği, tek tabaka su içeriğinin ≤5.44 g/100 g olduğu ve BET, Halsey ve Kuhn modellerinin 25°C sıcaklıkta nem adsorpsiyonunu daha iyi temsil ettiği belirlenmiştir. Sonuç olarak üretilen propolis tozunun biyoaktif bileşenler içerdiği ve 5.44 g/100 g değerinden daha düşük nem içeriğinde güvenli olarak muhafaza edilebileceği değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Propolis, Carr indeksi, fenolik, adsorpsiyon, Halsey

PRODUCTION OF PROPOLIS POWDER BY VACUUM DRYING AND SOME PROPERTIES OF THE POWDER

ABSTRACT

The aim of this study was to determine some properties of propolis powder produced by vacuum-drying of propolis 70% of ethanol extract with gum arabic. The total phenolic and flavonoid contents of sample were 5.65 g GAE/100 g and 1.08 g QE/100 g, respectively, and these results were lower than the those of raw propolis. Furthermore, TEAC and CUPRAC results of sample were 541.54 and 462.47 µmol TE/g, respectively. Hausner ratio and Carr index values were 1.33 and 24.65%, respectively, and flowability was passable. It was concluded that, moisture adsorption of propolis powder showed Type 2 characteristics, monolayer moisture content was ≤5.44 g/100 g, and BET, Halsey and Kuhn models had a good fit to the moisture adsorption of propolis powder at 25°C. As a result, it was evaluated that produced propolis powder contains bioactive components and can be safely stored at a moisture content lower than 5.44 g/100 g.

Keywords: Propolis, Carr index, phenolic, adsorption, Halsey

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉: ceren.mutlu@balikesir.edu.tr

☎: (+90) 266 612 6319

Ceren Mutlu; ORCID no: 0000-0003-4943-2798

GİRİŞ

Arılar kovanı zararlılardan korumak amacıyla bitkilerin tomurcuklarından, yeni filizlenen dallarından ve ağaç gövdesinin hasarlı kısımlarında oluşan akıntılardan topladıkları salgıları, kendi tükürük sıvılarından enzimler ve balmumu ile karıştırarak “propolis” adı verilen katı ve yapışkan formda kendine özgü hoş kokulu bir ürün üretirler (Cui vd., 2022). Propolisin yapısında reçine ve balmumunun yanı sıra uçucu yağlar, polen, karbonhidratlar, aminoasitler, vitaminler, mineraller, fenolik bileşikler ve esterleri, terpenler, steroidler, aromatik asitler, aldehitler, yağ asitleri ve hidrokarbonlar gibi birçok bileşik grubu bir arada bulunmaktadır (Stojanović vd., 2020). Bu zengin kimyasal içeriği sayesinde propolis; antibakteriyel, antifungal, antiviral, antialerjik, antitümör, antioksidan, antiinflamatuvar, immünomodülatör ve hepatoprotektif etkiler gibi çeşitli olumlu sağlık fonksiyonlarına sahiptir (Cui vd., 2022; Kasote vd., 2022).

Propolisin bileşiminde birçok biyoaktif bileşik bulunmasına rağmen bu bileşiklerin sıcaklık, ışık ve oksijen gibi çevresel etkenlerden olumsuz yönde etkilendiği ve bu bileşiklerin propolisin işlenmesi ve depolanması gibi aşamalarda korunması, propoliste istenmeyen duyuşal değişimlerin önlenmesi ve propolisin hidrofobik özelliğinin azaltılarak daha suda çözünür ve buna bağlı olarak da daha biyoyararlanılabilir hale getirilebilmesi için propolis enkapsülasyonunun önemli bir yöntem olabileceği belirtilmiştir (Busch vd., 2017; Andrade vd., 2018). Propolisin enkapsülasyonu püskürterek kurutma, dondurarak kurutma ve vakum kurutma gibi teknikler ile maltodekstrin, Arap zımkı ve modifiye nişasta gibi farklı taşıyıcı materyaller kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Busch vd., 2017; Andrade vd., 2018; Baysan vd., 2021; Pant vd., 2022).

Vakum kurutma diğer yöntemlere kıyasla ucuz ve uygulama sırasında ortamdaki havanın uzaklaştırılması nedeniyle de özellikle polifenoller, vitaminler ve karotenoidler gibi oksidasyona hassas bileşikler için oksidasyonu azaltıcı etkileri olan bir enkapsülasyon yöntemidir (Pant vd., 2022). Yapılan farklı araştırmalarda bal tozu (Osés

vd., 2022), propolis tozu (Pant vd., 2022), kırmızı pancar tozu (Kerr ve Varner, 2019) ve hurma tozu (Sahari vd., 2008) gibi ürünlerin üretiminde vakum kurutma yöntemi tercih edilmiştir.

Literatürde propolis tozu üretimi için çoğunlukla püskürterek kurutma yönteminin kullanıldığı araştırmalar bulunmaktadır (da Silva vd., 2013; Busch vd., 2017; Andrade vd., 2018; Baysan vd., 2021). Bununla birlikte maltodekstrin taşıyıcısı kullanılarak vakum kurutma yöntemi ile propolis tozu üretiminin yapıldığı yalnızca bir araştırmaya (Pant vd., 2022) rastlanılmıştır. Buradan hareketle vakum kurutma yöntemi ve farklı taşıyıcı materyal kullanımı ile yeni bir propolis tozu üretimi yapılmasının ve ayrıca rapor edilen araştırmadan farklı olarak üretilen toz ürünün depolama stabilitesinin değerlendirilmesi amacıyla sorpsiyon özelliklerinin belirlenmesi ve farklı modellerle incelenmesinin de literatüre katkı sağlayacağı değerlendirilerek bu araştırmanın gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Araştırmada kullanılan propolis Kırklareli (Demirköy) ilindeki yerel bir üreticiden alınmıştır. Analizlerde kullanılan analitik saflıktaki kimyasallar ise Isolab Laborgeräte GmbH (Almanya) ve Sigma-Aldrich (Almanya) firmalarından temin edilmiştir.

Metotlar

Propolisin ekstraksiyonu ve kurutulması

Propolis örneği -40°C sıcaklıkta bekletildikten sonra bir öğütücü (Arzum AR1034, Türkiye) içerisinde öğütülerek boyutları küçültülmüştür. Öğütülen propolis örneğinden 12.5 g tartılarak üzerine 100 mL %70 sulu etanol çözeltisi (h/h) ilave edilmiştir. Bu karışım kapaklı amber cam bir şişe içerisinde 25°C sıcaklıkta 24 saat süresince manyetik karıştırıcıda (IKA, RCT klasik, Almanya) 400 rpm hızla karıştırılmıştır. Süre sonunda karışım 7100xg kuvvetle 15 dakika santrifüj (Sigma, 3K18, Almanya) edilmiş ve sıvı kısım ayrılmıştır. Ekstrakt, çözeltide bulunan safsızlıkların uzaklaştırılması amacıyla -18°C sıcaklıkta 24 saat bekletildikten sonra yeniden aynı koşullarda santrifüj edilerek kalıntılardan ayrılmıştır (Pant vd., 2022).

Kurutmada taşıyıcı materyal olarak kullanılan Arap zımkı çözeltilisinin hazırlanması için 30 g Arap zımkı üzerine 100 mL saf su ilave edilmiş ve 400 rpm hızla 20 dakika süresince oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı (IKA, RCT klasik, Almanya) ile karıştırılmıştır. Bu karışım üzerine 100 mL propolis ekstraktı eklenmiş ve karıştırma işlemi 10 dakika daha sürdürülmüştür (da Silva vd., 2013; Mutlu ve Erbaş, 2018; Şturm vd., 2019). Elde edilen karışımın tamamı fırın kağıdı içerisine alınmış ve vakum kurutucunun tepsisi üzerine yerleştirilmiştir. Vakum kurutma için uygulanacak koşullar ön denemeler ile belirlenmiştir. Kurumanın başlangıç aşamasında karışım içerisindeki etil alkol daha düşük sıcaklık ve daha yüksek basınç koşullarında uzaklaştırılabilirken, sulu faz kısmında ise kuruma yavaşlamış ve ayrıca örnekte kabuk oluşumu başladığından kütle transferi zorlaşmıştır. Bu nedenle elde edilen propolis:Arap zımkı karışımı vakum kurutucu (Memmert VO200, Almanya) içerisinde öncelikle 4.5 saat süresince 100 mbar vakum basıncında, 45°C sıcaklıkta ve daha sonra ise 5.5 saat süresince 25 mbar vakum basıncında ve 60°C sıcaklıkta iki aşamalı olarak kurutulmuştur. Kurutma süresince saatte bir vakum kurutma sistemi açılarak kurutucunun yüzeylerinde biriken nem uzaklaştırılmış ve sistem kapatılarak kurutma işlemi sürdürülmüştür. Üretim sonunda elde edilen propolis:Arap zımkı filmleri öğütücü (Arzum, AR1034 Clipper, Türkiye) içerisinde 2 dakika süresince öğütülerek toz haline getirilmiştir. Üretilen propolis tozu analizler için -18°C sıcaklıkta kapaklı amber cam ambalaj içerisinde saklanmıştır (da Silva vd., 2013; Mutlu ve Erbaş, 2018; Pant vd., 2022).

Nem içeriği ve su aktivitesi analizi

Propolis ve propolis tozu örneklerinin nem içeriği yaklaşık 1.0 g örneğin 70°C sıcaklıkta sabit tartıma ulaşmaya kadar kurutulması ile belirlenmiştir. Örneklerin su aktivitesi (a_w) değeri ise Aqua Lab 4TE (Decagon Divices, ABD) cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

Toplam fenolik ve flavonoid madde analizi

Propolis ve propolis tozu örneklerinin toplam fenolik ve flavonoid madde ve antioksidan aktivite analizleri için ekstrakte edilmesi amacıyla

0.5 g örnek tartılarak üzerine 9.5 mL %70 konsantrasyonundaki etanol çözeltisi ilave edilmiş ve örnekler 25°C sıcaklıkta 24 saat yatay şekilde 80 rpm hızla karıştırılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu karışımlar 7100xg kuvvetle 10 dakika santrifüj edilmiş ve üst faz ayrılarak analizlerde kullanılmıştır (Mutlu, 2023a).

Uygun oranlarda %70 etanol ile seyreltilen ekstraktlardan alınan 0.5 mL örnek, 2.5 mL %10 Folin-Ciocalteu çözeltisi ve 2 mL %7.5 sodyum karbonat çözeltisi ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışımlar 50°C sıcaklığındaki su banyosunda 5 dakika bekletilmiş ve oda sıcaklığına gelinceye kadar karanlık bir ortamda tutulmuştur. Örnek absorbans değerleri 760 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometre (Cary 60 UV-Vis, Agilent, ABD) ile belirlenmiş ve sonuçlar galik asit ile oluşturulan küre yardımıyla mg GAE/100 g örnek olarak hesaplanmıştır (Mutlu, 2023a).

Toplam flavonoid madde analizi için uygun oranlarda %70 etanol ile seyreltilen ekstraktlardan alınan 2 mL örnek üzerine metanol içerisinde çözüldürülmüş %2 konsantrasyonundaki alüminyum klorür çözeltisinden 2 mL eklenmiştir. Elde edilen karışımların karanlık bir ortamda 30 dakika bekletilmesinden sonra 415 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometre ile absorbans değerleri belirlenmiştir. Sonuçlar kuersetin ile oluşturulan küre yardımıyla mg KE/100 g örnek olarak hesaplanmıştır (Bueno-Costa vd., 2016).

Antioksidan aktivite analizi

Propolis ve propolis tozu örneklerinin antioksidan aktivite değerleri Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ve bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) metotları ile belirlenmiştir.

TEAC yönteminde uygun oranlarda %70 etanol ile seyreltilen ekstraktlardan alınan 5, 10, 15 ve 20 µL örnek, 1 mL ABTS⁺ çözeltisi içerisine ilave edilmiştir. Örnek ve ABTS⁺ karışımları karanlık bir ortamda 6 dakika bekletilmiş ve daha sonra absorbansları 734 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometre ile ölçülmüştür (Çetin-Babaoğlu vd., 2021).

CUPRAC yönteminde 1 mL 10 mM bakır klorür çözeltisi, 1 mL 7.5 mM neocuproine ve 1 mL 1 M amonyum asetat (pH 7.0) çözeltileri ile karıştırılmıştır. Karışımın absorpsiyon değeri 0.20-0.40 aralığında olacak şekilde uygun oranlarda %70 etanol ile seyreltilmiş örnek ekstraktlarından alınan 100 µL örnek ve 1 mL saf su, reaktant karışımı içerisine ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 30 dakika bekletilen örneklerin absorpsiyonları 450 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülmüştür. Analiz sonuçları Trolox ile oluşturulan kurveler yardımıyla µmol TE/g örnek olarak hesaplanmıştır (Toydemir, 2013).

Yiğün yoğunluğu ve sıkıştırılmış yiğün yoğunluğu analizi
Propolis tozu örneğinin yiğün yoğunluğu değeri 1.0 g örneğin 10 mL hacmindeki dereceli mezüre tartılması ve hacminin ölçülmesi ile belirlenmiştir. Sıkıştırılmış yiğün yoğunluğu değeri ise mezürün 40 defa düz bir zemine vurulmasından sonra ölçülen hacim değeri kullanılarak tespit edilmiş ve her iki parametre örnek ağırlığı kullanılarak g/cm³ şeklinde hesaplanmıştır (Beristain vd., 2001; Arslan-Tontul, 2020). Toz örneklerin yapışkanlık ve akışkanlık özelliklerini ifade eden Hausner oranı ve Carr indeksi parametreleri ise aşağıda verilen Eşitlik 1 ve 2 ile belirlenmiştir (Li vd., 2021).

$$\text{Hausner oranı} = \frac{\text{Sıkıştırılmış yiğün yoğunluğu}}{\text{Yiğün yoğunluğu}} \quad \text{Eşitlik 1}$$

$$\text{Carr indeksi} = \frac{\text{Sıkıştırılmış yiğün yoğunluğu} - \text{Yiğün yoğunluğu}}{\text{Sıkıştırılmış yiğün yoğunluğu}} \times 100 \quad \text{Eşitlik 2}$$

Çözünürlük analizi

Propolis tozu örneğinin sudaki çözünürlüğünü belirlemek amacıyla; 1.0 g örnek, 100 mL saf su içerisinde oda sıcaklığında 600 rpm hızla 5 dakika süreyle manyetik karıştırıcı (IKA, RCT klasik, Almanya) ile karıştırılmıştır. Bu karışım 3000xg kuvvetinde 5 dakika santrifüj edilmiş ve üst kısımdan ayrılan 25 mL örnek 70°C sıcaklıkta 48 saat süresince kurutulmuştur. Örnek çözünürlüğü g/100 g olarak hesaplanmıştır (Cano-Chauca vd., 2005).

Nem çekme analizi

Propolis tozunun nem çekme değerini belirlemek amacıyla; içerisinde 0.5 g örnek bulunan beherler doymuş sodyum klorür çözeltisi içeren desikatör (%75.63 nisbi nem) içerisinde 25°C sıcaklıkta 7 gün tutulmuş ve örnekteki ağırlık değişimi tespit edilmiştir. Örneklerin nem çekme değeri oluşan ağırlık farkı değeri kullanılarak g/100 g olarak hesaplanmıştır (Li vd., 2021).

Nem adsorpsiyon özelliklerinin belirlenmesi

Propolis tozunun 25°C sıcaklıktaki nem adsorpsiyon izotermi statik gravimetrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla hazırlanan ve farklı su aktivitesi değerleri sağlayan doymuş tuz çözeltileri (sodyum hidroksit 0.08 a_w, potasyum asetat 0.23 a_w, magnezyum klorür 0.33 a_w, potasyum karbonat 0.43 a_w, sodyum bromür 0.58 a_w, potasyum iyodür 0.69 a_w, sodyum klorür 0.75 a_w ve baryum klorür 0.87 a_w) hazırlanmış ve beherlere tartılan 0.5 g örnek, bu tuz çözeltilerini içeren desikatörlerde ağırlık değişiminin dengeye ulaştığı 11 gün süresince bekletilmiştir (Bell ve Labuza, 2000; Mutlu, 2023b).

DeneySEL veriler Brunauer-Emmett-Teller (BET), Caurie, Guggenheim, Anderson and deBoer (GAB), Halsey, Henderson, Iglesias and Chirife, Kuhn ve Smith sorpsiyon modelleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Sorpsiyon modellerine ait eşitlikler Çizelge 1'de verilmiştir. GAB modeli ile değerlendirme yapılırken doğrusal olmayan regresyon ve diğer modellerle değerlendirme yapılırken ise doğrusal regresyon uygulanmıştır (Aksil vd., 2019; Rosa vd., 2021; Mutlu, 2023b). Sorpsiyon modellerinin deneysel verilere uyumları deneysel (m_d) ve teorik (m_t) nem içerikleri arasındaki ortalama bağıl sapma (%E) ve regresyon katsayısı (R²) parametreleri ile değerlendirilmiştir. %E değeri aşağıda verilen Eşitlik 3 ile hesaplanmıştır (Mutlu, 2023b).

$$E\% = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \left| \frac{m_{di} - m_{ti}}{m_{di}} \right| \quad \text{Eşitlik 3}$$

n: gözlem sayısı

Çizelge 1. Propolis tozunun nem adsorption özelliklerini değerlendirmek için kullanılan bazı sorpsiyon modellerine ait eşitlikler

Table 1. Equations of some sorption models used to evaluate moisture adsorption properties of propolis powder

Modeller/ Models	Eşitlikler/ Equations
BET	$X = \frac{X_0 C a_w}{[(1 - a_w + C a_w) (1 - a_w)]}$
Caurie	$\frac{1}{X} = \frac{1}{C_c X_0} \left[\frac{1 - a_w}{a_w} \right]^n$
GAB	$X = \frac{X_0 C k a_w}{[(1 - k a_w) (1 - k a_w + C k a_w)]}$
Halsey	$X = \left[-\frac{A}{\ln(a_w)} \right]^{\frac{1}{B}}$
Henderson	$X = \left[\frac{\ln(1 - a_w)}{-A} \right]^{\frac{1}{B}}$
Iglesias and Chirife	$X = A + B \frac{a_w}{1 - a_w}$
Kuhn	$X = \frac{B}{\ln a_w} + A$
Smith	$X = A - [B \ln(1 - a_w)]$

X: denge nem içeriği, X_0 : tek tabaka nem içeriği, C: tek ve çoklu su tabakaları arasındaki kimyasal potansiyeli gösteren GAB model sabiti, k: tek tabaka ile serbest su arasındaki kimyasal potansiyeli gösteren GAB model sabiti, A, B, C_c ve n model sabitleri (Mutlu, 2023b)

X: equilibrium moisture content, X_0 : monolayer moisture content, C: GAB model constant, indicating the chemical potential between mono and multi water layers, k: GAB model constant showing the chemical potential between the monolayer and free water, A, B, C_c and n model constants (Mutlu, 2023b)

İstatistiksel analiz

Propolis tozu üretimi 3 tekerrürlü ve analizler ise 3 paralelli olarak yapılmış, sonuçlar örnek kurumadesi üzerinden hesaplanarak “ortalama \pm standart hata” olarak verilmiştir. İstatistiksel veri analizi IBM SPSS 23 (ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen verilere t-testi uygulanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Propolis ve propolis tozu örneklerinin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri

Propolis ve propolis tozu örneklerine ait kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları Çizelge 2’de verilmiştir. Üretilen propolis tozu örneğinin nem içeriği ve su aktivitesi değerleri sırasıyla 4.96 g/100 g ve 0.34 olarak belirlenmiştir. Nem içeriği toz ürünlerde plastikleştirici olarak davranıp üründe aglomerasyona neden olduğu için toz ürünlerin

fiziksel kalitesinde önemli bir parametredir. Ayrıca toz ürünlerin hem mikrobiyal güvenliği hem de uzun süre depolanabilmesi için nem içeriğinin 5.0 g/100 g değerinin altında olması önerilmektedir. Su aktivitesi 0.30 değeri ve altında olan toz ürünler de mikrobiyolojik ve kimyasal özellikler bakımından daha stabil olarak nitelendirilmektedir (Tontul ve Topuz, 2017). Yapılan araştırmalarda püskürterek, dondurarak ve vakum kurutma gibi farklı kurutma metodları, farklı proses parametreleri ve taşıyıcı materyaller kullanılarak üretilen propolis tozu örnekleri için nem ve su aktivitesi değerleri sırasıyla 4.26-11.00 g/100 g ve 0.06-0.44 aralıklarında rapor edilmiştir (da Silva vd., 2011; Andrade vd., 2018; Baysan vd., 2019; Baysan vd., 2021). Kullanılan yöntemler ve koşullardaki farklılıkların örneklerin vizkozitesini, ısı ve kütle transfer yüzey alanını ve hızını etkilemesine bağlı olarak ürünün nem içeriği ve su

aktivitesini etkilediği ve farklı sonuçlar elde edilebileceği ifade edilmiştir (Baysan vd., 2021).

Çizelge 2. Propolis ve vakum kurutuma yöntemi ile üretilen propolis tozunun bazı özellikleri
Table 2. Some properties of propolis and propolis powder produced with vacuum drying method

Analizler/Analyses	Propolis	Propolis tozu/ Propolis powder
Nem/Moisture content (g/100 g)	3.50 ^a ± 0.04	4.96 ^b ± 0.12
Su aktivitesi/Water activity	0.34 ^a ± 0.00	0.34 ^a ± 0.00
Toplam fenolik madde/ Total phenolic content (g GAE/100 g)	13.78 ^a ± 0.19	5.65 ^b ± 0.03
Toplam flavonoid madde/ Total flavonoid content (g QE/100 g)	2.89 ^a ± 0.01	1.08 ^b ± 0.01
TEAC antioksidan aktivite/TEAC antioxidant activity (μmol TE/g)	3346.36 ^a ± 132.22	541.54 ^b ± 11.02
CUPRAC antioksidan aktivite / CUPRAC antioxidant activity (μmol TE/g)	1578.30 ^a ± 23.09	462.47 ^b ± 5.16
Yığın yoğunluğu/Bulk density (g/cm ³)		0.45 ± 0.01
Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu/ Tapped bulk density (g/cm ³)		0.59 ± 0.00
Hausner oranı/ Hausner ratio		1.33 ± 0.01
Carr indeksi/ Carr index (%)		24.65 ± 0.75
Çözünürlük/ Solubility (g/100 g)		81.54 ± 0.55
Nem çekme/ Hygroscopicity (g/100 g)		16.20 ± 0.06

Propolis örneğinde 13.78 g GAE/100 g ve 2.89 g KE/100 g olarak tespit edilen toplam fenolik madde ve flavonoid içeriklerinin, propolis tozunda sırasıyla 5.65 g GAE/100 g ve 1.08 g KE/100 g olduğu belirlenmiştir. Kurutma işlemi ile birlikte toplam fenolik ve flavonoid madde içeriğinde bir azalma olduğu değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda da benzer bulguların olduğu rapor edilmiş olup, bu azalmanın kurutma sıcaklığı ve ilave edilen taşıyıcı madde ile propolis konsantrasyonundaki seyrelmeye bağlı olarak meydana geldiği belirtilmiştir (Andrade vd., 2018; Baysan vd., 2021; Pant vd., 2022). Kurutma prosesinden özellikle gallik asit, kuersetin ve prenil formdaki fenolik bileşiklerin daha fazla etkilendiği ve kurutma sıcaklığının düşük olmasının fenolik bileşiklerdeki kayıpları azalttığı ifade edilmiştir (Andrade vd., 2018). Pant vd. (2022) tarafından yapılan bir çalışmada vakum kurutma yöntemi ile propolis:maltodekstrin karışımlarının kurutulmasında yüksek sıcaklıklarda yapılan kurutma işlemlerinde örneklerin fenolik bileşik miktarının azaldığı bildirilmiştir. Propolis tozu üretimlerinin gerçekleştirildiği çeşitli çalışmalarda püskürtürerek kurutma, dondurarak kurutma ve vakum kurutma yöntemleri ile üretilen farklı propolis tozlarının toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla 4.72-9.35 g GAE/100 g, 6.94-9.92 g GAE/100 g (Baysan

vd., 2021) ve 2.10-3.11 g GAE/100 g (Pant vd., 2022) olarak rapor edilmiştir.

TEAC ve CUPRAC antioksidan aktivite sonuçlarının propolis örneğinde sırasıyla 3346.36 ve 1578.30 μmol TE/g ve propolis tozu örneğinde ise 541.54 ve 462.47 μmol TE/g olduğu tespit edilmiştir. Toplam fenolik ve flavonoid madde içeriği sonuçları ile benzer olarak antioksidan aktivite sonuçlarının da propolis tozu örneklerinde daha düşük olduğu ve bu azalmanın TEAC antioksidan aktivite yönteminde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yöntemler arasındaki farklılığın propolis tozu içerisindeki biyoaktif maddelerin antioksidan aktivite radikalleri ile gösterdikleri farklı kimyasal etkileşimlerden ve analiz ilkelerindeki farklılıklardan ileri geldiği değerlendirilmiştir. TEAC yönteminde örneğin radikal süpürme kabiliyeti değerlendirilirken, CUPRAC yönteminde ise örneğin bakır iyonlarını indirgeme özelliği değerlendirilmektedir (Boulechar vd., 2022). Yapılan çalışmalarda antioksidan aktivitenin kurutma işleminde kullanılan taşıyıcı türünden de etkilendiği ve taşıyıcı materyal olarak Arap zıncığı kullanımının antioksidan aktivite sağlayan bileşiklerin korunmasında etkili sonuçlar verdiği ifade edilmiştir (da Silva vd., 2013; Busch vd., 2017; Andrade vd., 2018). Bu etkinin ise Arap zıncığı ile polar fenolik bileşikler arasındaki

interaksiyona bağılı olarak Arap zımkı kurutma işleminde uygulanan sıcaklıklara karşı örnek üzerinde daha fazla koruyucu bir etki sağlaması ile ilişkili olabileceği değerlendirilmiştir (Andrade vd., 2018). Püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen propolis:Arap zımkı ve propolis:maltodekstrin tozlarının TEAC antioksidan aktivite değerleri 11955.42-15106.07 $\mu\text{mol TE/g}$ olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular, rapor edilen çalışmaya göre çok daha düşük olarak tespit edilmiştir. Bu farklılığın ham propolis örnekleri ve kurutma yöntemleri ve koşullarındaki farklılıklardan kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Propolis örneklerinin fenolik bileşik profilleri arasındaki farklılıkların onların antioksidan özelliklerinde ve ısı işlem koşullarına karşı dirençlerinde farklılıklara neden olabileceği ifade edilmiştir (da Silva vd., 2011).

Propolis tozunun yığın yoğunluğunun 0.45 g/cm^3 ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğunun ise 0.59 g/cm^3 olduğu tespit edilmiştir. Yığın yoğunluğu toz örneklerin ambalajlanması ve depolanması aşamalarında değerlendirme yapabilmek için kullanılan önemli bir parametredir (Baysan vd., 2021). Yığın yoğunluğu düşük ürünlerde toz partikülleri arasında bulunan hava boşluklarının etkisiyle ürün oksidasyona karşı daha hassas olmakta ve buna bağılı olarak da depolama stabilitesi azalmaktadır (Pant vd., 2022). Yapılan bir çalışmada (Baysan vd., 2021) püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen propolis tozu örneklerinin yığın ve sıkıştırılmış yoğunluklarının sırasıyla $0.24-0.34$ ve $0.34-0.58 \text{ g/cm}^3$ ve dondurarak kurutma yöntemi ile elde edilen propolis tozu örneklerinin yığın ve sıkıştırılmış yoğunluklarının ise sırasıyla $0.20-0.34$ ve $0.24-0.44 \text{ g/cm}^3$ aralıklarında olduğu rapor edilmiştir. Bir diğer araştırmada (Pant vd., 2022) ise vakum kurutma yöntemi ile üretilen propolis:maltodekstrin tozu örneklerinin yığın yoğunluklarının $0.41-0.64 \text{ g/cm}^3$ değerleri arasında olduğu bildirilmiştir. Vakum kurutma yöntemi ile yüksek yığın yoğunluğu sonuçlarına ulaşılmasının daha iri boyutta kristalize yapılar sahip toz ürünlerin elde edilmesi ile ilişkili olabileceği ifade edilmiştir (Pant vd., 2022).

Toz örneklerde yapışkanlık ve akışkanlık özelliklerinin göstergeleri olan Hausner oranı ve Carr indeksi değerleri propolis tozu örneği için sırasıyla 1.33 ve %24.65 olarak belirlenmiştir. Hausner oranı ve Carr indeksi sınıflandırmalarına (Kaleem vd., 2021) göre üretilen propolis tozu örneğinin akış özelliklerinin orta düzeyde olduğu değerlendirilmiştir. Baysan vd. (2021) tarafından püskürterek kurutma yöntemi ve farklı taşıyıcı materyallerle üretilen propolis tozu örneklerinin Carr indeksi değerlerinin %19.90-45.30 ve dondurarak kurutma yöntemi ile üretilen propolis tozu örneklerinin Carr indeksi değerlerinin ise %15.05-34.61 aralığında olduğu bildirilmiş olup, kullanılan yöntemler ve taşıyıcı materyaller arasındaki farklılıkların örneklerin Carr indeksi değerlerinde geniş bir aralıkta farklı sonuçlar elde edilmesine neden olduğu belirtilmiştir.

Propolis tozu örneğinin suda çözünürlüğünün 81.54 g/100 g olduğu belirlenmiş ve su içerisinde yüksek bir çözünürlüğe sahip olduğu değerlendirilmiştir. Çözünürlük toz ürünlerin sulu bir ortamdaki davranışını değerlendirmek için kullanılan önemli bir göstergedir. Kurutma koşulları ve kurutulacak karışımdaki toplam katı miktarı ve viskozite gibi faktörler örnek çözünürlüğünü etkilemektedir (Pant vd., 2022). Yapılan farklı çalışmalarda propolis tozu örneklerinin çözünürlüklerinin $45.27-61.29 \text{ g/100 g}$ (Pant vd., 2022), $82.81-95.56 \text{ g/100 g}$ (Baysan vd., 2019) ve $99.02-99.18 \text{ g/100 g}$ (Andrade vd., 2018) olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca propolis konsantrasyonundaki artış ile kurutma sırasında yüksek sıcaklık uygulamalarının propolis tozu örneklerinin çözünürlüğünü azalttığı ve bu nedenle hidrofilik özellikteki taşıyıcı materyal kullanımı ile düşük sıcaklıklarda kurutma yapılmasının propolis tozlarının sudaki çözünürlüğünü arttırabileceği belirtilmiştir (Baysan vd., 2019; Pant vd., 2022).

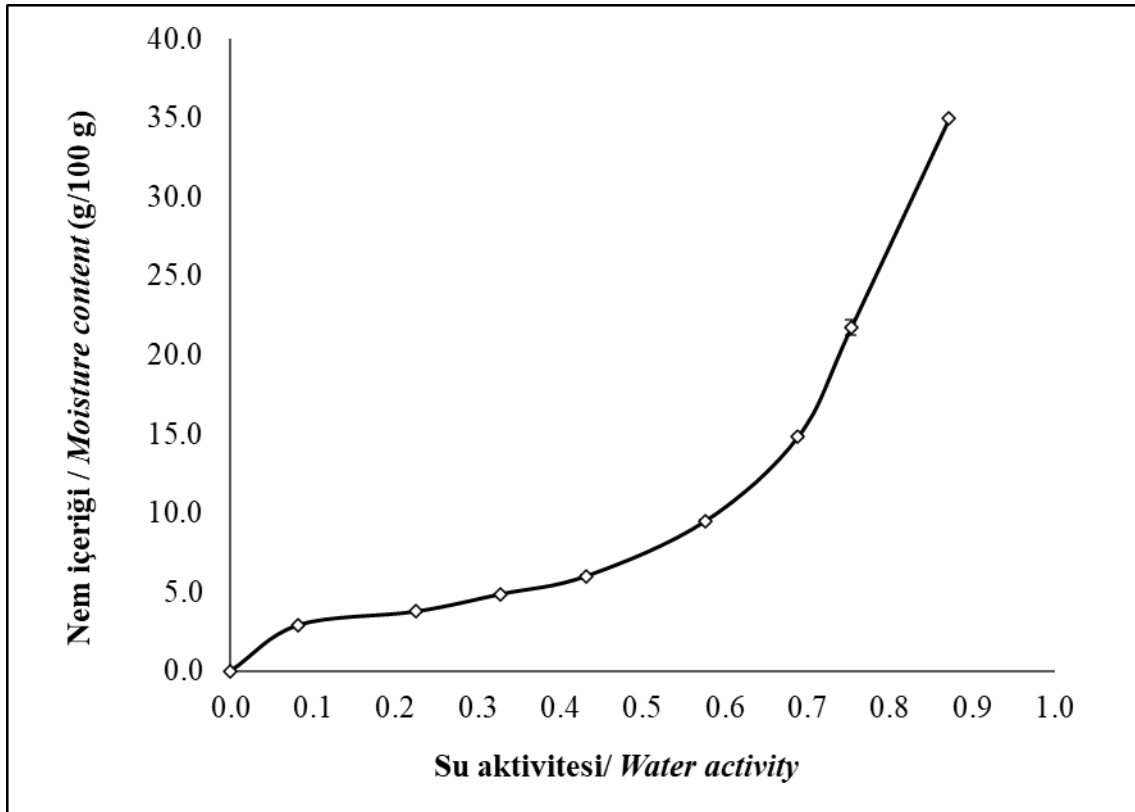
Propolis tozu örneğinin nem çekme değeri 16.20 g/100 g olarak tespit edilmiştir. Bu değer ile propolis tozunun Callahan vd. (1982) tarafından belirtilen sınıflandırmaya göre orta düzeyde higroskopik bir ürün olduğu değerlendirilmiştir. Nem çekme özelliği toz ürünlerin ambalajlama ve depolama koşullarının belirlenmesinde göz

önünde bulundurulması gereken bir diğer özelliktir. Düşük higroskopisiteye sahip toz ürünler kolaylıkla uzun süre depolanabilirken, higroskopik örneklerin uzun süreli depolanabilmeleri için düşük nem koşullarında ve düşük su buharı geçirgenliğine sahip ambalajlarda tutulması tavsiye edilmektedir (Maroof vd., 2022). Püskürterek kurutma yönteminin kullanıldığı bazı çalışmalarda propolis tozu örneklerinin nem çekme değerlerinin 1.30-7.50 g/100 g (Andrade vd., 2018) ve 13.80-29.30 g/100 g (da Silva vd., 2013) olduğu, vakum kurutma yöntemi ile üretilen propolis tozu örneklerinin nem çekme değerlerinin ise 9.12-15.47 g/100 g (Pant vd., 2022) aralığında bulunduğu bildirilmiştir.

Propolis tozunun nem adsorpsiyon özelliklerinin değerlendirilmesi

Propolis tozu örneğinin 25°C sıcaklıktaki nem adsorpsiyon grafiği Şekil 1'de ve nem adsorpsiyon özelliklerinin farklı modellerle

değerlendirilmesine ilişkin sonuçlar ise Çizelge 3'te verilmiştir. Propolis tozunun denge nem içeriği değerinin 2.91-34.73 g/100 g aralığında olduğu, artan su aktivitesi ile denge nem içeriğinin de arttığı ve bu artışın özellikle 0.45 su aktivitesi değerinden sonra daha belirgin olduğu değerlendirilmiştir. Şekil 1'de verilen grafik görsel olarak incelendiğinde ve ayrıca GAB modeli ile hesaplanan C sabitinin (16.63) de 2 değerinden büyük olması birlikte değerlendirildiğinde örneğin nem adsorpsiyonunun Tip 2 özellik gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Tip II sorpsiyon izotermi birçok gıdanın sorpsiyon özelliklerini temsil eden bir izoterm türü olup, yapılan farklı çalışmalarda vakum, püskürterek ve dondurarak kurutma yöntemleri ile üretilen bal tozu (Suhag vd., 2018; Fan ve Roos, 2019; Rivero vd., 2021; Mutlu, 2023a), arı poleni (Mutlu, 2023b) ve püskürterek kurutma ile üretilen propolis tozu (da Silva vd., 2013) örneklerinin nem adsorpsiyonlarının da Tip 2 izoterm özelliği gösterdiği bildirilmiştir.



Şekil 1. Propolis tozunun 25°C sıcaklıktaki nem adsorpsiyon izotermi

Figure 1. Moisture adsorption isotherm of propolis powder at 25°C

Çizelge 3. Propolis tozunun nem adsorpsiyon özelliklerini değerlendirmek için kullanılan sorpsiyon modellerine ait sonuçlar
 Table 3. Results of sorption models used to evaluate the moisture adsorption properties of propolis powder

Modeller/Models	Parametreler/ Parameters	Değerler/ Values
BET	X_0	3.54
	C	24.78
	$E\%$	4.22
	R^2	0.978
Caurie	X_0	5.44
	C_c	5.33
	n	3.25
	$E\%$	17.27
	R^2	0.981
GAB	X_0	3.69
	C	16.63
	k	1.06
	$E\%$	13.12
	R^2	0.928
Halsey	A	6.73
	B	1.09
	$E\%$	8.68
	R^2	0.984
Henderson	A	0.04
	B	1.25
	$E\%$	25.70
	R^2	0.923
Iglesias and Chirife	A	3.02
	B	4.94
	$E\%$	11.54
	R^2	0.978
Kuhn	A	-4.85
	B	1.11
	$E\%$	9.77
Smith	R^2	0.980
	A	16.47
	B	-1.64
	$E\%$	28.49
	R^2	0.956

Propolis tozunun tek tabaka su içeriği değeri BET, Caurie ve GAB sorpsiyon modelleri ile hesaplanmış ve bu değer her model için sırasıyla 3.54, 5.44 ve 3.69 g/100 g olarak tespit edilmiştir. Buna göre propolis tozu örneğinin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özelliklerinin

korunarak uzun süre depolanabilmesi için nem içeriğinin 5.44 g/100 g değerinin altında tutulması gerektiği değerlendirilmiştir. Yapılan bir araştırmada (da Silva vd., 2013) püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen propolis: Arap zımkı tozlarının tek tabaka su içerikleri 4.90-5.20 g/100 g olarak bildirilmiş olup, bu değerlerin propolis tozu örneklerinin depolanmasında kritik nem içeriği değerleri olduğu ve bunun üzerindeki nem içeriği değerlerinde örnekte bazı bozulma reaksiyonlarının hızlanabileceği ve ürün stabilitesinin azalabileceği belirtilmiştir.

Sorpsiyon modellerinin propolis tozunun nem adsorpsiyon verilerine uyumu $E\%$ (≤ 10) ve R^2 (≥ 0.98) parametrelerine (Choudhury vd., 2011) göre incelendiğinde BET ($\leq 0.50 a_w$), Halsey ve Kuhn modellerinin 25°C sıcaklıkta propolis tozunun nem adsorpsiyon özelliklerini daha iyi temsil ettiği belirlenmiştir. Bush vd. (2017) ve da Silva vd. (2013) tarafından yapılan çalışmalarda püskürterek kurutma yöntemi ve farklı taşıyıcı materyaller kullanılarak üretilen propolis tozu örneklerinin nem adsorpsiyon özellikleri GAB sorpsiyon modeli ile değerlendirilmiş ve bu modelin uyumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Bu araştırmada ise GAB sorpsiyon modelinin $E\%$ (13.12) ve R^2 (0.928) değerlerinin uyum standartlarını karşılamadığı tespit edilmiştir. Sonuçlar arasındaki farklılıkların kullanılan kurutma yöntemleri ile propolis: taşıyıcı materyal oranları arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı ve toz ürünün partikül boyutu, kristal veya amorf yapılarında oluşan değişimlerin nem adsorpsiyon özelliklerini de değiştirebileceği değerlendirilmiştir. Halsey ve Kuhn sorpsiyon modellerinin ise yoğurt tozu (Koç vd., 2010), bal: maltodekstrin tozu (Suhag vd., 2018), pirinç bazlı hazır çorba karışımı (Singh ve Prasad, 2015) ve kavrulmuş kakao çekirdekleri (Collazos-Escobar vd., 2020) gibi farklı gıda örneklerinin nem adsorpsiyon özelliklerini temsil etmek için uygun oldukları rapor edilmiştir.

SONUÇ

Araştırmada; propolisin vakum kurutma yöntemi kullanılarak toz halinde bir ürüne dönüştürülebildiği, elde edilen ürünün toplam fenolik madde ve flavonoid içeriği değerlerinde

ham propolis örneğine göre sırasıyla %59 ve %63 düzeyinde bir azalma olmakla birlikte biyoaktif bileşenler içerdiği, propolis tozunun higroskopik olması ve orta düzeyde akışkanlık özellikleri göstermesi nedenleriyle 25°C sıcaklıkta tutulması durumunda tek tabaka su içeriğinden (5.44 g/100 g) daha düşük nem içeriklerinde üretilmesi ve muhafaza edilmesi gerektiği sonuçlarına ulaşılmıştır. Ayrıca daha sonraki araştırmalarda propolis tozunun kimyasal ve fiziksel özelliklerinin daha üstün hale getirilmesi amacıyla bileşen içeriği ve üretim parametreleri bakımlarından optimizasyon çalışmaları yapılmasının da önemli olabileceği değerlendirilmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarın bu araştırma ile ilgili olarak herhangi bir kişi veya kurum ile çıkar çatışması yoktur.

YAZAR KATKILARI

Bu araştırmanın yürütülmesi, üretim denemeleri, analizlerin gerçekleştirilmesi ve makalenin yazılması yazar tarafından gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

Aksil, T., Abbas, M., Trari, M., Benamara, S. (2019). Water adsorption on lyophilized *Arbutus unedo* L. fruit powder: Determination of thermodynamic parameters. *Microchemical Journal*, 145, 35-41.

Andrade, J.K.S., Denadai, M., Andrade, G.R.S., da Cunha Nascimento, C., Barbosa, P.F., Jesus, M.S., Narain, N. (2018). Development and characterization of microencapsules containing spray dried powder obtained from Brazilian brown, green and red propolis. *Food Research International*, 109, 278-287.

Arslan-Tontul, S. (2020). The combined usage of β -cyclodextrin and milk proteins in microencapsulation of *Bifidobacterium bifidum* BB-12. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(2), 747-755.

Baysan, U., Bastoğlu, A.Z., Coşkun, N.Ö., Takma, D.K., Balçık, E.Ü., Sahin-Nadeem, H., Koç, M. (2021). The effect of coating material combination and encapsulation method on

propolis powder properties. *Powder Technology*, 384, 332-341.

Baysan, U., Elmas, F., Koç, M. (2019). The effect of spray drying conditions on physicochemical properties of encapsulated propolis powder. *Journal of Food Process Engineering*, 42(4), e13024.

Bell, L., Labuza, T. (2000). Moisture sorption: practical aspects of isotherm measurement and use. American Association of Cereal Chemists (AACC), 2nd edition, 122 pp.

Beristain, C.I., Garcia, H.S., Vernon-Carter, E.J. (2001). Spray-dried encapsulation of cardamom (*Elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*Prosopis juliflora*) gum. *LWT-Food Science and Technology*, 34(6): 398-401.

Boulechfar, S., Zellagui, A., Bensouici, C., Asan-Ozusaglam, M., Tacer, S., Hanene, D. (2022). Anticholinesterase, anti- α -glucosidase, antioxidant and antimicrobial effects of four Algerian propolis. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(1): 793-803.

Bueno-Costa, F.M., Zambiasi, R.C., Bohmer, B.W., Chaves, F.C., da Silva, W.P., Zanusso, J.T., Dutra, I. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 333-340.

Busch, V.M., Pereyra-Gonzalez, A., Şegatin, N., Santagapita, P.R., Ulrich, N.P., Buera, M.D.P. (2017). Propolis encapsulation by spray drying: Characterization and stability. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 227-235.

Callahan, J.C., Cleary, G.W., Elefant, M., Kaplan, G., Kensler, T., Nash, R.A. (1982). Equilibrium moisture content of pharmaceutical excipients. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 8(3), 355-369.

Cano-Chauca, M., Stringheta, P.C., Ramos, A.M., Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 420-428.

Choudhury, D., Sahu, J.K., Sharma, G. (2011). Moisture sorption isotherms, heat of sorption and

- properties of sorbed water of raw bamboo (*Dendrocalamus longispathus*) shoots. *Industrial Crops and Products*, 33(1), 211-216.
- Collazos-Escobar, G.A., Gutiérrez-Guzmán, N., Váquiro-Herrera, H.A., Amorochó-Cruz, C.M. (2020). Water dynamics adsorption properties of dried and roasted cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *International Journal of Food Properties*, 23(1), 434-444.
- Cui, J., Duan, X., Ke, L., Pan, X., Liu, J., Song, X., Ma, W., Zhang, Z., Liu, Y., Fan, Y. (2022). Extraction, purification, structural character and biological properties of propolis flavonoids: A review. *Fitoterapia*, 157, 105106.
- Çetin-Babaoğlu, H., Yalım, N., Kale, E., Tontul, S. A. (2021). Pigmented whole maize grains for functional value added and low glycemic index snack production. *Food Bioscience*, 44, 101349.
- da Silva, F.C., da Fonseca, C.R., de Alencar, S.M., Thomazini, M., de Carvalho Balieiro, J.C., Pittia, P., Favaro-Trindade, C.S. (2013). Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. *Food and Bioprocess Technology*, 91(1), 28-36.
- da Silva, F.C., Favaro-Trindade, C.S., de Alencar, S.M., Thomazini, M., Balieiro, J.C. (2011). Physicochemical properties, antioxidant activity and stability of spray-dried propolis. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 3(2), 94-100.
- Fan, F., Roos, Y.H. (2019). Physicochemical properties, structural transformation, and relaxation time in strength analysis for honey powder models. *Food Research International*, 122, 137-148.
- Kaleem, M.A., Alam, M.Z., Khan, M., Jaffery, S.H.I., Rashid, B. (2021). An experimental investigation on accuracy of Hausner Ratio and Carr Index of powders in additive manufacturing processes. *Metal Powder Report*, 76, S50-S54.
- Kasote, D., Bankova, V., Viljoen, A.M. (2022). Propolis: Chemical diversity and challenges in quality control. *Phytochemistry Reviews*, 21(6), 1887-1911.
- Kerr, W.L., Varner, A. (2019). Chemical and physical properties of vacuum-dried red beetroot (*Beta vulgaris*) powders compared to other drying methods. *Drying Technology*, 38(9), 1165-1174.
- Koc, B., Yilmazer, M.S., Balkır, P., Ertekin, F.K. (2010). Moisture sorption isotherms and storage stability of spray-dried yogurt powder. *Drying Technology*, 28(6), 816-822.
- Li, T.S., Sulaiman, R., Rukayadi, Y., Ramli, S. (2021). Effect of gum Arabic concentrations on foam properties, drying kinetics and physicochemical properties of foam mat drying of cantaloupe. *Food Hydrocolloids*, 116, 106492.
- Maroof, K., Lee, R.F., Siow, L.F., Gan, S.H. (2022). Microencapsulation of propolis by spray drying: A review. *Drying Technology*, 40(6), 1083-1102.
- Mutlu, C. (2023a). Bee pollen usage as carrier material in the drying of honey and some properties of honey-bee pollen powders. *British Food Journal*, 2023.
- Mutlu, C. (2023b). Adsorption isotherms and some thermodynamic properties of multifloral bee pollen at different conditions. *Heat and Mass Transfer*, 1-9.
- Mutlu, C., Erbaş, M. (2018). Vakum kurutma yöntemi kullanılarak üretilen sade ve meyveli bal tozlarının bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi. *Gıda/The Journal of Food*, 43(3), 432-445.
- Osés, S.M., Cantero, L., Puertas, G., Fernández-Muiño, M.Á., Sancho, M.T. (2022). Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activities of ling-heather honey powder obtained by different methods with several carriers. *LWT-Food Science and Technology*, 159, 113235.
- Pant, K., Thakur, M., Chopra, H.K., Nanda, V. (2022). Encapsulated bee propolis powder: Drying process optimization and physicochemical characterization. *LWT-Food Science and Technology*, 155, 112956.
- Rivero, R.C., Archaina, D.A., Busquet, C.M., Coronel, B.M.B., Busch, V.M. (2021). Development of a honey-based powder ingredient using a mixture design: Botanical origin

- effect and hydration properties. *LWT-Food Science and Technology*, 147, 111446.
- Rosa, D.P., Evangelista, R.R., Machado, A.L.B., Sanches, M.A.R., Telis-Romero, J. (2021). Water sorption properties of papaya seeds (*Carica papaya* L.) formosa variety: An assessment under storage and drying conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 138, 110458.
- Sahari, M.A., Hamidi-Esfehani, Z., Samadlui, H. (2008). Optimization of vacuum drying characteristics of date powder. *Drying Technology*, 26(6), 793-797.
- Singh, Y., Prasad, K. (2015). Sorption isotherms modeling approach of rice-based instant soup mix stored under controlled temperature and humidity. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1103683.
- Stojanović, S.T., Najman, S.J., Popov, B.B., Najman, S.S. (2020). Propolis: chemical composition, biological and pharmacological activity—a review. *Acta Medica Medianae*, 59(2), 108-113.
- Šturm, L., Črnivec, I.G.O., Istenič, K., Ota, A., Megušar, P., Slukan, A., Humar, M., Levic, S., Nedović, V., Kopinč, R., Deželak, M., Pereyra Gonzales, A., Ulrih, N.P. (2019). Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum Arabic, maltodextrin and inulin as coating materials. *Food and Bioprocess Processing*, 116, 196-211.
- Suhag, Y., Nayik, G.A., Nanda, V. (2018). Modelling of moisture sorption isotherms and glass transition temperature of spray-dried honey powder. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 2553-2560.
- Tontul, I., Topuz, A. (2017). Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties. *Trends in Food Science & Technology*, 63, 91-102.
- Toydemir, G. (2013). The effects of nectar processing on sour cherry antioxidant compounds: changes in metabolite profile and bioavailability. PhD thesis, Istanbul Technical University, 202 pp.

PIYASADA TÜKETİME SUNULAN AYÇİÇEK VE MISIRÖZÜ YAĞLARINDA AFLATOKSİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Işıl Var^{1*}, Ali Tekin²

¹Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana, Türkiye

²Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Mersin, Türkiye

Geliş/Received: 19.10.2023; Kabul /Accepted: 30.11.2023; Online baskı /Published online: 30.11.2023

Var, I., Tekin, A. (2023). Piyasada tüketime sunulan ayçiçek ve mısırözü yağlarında aflatoksin varlığının araştırılması. GIDA (2023) 48 (6) 1304-1317 doi: 10.15237/ gida.GD23126

Var, I., Tekin, A. (2023). Investigation of the presence of aflatoxin in sunflower and corn oils offered for consumption in the market. GIDA (2023) 48 (6) 1304-1317 doi: 10.15237/ gida.GD23126

ÖZ

Genel olarak bütün tarımsal ürünler küflenmeye bağlı bozulmalara maruz kalabilmektedir. Toprakta ve havada yaygın olarak bulunan küf sporları, uygun sıcaklık ve su aktivitesi değerlerinde bu ürünlere bulaştıklarında ürünleri bozabilmekte, hatta ürettikleri mikotoksinlerle sağlık açısından risk yaratabilmektedirler. Tarımsal ürünlerimizden olan yağlı tohumlar da yapıları itibari ile küflenmeye ve küfler tarafından üretilen mikotoksinler ile kontamine olmaya uygun gıdalardır. Endüstriyel olarak, ayçiçeği ve mısırözü gibi yağlı tohumlardan yağ eldesinde çeşitli ekstraksiyon yöntemlerinden yararlanılmakta ve elde edilen bu ham yağlara sonrasında degumming, nötralizasyon ve ağartma proseslerini içeren rafinasyon işlemleri uygulanmaktadır. Bugüne kadar yağ eldesinde uygulanan rafinasyon işlemlerinin hammaddede bulunan mikotoksinlerin yağdaki miktarını düşürdüğü ve yağların bu anlamda bir risk taşımadığı düşüncesi yaygındır. Son zamanlarda yapılan sınırlı sayıda çalışmaları, yağlı tohumdan başlayarak rafine yağ eldesine kadar devam eden proses boyunca uygulanan işlemlerin ancak mikotoksin düzeyini düşürdüğünü fakat düşük düzeylerde de olsa yağlarda mikotoksin bulunabileceğini ve yine sınırlı sayıda yapılmış piyasa taramalarını içeren çalışmalar rafine yağların farklı düzeylerde mikotoksin içerdiğini göstermiştir. Bu çalışmada ilk kez, ülkemiz marketlerinde rafine olarak satışa sunulan ayçiçek yağı ve mısırözü yağında aflatoksin varlığı araştırılmış ve ülkemiz piyasasındaki durum değerlendirilmiştir. Çalışmada ülkemiz piyasasından toplanan 50 rafine ayçiçek yağı örneğinin 16 (%32)'sında 0.06-0.198 µg/kg aralığında, 44 rafine mısır özü yağı örneğinin ise 28 (%63.63)'ünde 0.03-0.144 µg/kg aralığında toplam aflatoksin varlığı tespit edilirken, 16 rafine ayçiçek yağı örneğinin 5'inde 0.06-0.082 µg/kg aralığında, 28 rafine mısır özü yağı örneğinin ise 4'ünde 0.014-0.032 µg/kg aralığında AFB₁ tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan örneklerin bir kısmında her ne kadar aflatoksin varlığı tespit edilmişse de belirlenen miktarlar uluslararası bitkisel yağlar için bildirilen toksin kriterlerinin çok altında bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Rafinasyon, ayçiçek yağı, mısırözü yağı, aflatoksin

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: ivar@cu.edu.tr

☎: (+90) 544 827 4245

Işıl Var; ORCID no: 0000-0002-8655-4199

Ali Tekin; ORCID no: 0000-0002-0421-6330

INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF AFLATOXIN IN SUNFLOWER AND CORN OILS OFFERED FOR CONSUMPTION IN THE MARKET

ABSTRACT

In general, all agricultural products may be subject to spoilage due to mold. Mold spores, which are commonly found in soil and air, can spoil products when they contaminate these products at appropriate temperature and water activity values, and can even pose a health risk with the mycotoxins. Oilseeds, one of our agricultural products, are foods that are suitable for mold growth and contamination with mycotoxins produced by molds due to their structure. Industrially, various extraction methods are used to obtain oil from oilseeds such as sunflower and corn, and refining processes including degumming, neutralization and bleaching processes are applied to these crude oils. So far, it was widely thought that the refining processes applied to obtain oil eliminated the mycotoxins found in the raw material from remaining in the oil and that the oils did not pose a risk in this sense. A limited number of recent studies have shown that the processes applied throughout the process, starting from oilseeds to refined oil, only reduce the level of mycotoxins, but mycotoxins may be present in oils, albeit at low levels. Moreover, studies including limited market scans have shown that refined oils contain different levels of mycotoxins. In this study, the presence of aflatoxin in sunflower oil and corn oil sold as refined in our country's markets was investigated and the situation of the oils in terms of aflatoxin content was revealed. Total aflatoxin presence was determined in the range of 0.06-0.198 µg/kg in 16 (32%) of 50 refined sunflower oil samples and in the range of 0.03-0.144 µg/kg in 28 (63.63%) of 44 refined corn oil samples. In the study, AFB₁ was detected in the range of 0.06-0.082 µg/kg in 5 of 16 refined sunflower oil samples, and in the range of 0.014-0.032 µg/kg in 4 of 28 refined corn oil samples. Although the presence of aflatoxin was detected in some of the samples used in the study, the determined amounts were found to be well below the international toxin criteria reported for vegetable oil.

Keywords: Refining, sunflower oil, corn oil, aflatoxin

GİRİŞ

Yağ asitlerinin trigliseritleri olarak tanımlanan yağlar, en temel beslenme bileşenlerinden biridir. İnsan tüketimi için üretilen yağlar bitkisel veya hayvansal kaynaklardan elde edilmektedir. Dünya genelinde üretilen yağların büyük bir kısmı (%90), bitkisel ürünlerden sağlanmaktadır (Gunstone, 2002).

Tarla ve bahçe ürünü olarak birçok bitkinin tohumlarından insan tüketimine uygun bitkisel yağ üretimi yapılabilmektedir. Bazı bitkisel yağlar ham yağ olarak tüketime sunulabildiği gibi sanayide üretilen yağların büyük çoğunluğu rafine edilerek piyasaya sürülmektedir. Ayçiçeği, mısır, soya, kanola, yerfıstığı gibi yağlı tohumlar ve zeytin gibi meyveler bitkisel yağ endüstrisinin temel hammaddeleridir (Gorrepati vd., 2015).

Yağlık bitki üretimi, özellikle sulu tarıma dayalı zor ve masraflı bir tarım koludur. Üretim sürecinde çok çeşitli problemlerle karşılaşılabilir, bunlar arasında küflenme

ve mikotoksin oluşumu önemli bir yer tutmaktadır. Yağlı tohumların yapılarındaki çoklu doymamış yağ asidi bileşikleri, küflerin mikotoksin oluşturması için teşvik edici bir besin kaynağıdır (Samarajeewa vd., 1983; Al-Ameiri vd., 2015).

Mikotoksinler, bazı küfler tarafından gıda ve yemlerde sekonder metabolit olarak üretilen, bir grup toksik kimyasal bileşiktir. Mikotoksinlerin vücuda alınması, insan ve hayvanlarda ciddi sağlık problemlerine neden olmaktadır (Heperkan vd., 1994; Cserhâti vd., 2013). Günümüzde yaklaşık 400 farklı mikotoksin tanımlanmıştır, ancak bunlardan aflatoksinler, fumonisinler, okratoksinler, zearalenon ve trikotesenler gıda güvenliği ve insan sağlığı açısından öne çıkmaktadır (Zijden vd., 1962; Öksüztepe ve Erkan, 2016; Var ve Kabak, 2004).

Sayısı binleri bulan küf türlerinin tümü mikotoksin üretme yeteneğine sahip değildir, yaklaşık 350 küf türünün mikotoksin üreticisi

olduğu yapılan çalışmalarda belirlenmiştir. En önemli mikotoksin üreticisi küfler arasında *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* türleri en sık rastlanan küflerdir (Gianessi, 2009).

İnsan ve hayvan sağlığı üzerine çok ciddi etkileri olmasından dolayı, mikotoksinler arasında en fazla araştırmalara konu olan aflatoksinlerdir. Aflatoksinler, bazı *Aspergillus* türleri tarafından sentezlenen ve birçok gıdada sıklıkla tespit edilen bileşiklerdir. Aflatoksinlerin 18 farklı türü tespit edilmiş olsa da toksik etki bakımından 4 ana fraksiyonu (AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂)

bulunmaktadır (Boutrif, 1998; Özkaya ve Temiz, 2003; Var ve Kabak, 2004). Aflatoksinler kimyasal olarak bifuran halkası ve lakton bağı içeren kumarin derivatlarıdır.

Aflatoksinler, normal pişirme sıcaklıklarına ve pastörizasyon sıcaklıklarına karşı dayanıklı yapıda olup bozunabilmeleri için çok daha yüksek ısı işlem uygulanmasına gereksinim duyulmaktadır. Çizelge 1’de aflatoksin bileşiklerinin kimyasal yapıları, erime sıcaklıkları ve kapalı formülleri verilmiştir (Vijaya-Kumar, 2018).

Çizelge 1. Aflatoksin bileşiklerinin kapalı kimyasal formülleri, Erime Noktaları ve Ultraviyole ışık altında verdikleri floresans renkleri (Kłosowski vd., 2010; Var, 1987)

Aflatoksin	Kimyasal Formülü	Erime Noktası (°C)	Floresans Renk (365 nm)
AFB ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	268	Mavi
AFB ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	287.5	Mavi
AFG ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	245	Yeşil
AFG ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	238.5	Yeşil

Yüksek seviyede toksik özellik gösteren bileşikler olan aflatoksinler, insan ve hayvanlara gıdalar yolu bulaşabilmektedirler. Aflatoksinli gıdaların tüketilmesiyle ortaya çıkan ve aflatoksikoz olarak adlandırılan bu sorunlar hem akut hem de kronik olarak kendini göstermektedir (Vijaya-Kumar, 2018)

Gıdaların tüketiminden kısa bir süre içinde ortaya çıkan ve yüksek düzeyde aflatoksin maruziyetinin olduğu durumlarda akut aflatoksikoz vakaları görülmektedir. Akut aflatoksikoz vaka bazında aralıklı olarak ortaya çıksa da dünyanın birçok ülkesini büyük salgınlarla etkilemiştir. Akut vakalarda toplu ölümler görülebildiği gibi; sarılık, ateş ve diyare, gibi semptomatik rahatsızlıklar da görülebilmektedir (Méndez-Albores vd., 2009; Clavel ve Brabet, 2013; Gupta vd., 2022).

Aflatoksinlerin ölümcül olmayan dozları ise kronik bir toksisiteye neden olabilmektedir. Uzun bir süre boyunca düşük doz aflatoksin maruziyeti sonucunda ortaya çıkan kronik aflatoksikoz, akut aflatoksikozdan daha yaygındır. Vücut üzerine etkileri doza, maruz kalma süresine, aflatoksinin türüne, kişinin bağışıklığına ve diyet veya

beslenme durumuna göre değişebilmekle beraber kronik maruziyetin en çok bilinen sağlık etkisinin karaciğer kanseri olduğu tespit edilmiştir. Diğer kronik toksik sağlık etkileri ise teratojenik ve mutajenik etkiler olarak bildirilmektedir (Sinnhuber vd., 1977).

Aflatoksinlerin hepatotoksitesisi ve kanserojen etkileri yapılan birçok çalışma ile kesinlik kazanmıştır, bu nedenle Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından uzun bir süredir 1. grup insan karsinojen olarak sınıflandırılmıştır (IARC, 2002). Bu hastalığın, mikotoksinler içinde en toksik bileşik olarak bilinen AFB₁’in vücutta tümör baskılama görevini yapan p53 genine bağlanarak yapısını bozması neticesinde gerçekleştiği gösterilmiştir (Bressac vd., 1991).

Aspergillus cinsi içerisinde özellikle üç türün (*A. flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius*) aflatoksin oluşturma yeteneklerinin öne çıktığı bildirilmektedir. Aflatoksin çalışmaları ilk başladığında sadece *A. flavus*’un aflatoksin ürettiği düşünülmüşse de, sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda diğer iki türün de aflatoksin üreticisi

olduğu belirlenmiştir. Bunlar arasında, ekonomik açıdan *A. flavus* ve *A. parasiticus* önemli bulunurken, *A. nomius* suşlarının aflatoksin üretme yeteneğinin çok sınırlı kaldığı gözlenmiştir (Özkaya ve Temiz, 2003; Doster vd., 2009). Çizelge 2’de başlıca aflatoksin üretici küfler ve ürettikleri mikotoksinler görülmektedir.

Çizelge 2. Başlıca aflatoksin üretici küfler ve ürettikleri mikotoksinler (Feddern vd., 2013)

Tür	Ürettiği Mikotoksinler
<i>A. flavus</i>	AFB ₁ , AFB ₂ ve Siklopiazonik Asit
<i>A. parasiticus</i>	AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ ve AFG ₂
<i>A. nomius</i>	AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ ve AFG ₂

Mısır, yerfıstığı, badem, antepfıstığı, pamuk, incir, kayısı ve biber gibi birçok tarımsal üründe sıklıkla aflatoksin varlığı tespit edilmektedir. Bu ürünlerde aflatoksin oluşumu çoğunlukla hasat öncesinde, kurutma sırasında veya depolama sırasında gerçekleşebilmektedir (Clavel ve Brabet, 2013; Gürhayta ve Çağındı, 2016; Lavkor vd., 2017).

Hasat öncesinde aflatoksin oluşumu, çevresel koşullara bağlı olarak değişkenlik gösterirken, sıcaklık ve nem, pH ve ortamın gaz kompozisyonu aflatoksin oluşumu için en önemli

koşullar olarak değerlendirilmektedir (Saalia ve Phillips, 2011). *A. flavus*, geniş bir sıcaklık aralığında (6-8 °C ile 48-60 °C) gelişebilmektedir, maksimum toksin üretimini ise 25-30 °C’de yapmaktadır (Rustom, 1997; Pour vd., 2010).

Aflatoksinlerin çok düşük miktarlarının bile akut durumlarda kansere neden olduğunun tespit edilmesinden sonra, bütün ülkeler, aflatoksin riski taşıyan gıdalara özgü yasal limitler belirlemiştir. Bu konuda, ülkemizde 2011 yılında “Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği” yayımlanmıştır. Bu yönetmeliğin eklerinde, aflatoksinler açısından riskli olduğu değerlendirilen gıdalar için maksimum aflatoksin limitleri belirlenmiştir. Söz konusu yönetmelikte yenilebilir yağlar için herhangi bir limit belirlenmemiştir. Başka bir işlem görmeden direkt tüketilecek gıdalarda belirlenen limitler incelendiğinde ise AFB₁ için maksimum belirlenen değer 8 µg/kg olmakla beraber, Toplam Aflatoksin için bu değer 15 µg/kg olarak bildirilmiştir. Ülkemizde yağlar için herhangi bir limit belirlenmemesine rağmen farklı ülkelerde yağlar veya birçok gıda için aflatoksin limitleri söz konusudur. Çeşitli ülkelerde gıdalar için belirlenmiş olan aflatoksin limitleri Çizelge 3’te verilmiştir.

Çizelge 3. Ülkeler bazında yağlar için belirlenen yasal maksimum aflatoksin limitleri (Abdolmaleki vd., 2021)

Ülke	Ürün Adı	Aflatoksin (Max. Limit) (µg/kg)
Çin	Mısır Özü Yağı	20 (AFB ₁)
	Yerfıstığı Yağı	20 (AFB ₁)
	Diğer Yağlar	10 (AFB ₁)
Fransa	Bitkisel Yağlar	5 (AFB ₁)
Kenya	Bitkisel Yağlar	20 (Toplam Aflatoksin)
Tayvan	Yenilebilir Yağlar	10 (Toplam Aflatoksin)
Fas	Bitkisel Yağlar	5 (AFB ₁)
Tayland	Yağ ve Margarınler	20 (Toplam Aflatoksin)
ABD	Tüm Gıdalar	20 (Toplam Aflatoksin)
Brezilya	Tüm Gıdalar	15 (AFB ₁)
Hindistan	Tüm Gıdalar	30 (AFB ₁)
Endonezya	Tüm Gıdalar	35 (Toplam Aflatoksin)
		20 (AFB ₁)
Singapur ve Avustralya	Tüm Gıdalar	5 (Toplam Aflatoksin)
Malezya	Tüm Gıdalar	35 (Toplam Aflatoksin)
Japonya ve Vietnam	Tüm Gıdalar	10 (Toplam Aflatoksin)
Sri Lanka	Tüm Gıdalar	30 (Toplam Aflatoksin)

Mikotoksinlerin gıdalardan uzaklaştırma işlemleri oldukça sıkıntılı ve çok da başarılı olmayan süreçler olup bu yöntemler içinde, mikotoksin alt türevlerinin oluşmaması ve gıdanın besin değerinin değişmemesi ve mikotoksinin seviyesinin azaltılabilmesindeki başarısı nedeniyle yağlı tohumlardan yağ eldesi oldukça öne çıkan bir proses içermektedir. Yağ ekstraksiyonu ve rafinasyon işlemleri sürecinde tüm yağlı tohumlarda ekstraksiyon ve rafinasyonun mikotoksin detoksifikasyonu için uygulanabilir bir yöntem olabileceği yapılan sınırlı da olsa çalışmalarda belirtilmektedir (Bordin vd., 2014; Var ve Uçkun, 2021, Tekin, 2023). Her ne kadar bu yöntem ile mikotoksin detoksifikasyonu başarılı sonuçlansa da hala farklı seviyelerde mikotoksinin varlığı birçok çalışmada gösterilmiştir.

Schollenberger vd. (2008), Almanya'da satılan soya fasulyesi, ayçiçeği ve mısır tohumlarından elde edilen yenilebilir 110 yağ örneğinin (61 rafine-49 ham yağ) çalışıldığı araştırmalarında; rafine edilmiş 61 örneğin 13'ünde ve rafine edilmemiş 49 örneğin 10'unda *Fusarium* toksinlerini tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Schollenberger vd., 2008).

Banu ve Muthumary (2010) Karnataka'da bulunan ayçiçek yağı rafinerisinden topladıkları ayçiçek yağlarında AFB₁ kontaminasyonunu araştırdıkları çalışmada, toplamda 23 ham yağ örneğinin 10'unda AFB₁ tespit ederken, rafinasyon sonucunda yağ örneklerinde AFB₁ tespit edilemediğini bildirmişlerdir (Banu ve Muthumary, 2010).

Elzupir vd. (2010) Sudan'da küçük ölçekli fabrikalardan, marketlerden topladıkları 21 adet yer fıstığı yağı ve 19 adet ayçiçeği yağı örneğinde aflatoksin varlığını araştırdıkları çalışmada, yer fıstığı yağında toplam aflatoksini 5.7-100 µg/kg aralığında tespit ederlerken, ayçiçeği yağında toplam aflatoksini 0.6-175.7 µg/kg aralığında tespit etmişlerdir (Elzupir vd., 2010).

Yang ve arkadaşları (2011) Çin Halk Cumhuriyeti'nin Hebei eyaletinde 76 yemeklik yağ örneğinde LC-MS/MS yöntemini kullanarak

aflatoksin varlığını araştırmışlardır. 76 örneğin 31'ini yer fıstığı yağı, 31'ini karışım yağ, 7'sini soya yağı, 5'ini mısırözü yağı, 1'ini Ayçiçek yağı ve 1'ini balık yağı oluşturmaktadır. Analiz sonucunda yer fıstığı yağı örneklerinin %48.4'ünde 0.15–2.72 µg/kg aralığında, karışım yağı örneklerinin ise %19.4'ünde 0.14-0.24 µg/kg aralığında aflatoksin bulunduğunu tespit etmişlerdir (Yang vd., 2011).

Deng vd., (2018) Çin Halk Cumhuriyeti'nde yer fıstığı yağında AFB₁ ve Bisfenol A'nın birlikte UPLC-MS/MS cihazında analiz edildiği bir metot geliştirmişlerdir. Söz konusu metot uygulanarak yapılan çalışmada yerel marketlerden toplanan 52 yer fıstığı yağının 43'ünde 0.5-69.40 µg/kg aralığında AFB₁ tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Qi vd., (2019) Çin Halk Cumhuriyeti'nin Guangdong eyaletinde, 209'u 2016 yılında, 218'i de 2017 yılında olmak üzere, yerel çiftçi marketlerinden topladıkları 427 yer fıstığı yağı örneğinde AFB₁ varlığını araştırmışlardır. 2016 yılında alınan örneklerin 47'sinde (%22.5) ortalama 29.4 µg/kg AFB₁ ve 2017 yılında alınan örneklerin 33'ünde (%15.10) ortalama 17.10 µg/kg AFB₁ bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Chen vd., (2019) Çin ve Etiyopya'da satılan 48 yemeklik yağ örneğinde AFB₁ varlığını araştırdıkları çalışmada, örneklerin 27'sini Çin'den alınan örnekler oluşturmuştur ve bu örneklerin 8'inde 0.03-2.23 µg/kg AFB₁ bulunduğunu tespit etmişlerdir. Etiyopya'dan alınan 21 örneğin ise 12'sinde 0.07-100 µg/kg AFB₁ bulunduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada ülkemiz marketlerinde rafine olarak satışı sunulan ayçiçek yağı ve mısırözü yağlarında aflatoksin varlığı ilk kez araştırılmış ve ülkemiz piyasasındaki durum değerlendirilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada materyal olarak kullanılan rafine ayçiçek yağı, rafine mısırözü yağı örnekleri ülkemizde satışa sunulmuş olan farklı markaların ürünlerini temsil edecek şekilde, perakende satış yerlerinden temin edilmiştir. Örnekler ağız kapalı bir şekilde alınmış ve sonrasında hızlıca laboratuvara getirilmiştir. Hemen analiz

edilmeyecek ürünler +4 °C buzdolabında analiz zamanına kadar bekletilmiştir.

Aflatoksin Immunoafinite Kolonları Vicam (Almanya) firmasından, Aflatoksin analitik standartları Supelco (ABD) firmasından, Methanol, Asetonitril, Asetik Asit ve Nitrik Asit Sigma Aldrich (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Tüm kimyasalların mümkün olan en yüksek saflıkta olmasına özen gösterilmiştir.

Ayçiçek Yağı ve Mısırözü Yağı Örneklerinde Aflatoksin Aranması

Rafine ayçiçek yağı ve rafine mısırözü yağı örneklerinde aflatoksin analizi Daradimos vd., (2000) tarafından uygulanan metot modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Örnekler analize alınmadan önce HPLC-FLD cihazında kalibrasyon, geri kazanım ve metot doğruluğunun belirlenmesi çalışmaları yapılmıştır.

Aflatoksinlerin Geri Kazanımı

Rafine ayçiçek yağı ve rafine mısırözü yağı örneklerinde aflatoksinlerin geri kazanım oranlarının tespit edilmesi amacıyla, aflatoksin içermediği tespit edilen örnekler 1 µg/kg AFB₁, 0.3 µg/L AFB₂, 1 µg/kg AFG₁ ve 0.3 µg/L AFG₂ içeren aflatoksin standart çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra aflatoksin analizi yapılmıştır.

% Geri Kazanım aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Geri Kazanım} = (a / b) \times 100$$

a = Cihazda okunan aflatoksin konsantrasyonu değeri

b = Numuneye ilave edilen aflatoksin konsantrasyonu

Aflatoksin Tespit ve Ölçüm Limiti Çalışmaları

Tespit limiti (LOD) ve Ölçüm Limiti (LOQ) çalışmaları için aflatoksin içermeyen örneğe 0.5 µg/kg (AFB₁ ve AFG₁ için) ve 0.15 µg/kg (AFB₂ ve AFG₂ için) düzeyinde standartlar eklenerek 5 adet geri alma çalışması yapılmıştır.

Tespit limiti ve ölçüm limiti aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Tespit Limiti} = 3 \times \text{SD}$$

$$\text{Ölçüm Limiti} = 10 \times \text{SD}$$

SD: Standart Sapma

Rafine Ayçiçek Yağı ve Rafine Mısırözü Yağı Örneklerinde Aflatoksin Analizi

10 g yağ örneği santrifüj tüpüne alınmış ve üzerine 10 mL metanol:su (80:20) karışımı eklenmiştir. Bu karışım 2 dakika yüksek hızda vortekslenmiştir. Daha sonra +4 °C sıcaklık ve 6000 rpm devirde 20 dakika süre ile santrifüj işlemi yapılmıştır. Santrifüj sonrası üst fazdan bir tüp içerisine 1 mL alınarak üzerine 9 ml ultra saf su eklenmiş ve 20 saniye vortekslenmiştir. Toplam 10 mL olan bu karışım 1 mL/dk hızla Immuno Affinite Kolonundan (IAK) geçirilmiştir. Sonrasında IAK'da tutulmuş olan non-spesifik safsızlıkları gidermek için iki defa 10 ml su geçirilmiştir. IAK'da tutulan aflatoksin geri kazanım için kolondan 1 mL/dk hızla, 1 mL methanol geçirilmiştir ve eluat vialde alınmıştır. Daha sonra HPLC'de kromatogramında pik ayrımın sağlanması amacıyla kolondan 1 mL ultra saf su geçirilerek aynı vialde alınmıştır. Böylece vialde toplam hacmi 2 mL olan aflatoksin içeren metanol-su karışımı elde edilmiştir. Bu karışım önce 30 saniye vortekslenmiş ve 0.45 µm gözenek çaplı teflon filtreden geçirdikten sonra HPLC-FLD'ye enjekte edilmiştir (Daradimos vd., 2000). HPLC-FLD şartları ise şu şekildedir:

Kolon: C18

Mobil Faz: Ultra Saf Su:Asetonitril:Methanol (600:200:300/v:v:v) (Çözeltinin litresinde 120 mg KBr ve 350 µL 4 Molar Nitrik Asit)

Akış Hızı: 1 mL/dk

Enjeksiyon Hacmi: 100 µL

Excitation (uyarıcı dalga boyu): 360 nm

Emission (yayılan dalga boyu): 430 nm

Kolon sıcaklığı: 25°C

Türevlendirme Cihazı: Coring Cell

SONUÇ VE TARTIŞMA

Aflatoksin Analizleri Metot Performanslarının Değerlendirilmesi

Piyasadan toplanan rafine ayçiçek yağı ve rafine mısır özü yağı örneklerinde aflatoksin analizi yapılması amacıyla öncelikle LOD, LOQ, geri alma ve tekrarlanabilirlik çalışmaları ile kullanılan metotların performansları değerlendirilmiştir.

Metot validasyonu amacıyla gerçekleştirilen LOD, LOQ, geri kazanım ve tekrarlanabilirlik

çalışmalarının sonuçları ise Çizelge 4'te özetlenmiştir.

Çizelge 4. Aflatoksin LOD, LOQ ve Geri Kazanım değerleri

		LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Geri Kazanım %
Rafine Ayçiçek Yağı	AFG ₂	0.052	0.172	93.0
	AFG ₁	0.061	0.204	92.2
	AFB ₂	0.058	0.192	90.3
	AFB ₁	0.053	0.177	90.7
Rafine Mısır Özü Yağı	AFG ₂	0.055	0.184	91.6
	AFG ₁	0.062	0.206	89.2
	AFB ₂	0.059	0.198	92.4
	AFB ₁	0.055	0.184	91.9

Çizelge 4 incelendiğinde kullanılan analiz metoduyla rafine ayçiçek yağında AFG₂, AFG₁, AFB₂ ve AFB₁'in LOD değerleri sırasıyla 0.052, 0.061, 0.058 ve 0.053 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu metotla elde edilen LOQ değerleri ise AFG₂ için 0.172 µg/kg, AFG₁ için 0.204 µg/kg, AFB₂ için 0.192 µg/kg ve 0.177 µg/kg olarak bulunmuştur. Rafine ayçiçek yağından AFG₂, AFG₁, AFB₂ ve AFB₁'in geri kazanım değerleri sırasıyla % 93.0, % 92.2, % 90.3 ve % 90.7 olarak belirlenmiştir. Aflatoksinlerin rafine ayçiçek yağından geri kazanım değerleri AB'nin belirlemiş olduğu analiz yöntemi parametrelerine (1–10 µg/kg toksin konsantrasyonu için % 70–110 arasında) uygun bulunmuştur (European Commission, 2006)

Rafine mısır özü yağında kullanılan analiz metodunda ise AFG₂, AFG₁, AFB₂ ve AFB₁'in LOD değerleri sırasıyla 0.055, 0.062, 0.059 ve 0.055 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu metotla elde edilen LOQ değerleri ise AFG₂ için 0.184 µg/kg, AFG₁ için 0.206 µg/kg, AFB₂ için 0.198 µg/kg ve AFB₁ için 0.184 µg/kg olarak bulunmuştur. Rafine mısırozü yağından AFG₂, AFG₁, AFB₂ ve AFB₁'in geri kazanım değerleri sırasıyla % 91.6, % 89.2, % 92.4 ve % 91.9 olarak bulunmuştur. Aflatoksinlerin rafine mısır özü yağından geri kazanım değerleri AB'nin belirlemiş olduğu analiz yöntemi parametrelerine (1–10 µg/kg toksin konsantrasyonu için % 70–110 arasında) uygun bulunmuştur (European Commission, 2006).

Rafine Ayçiçek Yağı Örneklerinde Aflatoksin Analizi Sonuçları

Araştırma kapsamında, HPLC-FLD yöntemi ile aflatoksin varlığı ve miktarı yönünden analiz edilen piyasadan toplanan rafine ayçiçek yağı örneklerinde aflatoksin varlığı ve saptanan miktarlar Çizelge 5'te verilmiştir.

Çalışmamızda piyasadan toplanan 50 adet rafine ayçiçek yağı örneğinin 16 (% 32)'sında aflatoksinlerin varlığı tespit edilmiştir. Örneklerin hiçbirinde AFG₁ tespit edilemezken, 8 örnekte 0.018-0.106 µg/kg aralığında AFG₂, 10 örnekte 0.08-0.10 µg/kg aralığında AFB₂ ve 5 örnekte 0.06-0.082 µg/kg aralığında AFB₁ tespit edilmiştir. Toplam aflatoksin belirlenen örnek sayısının ise 16 olduğu ve miktarlarının 0.06-0.198 µg/kg aralığında değiştiği belirlenmiştir. Elde ettiğimiz bulgular Çizelge 3'te verilen dünyadaki aflatoksin üst limitleri ile karşılaştırıldığında, aflatoksinler açısından pozitif olan örneklerdeki aflatoksin miktarlarının, bu limitlerin çok altında olduğu görülmüştür.

Yapılan literatür taramasında ülkemizde piyasadan toplanan ayçiçek yağı örneklerinde aflatoksin varlığına yönelik bir çalışmaya rastlanılmasa da çeşitli ülkelerde ham ve rafine ayçiçek yağı örneklerinde aflatoksin taramasının yapıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Hindistan'da yapılan bir çalışmada 11'i ham yağ, 8'i filtre edilmiş yağ ve 4'ü de rafine edilmiş yağ olarak toplam 23 ayçiçek yağı örneğinde AFB₁ aranmıştır. 5 ham yağ ve 5

Ayçiçek ve mısırözü yağlarında aflatoksin varlığı

filtre edilmiş yağ örneğinde 0.08-0.6 µg/kg aralığında AFB₁ tespit edilirken rafine edilmiş yağ örneklerinde aflatoksine rastlanmamıştır (Banu ve Muthumary, 2010). Sudan'ın farklı bölgelerinden 2010 yılında toplanan ayçiçek yağı örneklerinde aflatoksin varlığını araştırmak için yapılan bir çalışmada ise 37'si ham yağ ve 18'i de rafine yağ olmak üzere toplam 55 örnek kullanılmıştır. Çalışma sonucunda rafine ayçiçek yağı örneklerinde aflatoksin tespit edilemezken, ham yağ örneklerinin 8'inde 0.1-35 µg/kg aralığında AFB₁ bulunduğu tespit edilmiştir (İdris vd., 2010). Yine Sudan'da yapılan başka bir çalışmada çalışılan 19 ham ayçiçek yağı

örneklerinin tamamında aflatoksin tespit edildiği ve örneklerin 0.6-175.7 µg/kg aralığında toplam aflatoksin içerdiği belirlenmiştir (Elzupir vd., 2010). Bu çalışmalarda görüldüğü gibi ham ayçiçek yağında aflatoksin miktarlarının Çizelge 3'te verilen aflatoksin limitlerinin üzerine çıkabileceği durumlar mevcut iken rafine ayçiçek yağlarında ya çok düşük miktarlarda ya da hiç tespit edilememiştir. Çalışmamızda ise ham ayçiçek yağı örneği alınmamış ancak rafine ayçiçek yağlarında tespit edilen aflatoksin miktarlarının literatürlerdeki verilere benzer olarak yasal limitlerin çok altında olduğu görülmüştür.

Çizelge 5. Piyasada Tüketime Sunulan Ayçiçek Yağı Örneklerinde Aflatoksin Analizi Sonuçları

Örnek Adı	AFG ₂	AFG ₁	AFB ₂	AFB ₁	Toplam Aflatoksin
A1	TE	TE	TE	TE	TE
A2	TE	TE	TE	TE	TE
A3	TE	TE	TE	TE	TE
A4	TE	TE	TE	TE	TE
A5	TE	TE	TE	TE	TE
A6	TE	TE	TE	TE	TE
A7	TE	TE	TE	TE	TE
A8	TE	TE	TE	TE	TE
A9	TE	TE	TE	TE	TE
A10	0.054	TE	TE	0.058	0.112
A11	0.106	TE	TE	0.06	0.166
A12	TE	TE	TE	TE	TE
A13	TE	TE	TE	TE	TE
A14	0.034	TE	TE	TE	0.034
A15	TE	TE	TE	TE	TE
A16	TE	TE	TE	TE	TE
A17	0.022	TE	TE	0.082	0.104
A18	TE	TE	TE	TE	TE
A19	TE	TE	TE	TE	TE
A20	TE	TE	TE	TE	TE
A21	TE	TE	TE	TE	TE
A22	TE	TE	TE	TE	TE
A23	TE	TE	TE	TE	TE
A24	TE	TE	TE	TE	TE
A25	TE	TE	TE	TE	TE

Örnek Adı	AFG ₂	AFG ₁	AFB ₂	AFB ₁	Toplam Aflatoksin
A26	0.098	TE	0,1	TE	0.198
A27	TE	TE	TE	TE	TE
A28	TE	TE	TE	TE	TE
A29	TE	TE	TE	TE	TE
A30	TE	TE	TE	TE	TE
A31	TE	TE	TE	TE	TE
A32	0.018	TE	0.008	0.172	0.198
A33	TE	TE	TE	0.006	0.006
A34	0.018	TE	TE	TE	0.018
A35	TE	TE	TE	TE	TE
A36	TE	TE	TE	TE	TE
A37	TE	TE	TE	TE	TE
A38	TE	TE	TE	TE	TE
A39	TE	TE	TE	TE	TE
A40	0.056	TE	0.058	TE	0.114
A41	TE	TE	TE	TE	TE
A42	TE	TE	TE	TE	TE
A43	TE	TE	TE	TE	TE
A44	TE	TE	0.088	TE	0.088
A45	TE	TE	0.058	TE	0.058
A46	TE	TE	0.066	TE	0.066
A47	TE	TE	0.086	TE	0.086
A48	TE	TE	0.052	TE	0.052
A49	TE	TE	0.072	TE	0.072
A50	TE	TE	0.058	TE	0.058

TE: Tespit Edilemedi

Hammaddelerdeki aflatoksin bulaşıklığının miktarına bağlı olarak bu azalmalar farklı seviyelerde görülecektir. Şengül ve ark., (2018), Antep fıstığı gibi sert kabuklu bir meyve olan fındık örneklerini yağa işleyerek yağa geçen aflatoksin miktarlarını araştırmışlardır. Çalışma materyali olarak 44.08-73.67 µg/kg aralığında toplam aflatoksin ile doğal kontamine olmuş 5 fındık örneği kullanılmıştır. Yağ ekstraksiyonu ise n-hekzan ile soxhlet cihazında gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, hammaddede bulunan aflatoksinlerin AFB₂ için %5,83, AFB₁ için %4,38, AFG₂ için %3,44 ve AFG₁ için %1,88 oranında yağa geçtiğini bildirmişlerdir. Mahoney ve ark., (2021) California ABD’de yaptıkları bir çalışmada

aflatoksin ile doğal kontamine badem örneklerini yağa işleyerek yağa geçen ve küspede kalan aflatoksin miktarlarını incelemişlerdir. Çalışmada 0.8-928 µg/kg aralığında toplam aflatoksin içeren 19 doğal kontamine badem örneği kullanılmıştır. Bademlerden yağ elde etmek için ise n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu yöntemi kullanılmıştır. Ekstraksiyon işleminden sonra başlangıçtaki toplam aflatoksinin %2.7-17.2 aralığında yağa geçtiğini, küspede ise %82.8-969 aralığında kaldığını tespit etmişlerdir. Bu nedenle hammaddenin aflatoksin açısından içerdiği miktar rafinasyon prosesinin başarısına dolayısıyla gıdanın güvenilirliğine de katkı sunacaktır.

Rafine Mısır Özü Yağı Örneklerinde Aflatoksin Analizi Sonuçları

Araştırma kapsamında çalışılan piyasadan toplanan rafine mısır özü yağı örneklerinde

aflatoksin varlığı ve miktarları Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. Piyasaya Sunulan Mısırözü Yağı Örneklerinde Aflatoksin Analizi Sonuçları

Örnek Adı	AFG ₂	AFG ₁	AFB ₂	AFB ₁	Toplam Aflatoksin
M1	TE	TE	0.08	TE	0.08
M2	TE	TE	0.076	TE	0.076
M3	TE	TE	0.072	TE	0.072
M4	TE	TE	0.05	TE	0.05
M5	TE	TE	0.07	TE	0.07
M6	TE	TE	0.066	0.014	0.08
M7	TE	TE	0.062	TE	0.062
M8	TE	TE	0.066	TE	0.066
M9	TE	TE	TE	TE	TE
M10	TE	TE	0.12	0.024	0.144
M11	TE	TE	0.094	TE	0.094
M12	TE	TE	0.08	TE	0.08
M13	TE	TE	0.076	TE	0.076
M14	TE	TE	0.074	TE	0.074
M15	TE	TE	0.08	TE	0.08
M16	TE	TE	0.056	TE	0.056
M17	TE	TE	0.068	TE	0.068
M18	TE	TE	0.094	TE	0.094
M19	TE	TE	0.064	TE	0.064
M20	TE	TE	0.078	TE	0.078
M21	TE	TE	0.086	TE	0.086
M22	TE	TE	TE	TE	TE
M23	TE	TE	0.07	0.032	0.102
M24	TE	TE	TE	TE	TE
M25	TE	TE	TE	TE	TE
M26	TE	TE	TE	TE	TE
M27	TE	TE	0.064	TE	0.064
M28	TE	TE	0.086	TE	0.086
M29	TE	TE	0.1	TE	0.1
M30	TE	TE	0.014	0.016	0.03
M31	TE	TE	0.07	TE	0.07
M32	TE	TE	TE	TE	TE
M33	TE	TE	TE	TE	TE
M34	TE	TE	TE	TE	TE

Örnek Adı	AFG ₂	AFG ₁	AFB ₂	AFB ₁	Toplam Aflatoksin
M35	TE	TE	TE	TE	TE
M36	TE	TE	0.062	TE	0.062
M37	TE	TE	0.07	TE	0.07
M38	TE	TE	TE	TE	TE
M39	TE	TE	TE	TE	TE
M40	TE	TE	TE	TE	TE
M41	TE	TE	TE	TE	TE
M42	TE	TE	TE	TE	TE
M43	TE	TE	TE	TE	TE
M44	TE	TE	TE	TE	TE

TE: Tespit edilemedi

Aflatoksin açısından taranan 44 mısırozü yağı örneğinin 28'inde aflatoksinlerin varlığı tespit edilmiştir. Örneklerin hiçbirinde AFG₁ ve AFG₂ tespit edilemezken 27 örnekte 0.014-0.12 µg/kg aralığında AFB₂ ve 4 örnekte 0.014-0.032 µg/kg aralığında AFB₁ tespit edilmiştir. Toplam aflatoksin açısından değerlendirildiğinde, belirlenen örnek sayısının 28 olduğu ve toksin miktarının 0.03-0.144 µg/kg aralığında değiştiği belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulguların, farklı ülkelerin bu konuyla ilgili belirlemiş oldukları limitlerle kıyaslandığında (Çizelge 3), örneğin, ABD'nin bitkisel yağları da içeren tüm gıdalarda belirlemiş oldukları 20 µg/kg toplam aflatoksin maksimum limitinin ve ayrıca Fransa'nın bitkisel yağlar için belirlediği AFB₁ için olan 5 µg/kg maksimum limitinin altında kaldığı görülmektedir.

Yapılan literatür taramasında ülkemizde bu konuda yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yurtdışında yapılan çalışmalarda ise Yang vd. Çin'de 2011 yılında rafine mısır özü yağında aflatoksin varlığını araştırdıkları çalışmalarında çalışılan 5 adet mısır özü yağı örneğinin hiçbirinde aflatoksin tespit edememişlerdir. Benzer olarak Karunarathna vd. Sri Lanka'da 2019 yılında farklı bitkisel yağ örneklerinde aflatoksin varlığını araştırdıkları çalışmada; materyal gruplarından biri de rafine mısır özü yağı olarak belirlenmiş ve 3 adet örnek alımı yapılmıştır. Çalışma sonucunda mısır özü yağı örneklerinde aflatoksin tespit edilemediği bildirilmiştir (Karunarathna vd.,

2019). Bu çalışmalarda rafine mısır özü yağında hiç aflatoksin bulunmamış olmasına rağmen, bizim çalışmamızda düşük oranlarda da olsa aflatoksin tespit edilebilmiştir. Yağlı tohumlarda küf gelişimi ve dolayısıyla mikotoksin oluşumu sık görülen bir problemdir. Bu ürünlerde mikotoksin oluşumu bazı durumlarda çok yüksek miktarlarda gözlemlenebilmektedir.

Çalışmamızda rafine ayçiçek yağı ve rafine mısırozü yağı örneklerinin bazılarında aflatoksin varlığı tespit edilmesine rağmen miktarlarının uluslararası kriterlerin çok altında olduğu belirlenmiştir. Ayçiçek ve özellikle de mısır gibi yüksek aflatoksin maruziyetine sahip bu ürünlerden elde edilen yağlardaki aflatoksin miktarının düşük bulunması, yağ prosesinde iyi yapılmış bir rafinasyon işleminin aflatoksin miktarı üzerine olan etkisinden kaynaklandığını düşündürmüştür. Ama aynı zamanda hammaddedeki aflatoksin miktarı da proseslerin başarısını etkilemektedir. Birçok işletme hammadde de mikotoksin analizleri yapmakta proseslerin başlangıcında toksin miktarlarını azaltmak yoluna gitmektedirler.

Tekin (2023) farklı ekstraksiyon metodlarının Antep fıstığı yağı eldesinde aflatoksin üzerine etkilerini araştırdığı çalışmada, rafinasyon işlem basamaklarından degumming, nötralizasyon ve ağartma proseslerinin etkisini de incelemiştir. Çalışmanın sonucunda Antep fıstığında bulunan aflatoksin miktarlarının yağ ekstraksiyonu ve

rafine işlem basamaklarının kombine uygulanmasıyla son üründe aflatoksin miktarının oldukça düşük seviyelere düşürülebileceğini belirtmiştir.

Ancak piyasada tüketime sunulan çalışılan rafine yağ örneklerinde düşük miktarlarda aflatoksin tespit edilmiş olması yağların zaman zaman gıda güvenilirliği açısından risk taşıyor olabileceğini düşündürmektedir. Bu kontamine bitkisel yağların tüketimi günlük toplam aflatoksin alımına önemli ölçüde katkıda bulunabilir ve halk sağlığı için tehlike oluşturabilir. Yağlı tohumlardan yağ ekstraksiyonunun mikotoksinler üzerine ciddi bir etkisi olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir ancak tamamen mikotoksinlerin bertaraf edilemediği de görülmektedir. Dolayısıyla tüketiciler açısından yoğun talep gören bu ürünlerde mikotoksin kontrollerinin başlatılması ve limitlerin belirlenmesi ve hammaddede aflatoksin oluşumunun önüne geçilecek yasal prosedürlerin oluşturulması gıda güvenilirliği açısından önemli olacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Bu çalışmanın danışmanlığı ve finansal desteklerin sağlandığı projenin yürütücülüğü Işıl VAR tarafından yapılmıştır. Çalışmadaki analizlere, istatistiksel değerlendirmelere ve makale yazımına tüm yazarlar katkı sağlamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir. Proje Numarası: FBA-2020-13116. Tedarik ve üretime destek sağlayan Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi ve deneysel çalışmaların bir kısmının yapıldığı Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü'ne teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

- Abdolmaleki, K., Khedri, S., Alizadeh, L., Javanmardi, F., Oliveira, C. A. F., Mousavi Khaneghah, A. (2021). The mycotoxins in edible oils: An overview of prevalence, concentration, toxicity, detection and decontamination techniques. *Trends in Food Science and Technology*, 115: 500–511.
- Al-Ameiri, N. S., Karajeh, M. R., Qaraleh, S. Y. (2015). Molds associated with olive fruits infested with olive fruit fly (*Bactrocera oleae*) and their effects on oil quality. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 8(3): 217–220.
- Banu, N., Muthumary, J. (2010). Aflatoxin B₁ contamination in sunflower oil collected from sunflower oil refinery situated in Karnataka. *Health*, 02(08): 973–987.
- Bordin, K., Sawada, M. M., Rodrigues, C. E. da C., da Fonseca, C. R., Oliveira, C. A. F. (2014). Incidence of Aflatoxins in Oil Seeds and Possible Transfer to Oil: A Review. *Food Engineering Reviews*, 6(1–2): 20–28.
- Boutrif, E. (1998). Prevention of aflatoxin in pistachios. *Food Nutr. Agric.* 21: 32–38.
- Bressac, B., Puisieux, A., Kew, M., Volkmann, M., Bozcall, S., Bella Mura, J., de la Monte, S., Carlson, R., Blum, H., Wands, J., Takahashi, H., von Weizsacker, F., Galun, E., Kar, S., Carr, I., Schroder, C. H., Erken, E., Varinli, S., Rustgi, V. K., Prat, J., Toda, G., Koch, H. K., Huan Liang, X., Tang, Z. you, Shouval, D., Lee, H. S., Vyas, G. N., Sarosi, I., Ozturk, M. (1991). P53 Mutation in Hepatocellular Carcinoma After Aflatoxin Exposure. *The Lancet*, 338(8779): 1356–1359.
- Chen, L., Molla, A. E., Getu, K. M., Ma, A., Wan, C. (2019). Determination of aflatoxins in edible oils from china and ethiopia using immunoaffinity column and HPLC-MS/MS. *Journal of AOAC International*, 102(1): 149–155.
- Clavel, D., Brabet, C. (2013). Mycotoxin contamination of nuts. *Improving the safety and quality of nuts*. Harris, L.J., Ed.; Woodhead Publishing: Oxford, UK, 88–118 s.
- Cserhádi, M., Kriszt, B., Krifaton, C., Szoboszlai, S., Háhn, J., Tóth, S., Nagy, I., Kukolya, J. (2013).

- Mycotoxin-degradation profile of *Rhodococcus* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 166(1): 176–185.
- Daradimos, E., Marcaki, P., Koupparis, M. (2000). Evaluation and validation of two fluorometric HPLC methods for the determination of aflatoxin B₁ in olive oil. *Food Additives and Contaminants*, 17(1): 65–73.
- Deng, H., Su, X., Wang, H. (2018). Simultaneous determination of aflatoxin b1, bisphenol a, and 4-nonylphenol in peanut oils by liquid-liquid extraction combined with solid-phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Analytical Methods*, 11(5): 1303–1311.
- Doster, M. A., Cotty, P. J., Michailides, T. J. (2009). Description of a distinctive aflatoxin-producing strain of *Aspergillus nomius* that produces submerged sclerotia. *Mycopathologia*, 168(4): 193–201.
- Elzupir, A. O., Suliman, M. A., Ibrahim, I. A., Fadul, M. H., Elhussein, A. M. (2010). Aflatoxins levels in vegetable oils in Khartoum State, Sudan. *Mycotoxin Research*, 26(2): 69–73.
- European Commission (2006). Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 - sampling methods for mycotoxins in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 70(401): 12–34.
- Fedderm, V., Dors, G. C., Tavernari, F. D. C., Mazzuco, H., Cunha, A., Krabbe, E. L., Scheuermann, G. N. (2013). Aflatoxins importance on animal nutrition. *Aflatoxins-Recent Advances and Future Prospects*, 171-195.
- Gianessi, L. (2009). The Benefits of Insecticide Use: Almonds. *CropLife*, Crop Protection Research Institute, USA., 9-12 s.
- Gorrepati, K., Balasubramanian, S., Chandra, P. (2015). Plant based butters. *Journal of Food Science and Technology*, 52(7): 3965–3976.
- Gunstone F.D., 2002. Production and trade of vegetable oils. *Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses*. Blackwell Publishing, UK. (1st Edition), 1-17 s.
- Gupta, R. C., Lasher, M. A., Miller Mukherjee, I. R., Srivastava, A., Lall, R. (2022). Aflatoxins, ochratoxins, and citrinin. In *Reproductive and Developmental Toxicology*. Academic press, USA. 983-1002 s.
- Gürhayta, O. F., Çağındı, Ö. (2016). Kurutulmuş Meyvelerde Aflatoksin ve Okratoksin A Varlığının ve Sağlık Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 12(2): 327–338.
- Heperkan, D., Aran, N., Ayfer, M. (1994). Mycoflora and aflatoxin contamination in shelled pistachio nuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 66(3): 273–278.
- Idris, Y. M. A., Mariod, A. A., Elnour, I. A., Mohamed, A. A. (2010). Determination of aflatoxin levels in Sudanese edible oils. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8–9): 2539– 2541.
- Karunaratna, N. B., Fernando, C. J., Munasinghe, D. M. S., Fernando, R. (2019). Occurrence of aflatoxins in edible vegetable oils in Sri Lanka. *Food Control*, 101 (February), 97–103.
- Lavkor, I., Var I., Öztemiz, S., Arıoğlu, H. H. (2017). Yerfıstığı Alanlarında Aflatoksin Oluşumunun Azaltılmasına Yönelik Apatojenik *Aspergillus flavus*'un Biyolojik Mücadelede Kullanım Olanaklarının Araştırılması. Tübitak 3001 Proje Sonuç Raporu, Adana, Türkiye, 139 s.
- Mahoney, N. E., Cheng, L. W., Palumbo, J. D. (2021). Fate of aflatoxins during almond oil processing. *Journal of Food Protection*, 84(1): 106–112.
- Méndez-Albores, A., Veles-Medina, J., Urbina-Álvarez, E., Martínez-Bustos, F., Moreno-Martínez, E. (2009). Effect of citric acid on aflatoxin degradation and on functional and textural properties of extruded sorghum. *Animal Feed Science and Technology*, 150(3–4): 316–329.
- Öksüztepe, G., Erkan, S. (2016). Mikotoksinler ve Halk Sağlığı Açısından Önemi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5(2): 190–195.
- Özkaya, Ş., Temiz, A. (2003). Aflatoksinler : Kimyasal Yapıları, Toksisiteleri Giriş Aflatoksinlerin Kimyasal Yapısı. *Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi*, 01(01): 1–21.

- Pour, R. S., Rasti, M., Zighamian, H., Daraei Garmakhani, A. (2010). Occurrence of aflatoxins in pistachio nuts in esfahan province of Iran. *Journal of Food Safety*, 30(2): 330–340.
- Qi, N., Yu, H., Yang, C., Gong, X., Liu, Y., Zhu, Y. (2019). Aflatoxin B₁ in peanut oil from Western Guangdong, China, during 2016–2017. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, 12(1): 45–51.
- Rustom, I. Y. S. (1997). Aflatoxin in food and feed: Occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*, 59(1): 57–67.
- Saalia, F. K., Phillips, R. D. (2011). Reduction of aflatoxins in peanut meal by extrusion cooking in the presence of nucleophiles. *LWT - Food Science and Technology*, 44(6): 1511–1516.
- Samarajeewa, U., Gamage, T. V., Arseculeratne, S. N. (1983). Aflatoxin contamination of coconut oil from small scale mills: toxin levels and their relation to free fatty acid content. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 11(2): 203–210.
- Schollenberger, M., Müller, H. M., Rühle, M., Drochner, W. (2008). Natural occurrence of 16 Fusarium toxins in edible oil marketed in Germany. *Food Control*, 19(5): 475–482.
- Sinnhuber, R. O., Hendricks, J. D., Wales, J. H., Putnam, G. B. (1977). Neoplasms in rainbow trout, a sensitive animal model for environmental carcinogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 298(1): 389–408.
- Şengül, Ü., Şengül, B., Apaydın, E., Taşçi, E., İlgün, R., 2018. Aflatoxin contamination in hazelnut oil obtained from hazelnuts containing high levels of aflatoxin. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 24(4): 523–530.
- Tekin, A. (2023). Bazı Rafinasyon İşlem Basamakları ile Yağ Ekstraksiyon Yöntemlerinin Antep Fıstığında Toplam Aflatoksin ve Zeytinde Okratoksin A Düzeylerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Adana, Türkiye, 102 s.
- Var, I. (1987). Çerezlik Yerfıstıklarında Aflatoksin Saptanması Üzerine Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ürünleri Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 37 s.
- Var, I., Kabak, B. (2004). Removal of aflatoxins by viable and heat-killed lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 55(5): 106–109.
- Var, I., Uçkun, O. (2021). Extraction Methods' Effects on Aflatoxin Concentration during Sunflower Oil Processing: First Report. *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, 3(5): 136–143.
- Vijaya-Kumar, V. (2018). Aflatoxins: Properties, Toxicity and Detoxification. *Nutri Food Sci Int J.*, 6(5): 555696.
- Yang, Li Xin, Liu, Y. P., Miao, H., Dong, B., Yang, N. J., Chang, F. Q., Yang, Li Xue, Sun, J.B. (2011). Determination of aflatoxins in edible oil from markets in Hebei Province of China by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, 4(4): 244–247.
- Zijden, A. S. M., Koelensmid, W. B., Boldingh, J., Barrett, C. B., Ord, W. O., Philp, J. (1962). *Aspergillus flavus* and turkey X disease: Isolation of crystalline form of a toxin responsible for turkey X disease. *Nat. Int. J. Sci.*, 196: 1048–1050.



VEGAN BESLENMEDE ALTERNATİF SÜT ÜRÜNLERİ: TEKNOLOJİK VE BESLENME YÖNÜ

Canan Altınay*, Tuba Şanlı

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

Geliş /Received 21.09.2023; Kabul /Accepted: 21.11.2023; Online baskı /Published online: 02.12.2023

Altınay, C., Şanlı, T. (2023). Vegan beslenmede alternatif süt ürünleri: Teknolojik ve beslenme yönü. GIDA (2023) 48 (6) 1318-1334 doi: 10.15237/ gida.GD23114

Altınay, C., Şanlı, T. (2023). Some alternative dairy products in vegan nutrition: Technological and nutritional aspect. GIDA (2023) 48 (6) 1318-1334 doi: 10.15237/ gida.GD23114

ÖZ

Sütün besleyici birçok faydasına rağmen son yıllarda bazı tüketiciler tarafından süt alternatifi ürünlere eğilim artmıştır. Etik, çevresel nedenler, hayvan refahı ve sağlık sorunları sebebiyle hayvansal gıda tüketmeyen kitle tarafından hayvan sütüne alternatif olan bitkisel bazlı ürünler tüketilmektedir. Bitki bazlı alternatif ürünler diyet lifleri, mineraller, vitaminler ve antioksidan maddeler açısından sağlık üzerine olumlu katkı sağlamakla birlikte ticari bitki bazlı alternatif ürünler bazı besin bileşenleri açısından yetersizdir. Ayrıca söz konusu ürünler renk ve kıvam özellikleri yönünden inek sütüne benzemesine rağmen tat ve aroma özellikleri açısından yetersizdir. Bitki bazlı alternatifler katı partiküller, proteinler, yağ kürecikleri ve nişasta granüllerini içeren kolloidal sistemlerdir. Üretim basamakları temelde ön işlemler, öğütme, süzme, katkı maddeleri ilavesi, homojenizasyon ve pastörizasyon aşamalarını kapsamaktadır. Son ürünün besin bileşimi ve koloidal stabilitesi büyük ölçüde hammadde bileşenlerine, işleme koşullarına ve depolamaya bağlı olarak değişmektedir. Bu derlemede, bitki bazlı alternatif ürünlerin bileşim özellikleri ve üretim teknolojisi hakkında önceki araştırmalar incelenmiş ve bulguları özetlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Vegan beslenme, bitki bazlı süt alternatifleri, bitkisel proteinler, sağlık ve beslenme

SOME ALTERNATIVE DAIRY PRODUCTS IN VEGAN NUTRITION: TECHNOLOGICAL AND NUTRITIONAL ASPECT

ABSTRACT

Although cow's milk is known to provide numerous nutritional benefits, there has been a recent upsurge in the popularity of plant-based milk alternatives. Plant-based milk alternatives are gaining popularity among those who avoid animal products for ethical, environmental, animal welfare, or health reasons. While plant-based alternatives offer a range of health advantages, such as dietary fibers, minerals, vitamins, and antioxidant substances, they may not be as nutritionally complete as cow's milk. Plant-based alternatives are complex systems that contain solid particles, proteins, fat globules, and starch granules. The production process involves pre-treatment, grinding, filtration, addition of additives, homogenization, and pasteurization, and the nutritional composition and stability of the final product are influenced by the raw materials, processing conditions, and storage. This review summarizes the findings of previous research on the nutritional composition and production processes of plant-based dairy alternatives.

Keywords: Vegan diet, plant-based milk substitute, plant proteins, health and nutrition

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉: cauysal@ankara.edu.tr

☎: (+90) 312 596 13 52

☎: (+90) 312 318 22 19

Canan Altınay, ORCID no: 0000-0001-6369-7448

Tuba Şanlı; ORCID no: 0000-0001-6747-2617

GİRİŞ

Beslenme, büyüme, gelişme ve sağlıklı yaşam için bireyin tükettiği besinlerin vücut tarafından işlenerek kullanılmasıdır. Besinler vücudumuz için gerekli bileşenleri sağlayan makro ve mikro besin öğelerinden oluşmaktadır (Tamer ve Nalbant, 2021). Doğru beslenme sadece yeterli kaloriyi tktmek değil, aynı zamanda bireyin ihtiyaçı olan makro (karbonhidratlar, proteinler ve yağlar) ve mikro (vitaminler ve mineraller) besin öğelerinin her birinin yeterli ve dengeli miktarlarda alınmasıdır (Kris-Etherton vd., 2021). Bir besinin günlük olarak ihtiyaçı duyulan besin maddelerini yeterli düzeyde karşılayabilmesi için, bu maddeleri nicelik ve nitelik yönünden dengeli düzeyde bulundurması gerekir. Dengeli bir beslenme, sağlıklı vücut ağırlığını korumak, kronik hastalıkları önlemek ve optimal fiziksel ve zihinsel gelişim için gereklidir (Vorster, 2009; Firth vd., 2020).

Besinler içeriklerine göre; tahıllar, sebzeler, meyveler, et ve baklagiller, süt ve ürünleri olmak üzere 5 ana grupta toplanmaktadır (Applegate, 2011; Değerli ve El, 2019). Önemli miktarda karbonhidrat içeren tahılların vücudun temel enerji kaynağı olmakla beraber sinir ve sindirim sistemi sağlığında ve hastalıklara karşı direnç oluşumunda önemli görevleri vardır (Baysal, 2002). Bileşimlerinin önemli kısmı sudan oluşan meyve ve sebze grubu günlük enerji ve protein ihtiyacına çok az katkıda bulunmakla birlikte mineraller ve vitaminler açısından zengindirler. Beta karoten, C, E, B grubu vitaminler, folat, demir, magnezyum, posa ve güçlü antioksidan bileşenler içerirler. Hücre yenilenmesi, doku onarımı, deri ve göz sağlığı, diş ve diş eti sağlığı, hastalıklara karşı direncin oluşumu ve posa içeriği sayesinde de barsak faaliyetlerine yardımcı olma özelliğine sahiptirler (Stare ve McWilliams, 1973; Yücecan, 2012). Et ve baklagil grubunda et, tavuk, balık, yumurta, kuru fasulye, nohut, mercimek ve ceviz, fındık, fıstık, badem gibi yağlı tohumlar yer alır. Et rnleri biyolojik değerı yüksek, iyi kalitede protein içeren besin grubudur. Bununla birlikte yağ, B grubu vitaminler (tiamin, riboflavin, niasin) ve mineral maddeler de (demir, çinko, fosfor) içermektedirler (Anonymous, 2015; Stare ve McWilliams, 1973). Bitkilerin olgunlaşmış

tohumlarını içeren baklagiller ise bitkisel protein kaynakları olmakla birlikte kompleks karbonhidratlar ve posa yönünden zengindirler (Yücecan, 2012). Süt iyi kalitede hayvansal protein içermesine ek olarak kalsiyum ve fosfor mineralleri için de en iyi kaynaktır. Buna karşın C vitamini ve demir yönünden fakir besinler arasındadır (Yücecan, 2012; Vorster, 2009).

Çeşitli besin gruplarının doğru oranlarda tktilmesinin önemini vurgulayan dengeli beslenme kavramı ilk kez 1941 yılında Amerika'da düzenlenen Ulusal Beslenme Konferansında "besin piramidi" ile ortaya konulmuştur. 1943 yılında Ulusal Bilimler Akademisi tarafından Önerilen Diyet Alımı (RDA- Recommended Dietary Allowances) referans değerlerinin geliştirilmesi ise beslenme kılavuzlarının ve konuyla ilgili kamu politikalarının oluşturulmasına temel oluşturmuştur (Casagrande ve Gary-Webb, 2010; Mozaffarian vd., 2018). 1950 ve 1960'lı yıllarda, beslenme ile kalp hastalığı ve kanser gibi kronik hastalıklar arasındaki ilişkileri ortaya koyan araştırmalar hız kazanmış, 1970 ve 1980'li yıllarda besin piramidi gelişerek beslenmede sağlık ve zindeliğe odaklanan alternatif beslenme şekilleri ortaya çıkmıştır (Mozaffarian vd., 2018).

Kişinin diyetinden et, süt ürünleri ve yumurta dahil olmak üzere hayvansal ürünleri çıkardığı vegan beslenme şekli, önceleri etik veya çevresel nedenlerle tercih edilmekle beraber son yıllarda hayvan refahı, çevre sorunları ve sağlık yararları nedenleriyle toplumda önemli oranda benimsenmektedir (Escobar vd., 2022; Alae-Carew vd., 2022; Craig vd., 2022; Harper vd., 2022; Autio vd., 2023).

Vegan beslenme şeklinde bireyler her türlü hayvansal gıdayı (kırmızı et, kümes hayvanları, balık, süt ve ürünleri, yumurta vb.) tktmekten kaçırmazlar (Erk vd., 2019; Gökçen vd., 2019). Vejetaryen beslenme türleri ise bireylerin tükettiği hayvansal ürün gruplarına göre farklı şekillerde tanımlanır. Lakto vejetaryenler süt ürünleri tkterek, ovo-vejetaryenler ise yumurta tkterek veganlardan ayrılırken, lakto-ovo vejetaryenler ise et ve balık tktmezler. Bununla birlikte, lakto-ovo vejetaryenlerin beslenmesinde süt ürünleri ve

yumurta tüketiminde herhangi bir kısıtlama bulunmaz (Hess, 2022; Sakkas vd., 2020; Erk vd., 2019).

Sütün bilinen besleyici birçok faydasına rağmen son yıllarda bazı tüketiciler tarafından hayvan sütü ve ürünlerine alternatif olan ürünlere eğilim artmıştır (Craig vd., 2022; Reyes-Jurado vd., 2023). Bunun sebeplerinden birisi hayvancılığın, sürdürülebilir üretim yöntemleri yönünden yetersiz olması sebebiyle Dünya çapında sera gazı emisyonuna büyük oranda katkı sağlayarak insan sağlığı ve çevre açısından meydana getirdiği zarardır (Alae-Carew vd., 2022; Boeck vd., 2021; Paul vd., 2020). Hayvan sütü tüketimine alternatif ürünleri tercih eden tüketicilerin bir kısmı da dünya nüfusunun yaklaşık %65'ine karşılık gelen ve laktaz (β -galaktozidaz) enziminin eksikliğine bağlı olarak laktozu sindiremeyen laktoz intolerans bireylerdir (Aydar vd., 2020; Prasad ve Shivay, 2020; Silva vd., 2020; Bocker ve Silva, 2022; Dewiasty vd., 2021; Catanzaro vd., 2021). Süt proteinlerinin bağışıklık sistemi tarafından yabancı madde olarak algılanıp, vücudun reaksiyon gösterdiği süt proteini alerjisi olan bireylerde ise durum daha ciddidir (Prasad ve Shivay, 2020; Silva vd., 2020). Sayısız hayvanın çiftliklerde ve kesimhanelerde hapsedilerek katledildiğini ve hayvan haklarının ihlal edildiğini savunarak hayvan sütü tüketmeyen bir grup tüketici de bulunmaktadır (Reyes-Jurado vd., 2023; Grossman vd., 2021; Silva vd., 2020). Çevre ve hayvan refahı ile ilgili endişeler, laktoz intoleransı ve süt protein alerjisi gibi sağlık sebepleri son yıllarda bitki bazlı alternatif süt ürünlerine olan eğilimi arttırmıştır (Craig vd., 2022).

Bitki bazlı alternatif süt ürünleri pazarının 2021-2028 yılları arasında %12.5'lik yıllık bileşik büyüme oranı ile 20.5 milyar dolara ulaşacağı öngörülmektedir (Pointke vd., 2022). Bitki bazlı fermente alternatif süt ürünleri pazarında %73'lük pay ile Avrupa pazar lideriyken onu Asya-Pasifik, Kuzey Amerika, Latin Amerika, Orta Doğu ve Afrika izlemektedir (Boukid vd., 2023; Paul vd., 2020).

Tüketilen süt çeşidi toplumların kültürlerine göre değişiklik göstermekle birlikte süt teknolojisinde inek sütü temel süt kaynağı olarak kabul edilir. İnekten başka bir hayvan söz konusu ise alındığı hayvanın tür ismi ile anılmaktadır. Sütün bileşimi türlere göre farklılık göstermektedir. Başta içme sütü olmak üzere birçok ürünün hammaddesi olan inek sütü, süt ve ürünlerinin teknolojisi için de önem taşımaktadır (Metin, 2008).

Geleneksel inek sütünün bitki bazlı alternatiflerini ifade etmek için "süt" teriminin kullanımı hala tartışmalıdır (Reyes-Jurado vd., 2023; Paul vd., 2020; FRSC, 2019; Gantt, 2020; Musa-Veloso ve Juana, 2020) ve Hindistan, Kanada vb. ülkelerde kullanımı yasal olarak yasaklanmıştır (FSSAI, 2021; McClements vd., 2019). Uluslararası Süt Ürünleri Federasyonu (International Dairy Federation, IDF), Süt Ürünleri Terimleri Kodeks Genel Standardını (The Codex General Standard for Use of Dairy Terms, GSUDT) temel alarak 2020 yılında yayınladığı görüş yazısında süt ve yaygın olarak kullanılan süt ürünleri terimlerinin (süt, krema, peynir, tereyağı, yoğurt vb.) bitki bazlı süt alternatifi ve ürünlerinde kullanılmasının tüketiciler tarafından yanıltıcı olduğunu bildirmiştir (IDF, 2020).

Süt, memeli canlıların doğumdan hemen sonra meme bezlerinden salgılanan, bileşiminde yeni doğan yavrunun kendini besleyecek duruma gelinceye kadar almak zorunda olduğu bütün besin maddelerini yeterli ve dengeli bir şekilde bulduran, kendine özgü tat, koku ve kıvamı olan porselen beyazı renkte sıvı gıda maddesidir (Anonymous, 2017; IDF, 2020). Bu tanımdan da anlaşıldığı gibi bitki bazlı alternatiflerin, süt olarak ifade edilemeyeceği açıktır. Ancak Amerika Birleşik Devletinde görülen bir davada Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration-FDA) "soya sütü" olarak etiketlenen bir ürünün makul bir tüketiciyi yanıltıcı olmadığına ve kullanılabilirliğine karar vermiştir (Gantt, 2020).

Bitki bazlı süt alternatifi ürünlerindeki bitki kaynaklı diyet lifleri, mineraller, vitaminler ve antioksidan maddeler sağlık üzerine olumlu katkı sağlayan bileşenler olması sebebiyle 2012'den itibaren (Reyes-Jurado vd., 2023) fonksiyonel gıda

bileşeni veya nutrasötik olarak kabul edilmektedirler (Paul vd., 2020; Sethi vd., 2016). Bununla birlikte çoğu ticari bitki bazlı süt alternatifleri bazı besin bileşenleri açısından yetersizdir ve besin değeri açısından hayvan sütü ile karşılaştırılmaz (Munekata vd., 2020).

BİTKİ BAZLI SÜT ALTERNATİFLERİ: BİLEŞİM ÖZELLİKLERİ VE BESLEYİCİ DEğERLERİ

Bitki bazlı süt alternatifleri kullanılan hammadde bitkilere göre; yulaf, pirinç ve mısır gibi tahıl bazlı olanlar, soya, fıstık, acı bakla ve brlce gibi baklagil bazlı olanlar, badem, hindistan cevizi, fındık, ceviz gibi yemiş bazlı olanlar, susam, keten tohumu, kenevir ve ay çekirdeği gibi tohum bazlı olanlar ve kinoa, teff ve amaranth gibi tahıl benzeri olanlar şeklinde sınıflandırılabilir (Reyes-Jurado vd., 2023; Silva vd., 2020; Munekata vd., 2020; Tangyu vd., 2019; Sethi vd., 2016).

Genel olarak, bitki bazlı içeceklerin tüketiciler tarafından duyuşal kabul edilebilirliği düşüktür. Renk ve kıvam özellikleri yönünden inek sütüne benzemekle birlikte bitki materyallerindeki belirli aldehitler, alkoller ve ketonlardan dolayı tat özelliği yetersiz kalabilmektedir (Tangyu vd., 2023; Nawaz vd., 2022; McClements vd., 2019). Özellikle baklagil bazlı olanlar kirecimsi, boyamsı bir tada ve fasulye aroması (beany) olarak tanımlanan aromaya sahiptirler (Oduro vd., 2021; Makinen vd., 2016).

Ayrıca, besleyici özelliği de inek sütünden daha düşük olabilmektedir (Munekata vd., 2020). Bu nedenle vegan beslenen bireylerde temel besin öğelerinin alım düzeylerinin takip edilmesi, eğer eksiklik yaşanıyorsa alternatif gıdalarla tamamlanması gerekmektedir (Escobar vd., 2022). Vegan beslenen bireylerde protein, yağ asitleri, D vitamini ve B12 vitaminleri, kalsiyum, demir, çinko ve iyot eksiklikleri görülebilmektedir (Escobar vd., 2022; Munekata vd., 2020; Gallego-Narbn vd., 2019; Gökçen vd., 2019).

2017 yılında yapılan bir çalışmada piyasadan temin edilen 17 farklı bitki bazlı süt alternatifi ürün fizikokimyasal ve glisemik özellikleri açısından incelenmiştir. Örneklerin yarısının protein

seviyesinin düşük olduğu veya hiç protein içermediği bildirilmiştir. Çoğu rneğin düşük besleyici niteliğe sahip olduğu ve bu sebeple tüketicilerin diyetlerinde inek sütüne alternatif olarak bitki bazlı süt alternatifi kullanımında bilinçli davranmaları gerektiği vurgulanmıştır (Jeske vd., 2017).

Barbunya sütü ile yapılan bir çalışmada in vitro sindirim sonrasında yağ asidi profilini çoğunlukla α -linoleik asit ve palmitik asitin oluşturduğu, ticari bitki bazlı bazı süt alternatiflerinden daha yüksek düzeyde palmitik, stearik, α -linoleik (ω 3) ve γ -linolenik asit (ω 6) içerdiği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitesinde artış olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, ticari bitki bazlı diğer süt alternatifleri ile karşılaştırıldığında barbunya sütü örneklerinde algılanan fasulye tat-kokusu nedeniyle tüketicilerde beğeni oranı daha düşük olmuştur (Aydar vd., 2023).

Bitki bazlı süt alternatiflerinde kullanılan hammaddeler (soya, bakla, susam, keten vb.) vitamin ve mineral gibi mikro besin elementleri, antioksidanlar gibi biyoaktif bileşenler ve diyet liflerinden zengin kaynaklardır (Sethi vd., 2016; Tangyu vd., 2019). Bununla birlikte, bitki bazlı süt alternatiflerinin besin içerikleri ve enerji değerleri kullanılan hammadde ve ürüne işlenmesi sırasındaki üretim basamakları (n işlemler, öğütme, süzme ve fermentasyon) son üründeki bu bileşenleri önemli ölçüde etkiler (Tong vd., 2022). İnek sütü ve bitki bazlı bazı süt alternatiflerinin besin bileşenleri izelge 1’de verilmiştir. Nohut ve kinoa süt alternatifleri inek sütünden daha yüksek kalori değerine sahip iken diğer süt alternatiflerinin kalori değeri inek sütünden daha düşüktür. Soya bazlı sütün protein miktarı inek sütüne benzer olmasına karşın biyolojik değeri ve aminoasit kalitesi inek sütü ile aynı düzeyde değildir (Tangyu vd., 2019; McClements vd., 2019). Bununla birlikte, pirinç, yulaf, hindistancevizi gibi diğer bitki bazlı süt alternatiflerinin protein içerikleri inek sütünden oldukça düşük seviyede ve yetersizdir (Jeske vd., 2017). Ayrıca bu proteinlerin sindirilebilirlik özellikleri de zayıftır ve esansiyel amino asit (L-Lysine, L-methionine, L-cysteine ve L-tryptophan) içerikleri istenilen düzeyde değildir

(Musa-Veloso ve Juana, 2020; Boeck vd., 2021; Sethi vd., 2016). Yulaf sahip olduğu yüksek lif içeriği ile tokluk hissinde artışa, kan şekeri ve

kolesterolde ise düşüşe yardımcı olmaktadır (Sethi vd., 2016; Röös vd., 2018).

Çizelge 1. İnek sütü ve bazı bitki bazlı süt alternatiflerinin temel bileşim özellikleri

	Protein (%)	Yağ (%)	Karbonhidrat (%)	Lif (%)	Kalsiyum (mg)	Enerji (kcal)	Referans
İnek Sütü	3.27	3.2	4.63	0	123	61	FDC, 2023
Badem	0.66	1.56	0.67	<0.75	158	19	FDC, 2023
Pirinç	0.28	0.97	9.17	0.3	118	47	FDC, 2023
Yulaf	0.8	2.75	5.1	<0.75	148	48	FDC, 2023
Fındık	0.65	4.02	NA	0.4	NA	NA	Bernat vd., 2015
Nohut	1.51	2.2	4	NA	12.8	199	Sharma vd., 2020
Kinoa	0.5	1.2	3.5	0.6	NA	121	Silva vd., 2020
H.cevizi	0.21	2.08	2.92	0	188	31	FDC, 2023
Susam	0.6	2.4	6.7	0.2	NA	51	Makinen vd., 2016
Soya	3.55	2.12	1.29	<0.45	101	38	FDC, 2023

Soya fasulyesi, kardiyovasküler hastalıklar, prostat kanseri ve osteoporozun önlenmesi üzerinde olumlu etkileri olduğu bildirilen izoflavon içeriği nedeniyle sağlıklı bir gıda olarak görülmektedir. Bununla birlikte, izoflavonların endokrin sistemde karmaşık bir etkileşim sergilediği ve erken çocukluk döneminde soya bazlı bir beslenmenin uzun vadeli etkisinin henüz bilinmediği ifade edilmektedir (Röös vd., 2018). İlâveten izoflovanlar gibi bitki bazlı ürünlerde bulunan anti besin öğelerinden inositol fosfatlar (fitalatlar) ve saponinler iki değerli katyonları (kalsiyum, magnezyum, demir ve çinko) bağlayarak çözünmeyen kompleksler oluşturmakta ve biyoyararlılıklarını azaltmaktadırlar (Pointke vd., 2022; Röös vd., 2018). Benzer şekilde, rafinoz, stakioz ve verbaskoz gibi bitki bazlı oligosakkaritler, bağırsak bakterileri tarafından fermente edilerek bireyde, şişkinlik ve ishal gibi rahatsızlıklara neden olmaktadır (Onyesom vd., 2005). Ayrıca, bitki bazlı süt alternatiflerindeki tripsin ve diğer proteaz inhibitörleri sindirim enzimlerini etkisiz hale getirerek protein ve nişasta sindirimini engellemek suretiyle bağırsak sağlığını bozabilmektedirler (Popova ve Mihaylova, 2019).

2021 yılında yapılan bir çalışmada bitki bazlı süt alternatiflerinin böbrek taşı ve kronik böbrek hastalığı ile olan ilişkisi incelenmiştir. Böbrek taşı

oluşumu riskinin yulaf, pirinç ve soya sütü tüketen bireylerin inek sütü tüketen bireyler ile benzer olduğu fakat badem ve kaju sütü tüketenlerde böbrek taşı oluşma riskinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Kronik böbrek hastaları için ise düşük okzalit, K ve Na içeriğinden dolayı hindistancevizi sütünün en uygun alternatif olduğunu bildirmişlerdir (Borin vd., 2021).

Bilinen en eski bitki bazlı süt alternatifi hammaddesi olan Soya, içerdiği β -konglisinin ve glisin aminoasitlerinden dolayı alerjik reaksiyonlara sebebiyet vermektedir (Nawaz vd., 2022). Soya gibi fındık, fıstık ve badem hammaddeleri de spesifik bireyler için alerjen grubundadır. Alerjen bireylerde bu proteinler immün sistem tarafından yabancı madde olarak algılanıp deride, solunum ve sindirim sisteminde hipertansif reaksiyonlara sebebiyet vermektedir (Nawaz vd., 2022; Romero vd., 2023).

Romero vd. (2023) yaptıkları çalışmada yer fıstığı sütünde ozonlama tekniğinin aflatoksinlerin bozunma kinetikleri ve lipit oksidasyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. 1.0 L/dk gaz akışı ve 47 mg/L'lik bir konsantrasyonda uygulanan ozonlama işleminin AFB1 (aflatoksin B1) ve AFG1'i (aflatoksin G1) 30 dakika içinde parçaladığı, bununla birlikte AFB2 (aflatoksin B2) ve AFG2'nin (aflatoksin G2) 210 dakikalık

uygulama sonrasında bile etkilenmediği gözlenmiştir. İlaveten, yer fıstığından kaynaklanan alerjenlerin 120 dakikalık ozonlamanın ardından %77.4 düzeyine düşürüldüğü tespit edilirken, ozonlama işleminin düşük sürelerde uygulansa bile istenmeyen seviyelerde lipit oksidasyonuna neden olduğu bulunmuştur.

İnek sütünün diş sağlığı açısından demineralizasyonu engelleyici ve remineralizasyonu teşvik edici özelliklerine (Sumner ve Burbridge, 2020) karşın bitki bazlı süt alternatiflerinin organoleptik özelliklerini iyileştirmek amacıyla ilave edilen şekerin (sukroz ve/ya glukoz) (Shkemi and Huppertz, 2023) ve içerdiği anti besin öğelerinin (Shen vd., 2019) ağız ve diş sağlığını olumsuz etkileyebileceği bildirilmektedir. Bitki bazlı süt alternatiflerinde bulunan ilave şeker bakteriler tarafından fermente edilerek ortamın pH değerini düşürmekle birlikte diş yüzeyinde biyofilm oluşumuna sebep olabilmektedir (Aydar vd., 2020; Huang vd., 2019). Ayrıca bitki bazlı süt alternatiflerinde kalsiyum oranının düşük olması sebebiyle kalsiyum ilavesi yapılmakta fakat anti besin öğeleri sebebiyle biyoyararlılığı azalabilmektedir. Örneğin soya sütünde bulunan fitik asit, kalsiyum gibi mineral iyonlarını bağlayarak biyoyararlılığını azaltabilmektedir (Shkemi ve Huppertz, 2023; Shen vd., 2019). Ayrıca son üründe bulunan söz konusu fitohormonların sağlık üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceği ve bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerektiği bildirilmektedir (Popova ve Mihaylova, 2019; Patisaul ve Jefferson, 2010).

Huang ve arkadaşları piyasada satışa sunulan hindistan cevizi, kaju, keten tohumu, macadamia, ceviz, badem ve inek sütünün in vitro koşullarda bakteriyel *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) biyofilm oluşumu, asit üretimini destekleme özellikleri ve diş minesinde ve dentininde demineralizasyona neden olma potansiyelini değerlendirmişlerdir. Hem in vitro *S. mutans* biyofilm modelinden hem de *ex vivo* diş çürük modelinden elde edilen sonuçlara göre; badem, macadamia, kaju ve hindistancevizi ürünlerinin bakteriyel biyofilm oluşumuna, demineralizasyona ve diş çürüğü lezyonlarına neden olma potansiyeli daha yüksek

iken keten tohumu sütünün ise en az demineralizasyon potansiyeline sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak diş hekimlerinin hastalara beslenme ve önleyici bakım stratejileri konusunda danışmanlık yaparken bu bilgileri de dikkate alması gerektiğini belirtmişlerdir. (Huang vd., 2019).

2019 yılında yapılan bir çalışmada diş minesindeki mineral içeriğine inek ve soya sütü tüketiminin etkisi incelenmiştir. Deneye katılan 8 gönüllü 15 gün boyunca 200 ml inek sütü veya soya sütü tüketmişlerdir. Sonuç olarak, biyolojik olarak kullanılabilir mineral düzeyi soya sütünde daha düşük olduğu için demineralizasyona sebep olurken inek sütünün remineralizasyonu teşvik ettiğini bildirmişlerdir (Shen vd., 2019).

BİTKİ BAZLI SÜT ALTERNATİFLERİ: TEKNOLOJİK YÖNLERİ

Bitki bazlı süt alternatifi ürünlerin üretiminde son ürünün besleyici ve duyuşsal niteliklerini geliştirmek amacıyla kullanılacak hammaddeye suda/alkalide bekletme, kabuk soyma, kavurma veya çimlendirme gibi ön işlemler uygulanabilir. Ön işlemlerden sonra kullanılacak bitki materyali sulu ortamda veya kuru olarak öğütülür ve ardından kaba partikülleri ayrılarak süzülür (Reyes-Jurado vd., 2023; Silva vd., 2020; Gobbi vd., 2019; Sethi vd., 2016). Ekstraksiyon aşaması, son ürünün bileşimi için oldukça önemlidir. Sıcaklık uygulamaları, enzim kullanımı veya ortamın pH değerinin değiştirilmesi ile verim artışı sağlanabilir (Jurado, 2023; Bocker ve Silva, 2022; Makinen vd., 2016). Bikarbonat veya NaOH ilavesi ile bazik bir pH değerinde çalışılarak proteinlerin ekstraksiyon kapasitesi artırılabilir fakat bu işlem sonrasında bir nötralizasyon işlemi gereklidir (Nawaz vd., 2022; McHugh, 2018; Yadav vd., 2017).

Sutedja vd. (2022) yaptıkları çalışmada bir fasulye türünden (*Canavalia ensiformis* (L) DC) kaynatma, ıslatma, soyma ve yeniden ıslatma işlemleriyle elde ettikleri içecek örneklerini biyoaktif bileşenler ve antioksidan aktivite yönünden analiz etmişlerdir. Soyma aşamasından önce ıslatma işlemi uygulanan örneklerin fonksiyonel özelliklerinin, özellikle flavonoid içeriklerinin önemli düzeyde

etkilendiği ve en yüksek flavonoid içeriğinin fasulyelerin dış kabuğunun soyulmadan önce ıslatıldığı örneklerde tespit edildiği görülmüştür. İlaveten, elektron mikroskobu ile yapılan inceleme sonuçlarına göre, hammaddenin kaynatılması sırasında ısı işlemiyle hücre matrisinde yer alan glikozit bağlarının fiziksel olarak etkilendiği ve bağlı bulunduğu tahmin edilen fenoliklerin serbest kaldığı belirlenmiştir.

Soya sütü ile yapılan bir çalışmada sıcak ve soğuk öğütme ile ıslatma süresi ve sıcaklığının soya sütündeki anti besin öğelerinin azaltılması üzerine etkileri araştırılmıştır. Kaliteli soya ürünleri üretmek ve anti besin öğelerini azaltmak için 60°C'de 6 saat bekletme, sıcak öğütme ve 80°C'de 10 dakika haşlama işlemlerinin en iyi uygulama olduğu sonucuna varılmıştır. Sıcak öğütme uygulamasının (100°C), üreaz aktivitesini %100, fitat ve tripsin inhibitörünü %85'ten fazla azalttığı ve protein çözünürlüğünü yeterli oranda arttırdığı bulunmuştur (Nowshin vd., 2018).

Tahıl, tahıl benzeri ve baklagil hammaddeleri büyük miktarlarda nişasta içerirler ve 55-65°C üzerinde uygulanan ısı işlemi sonucunda jelleşerek viskoz bir macun oluştururlar (Cui vd., 2023; Kaur vd., 2022; Makinen vd., 2016). Son ürünün stabilitesini etkileyen bu durum alfa-amilaz veya enzim ekstraktı kullanılarak polisakkaritlerin hidrolize edilmesi ile önlenebilir (Cui vd., 2023; Pineli vd., 2015). Bu sayede hem ekstraksiyon verimi artırılabilir hem de ilave şeker eklemekten kaçınılabilir (Yadav vd., 2017).

Bitki bazlı süt alternatifleri katı partiküller, proteinler, yağ kürecikleri ve nişasta granüllerini içeren büyük boyutlu dağılmış parçacıklardan oluşan koloidal sistemlerdir (Paul vd., 2020; Sethi vd., 2016). Son ürünün koloidal stabilitesi büyük ölçüde hammadde bileşenlerine, işleme koşullarına ve depolamaya bağlı olarak değişmektedir (Paul vd., 2020). Depolama sırasında, ürün kalitesini olumsuz etkileyen sedimentasyon, kremleşme ve faz ayrımı, ağızda kumumsu ve/veya tebeşirimsi bir his meydana gelmesine sebep olabilir (Hasan vd., 2022). Son ürün kalitesini iyileştirmek için hammaddeye

uygulanan ıslatma, soyma, ağartma ve kavurma gibi bazı ön işlemler de etkili olabilmektedir. Örneğin, soyadan elde edilen içeceklerde son üründe hoş olmayan tattan sorumlu tripsin inhibitörlerini ve lipoksigenazı inaktive etmek için hammaddenin ağartılması önerilir (Nawaz vd., 2022).

Son ürünün viskozite ve tat-aroma gibi kalite özelliklerini geliştirmek için kıvam artırıcılar, şeker ve tatlandırıcılar, aroma maddeleri ve yağ ilavesi yapılabilmektedir (Bridges, 2018; Yadav vd., 2017; Pineli vd., 2015). Kullanılan hammaddeye göre, ürünün besin değerini arttırmak ve/veya dengelemek için besin maddelerinin ilave edilmesi de gerekli olabilir (Nawaz vd., 2022; McHugh, 2018). İlave edilecek besin maddesi/maddelerinin üründe değişikliğe neden olmaması için kararlı olması ve biyolojik olarak kullanılabilirliğinin yüksek olması gerekmektedir (Reyes-Jurado vd., 2023; Zhou vd., 2021). Bitki bazlı süt alternatifi içeceklere genellikle inek sütü ile benzer miktarlarda kalsiyum takviye edilir. Bu amaçla kalsiyum karbonat ve tri-kalsiyum fosfat kullanılabilmektedir (McClements, 2020). Kalsiyum kaynakları arasında en fazla tercih edilen emilimi inek sütü kalsiyumu ile benzer olan kalsiyum karbonattır (Scholz Ahrens, 2020). Benzer şekilde vitamin ve mineral madde ilave edilmesi de gerekli olabilir. Ancak, söz konusu bu maddeler ısı işlemi sırasında ve oksijenle temas ettiğinde indirgenebilir veya diğer gıda bileşenleriyle etkileşime girerek aktivitelerini kaybedebilirler (Yadav vd., 2017).

Sonraki işlem, partikül boyutunu azaltarak ticari raf ömrü boyunca stabil bir ürün elde etmek ve ilave edilen maddelerin düzgün bir şekilde karışmasını sağlamak için homojenizasyon aşamasıdır. Homojenizasyon işleminin etkisi uygulanan basıncın büyüklüğüne, süresine ve sıcaklığa göre değişmektedir (Vogelsang-O'Dwyer vd., 2022). Ultra yüksek basınçla (100-400 MPa) gerçekleştirilen homojenizasyon işlemi ile konformasyon özellikleri değişen proteinlerin parçalanmış yağ globülleri üzerinde bir tabaka oluşturarak emülsiyon stabilitesi sağladığı bildirilmektedir (Bernat vd., 2015). Acı bakla ile yapılan bir çalışmada homojenizasyon basıncının

180'den 780 bar'a çıkarılması, daha küçük partikül boyutu ve daha yüksek stabilite ile sonuçlanmıştır (Vogelsang-O'Dwyer vd., 2022).

Mikrobiyolojik stabiliteyi sağlayan ve ürünün raf ömrünü uzatan en yaygın yöntemler pastörizasyon ve UHT (Ultra High Temperature) işlemidir (Munekata vd., 2020). Bitki bazlı süt alternatifleri ısıtıldıklarında içeriğindeki proteinlerin yapısı değişir, proteinler arasındaki etkileşimler artış gösterir ve viskozite artışına yol açan tortulama veya jellemeye sebep olur (Varghese ve Pare, 2019). Isıl işlemin uygulanmasının önündeki bir başka engel ise tahıl, tahıl benzeri ve bazı baklağillerdeki yüksek nişasta konsantrasyonunun ısı işlem esnasında jellemeye sebep olmasıdır. Jelleşme sonucu içilebilir bir ürün elde etmek mümkün değildir (McClements, 2020; Yılmaz Tuncel vd., 2022).

Isıl işlemin badem sütü proteinleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada yağsız ve tam yağlı badem sütü protein solüsyonlarına 45–95 °C arasında değişen sıcaklıklarda 30 dk süreyle ısı işlem uygulanmıştır. 55–75 °C arasındaki sıcaklıkların denatürasyona ve kısmi agregasyona neden olduğu, 65–75 °C sıcaklıklarda ise fraktal protein kmelleri ve zayıf topaklanmış jel yapısının olduğu gözlenmiştir. 85–95 °C gibi yüksek sıcaklıklarda ise süt jeline benzer şekilde oluşan sürekli protein ağının yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Formülasyonda badem yağının varlığı jel kuvvetini arttırmış ancak daha heterojen bir yapıya yol açmıştır. Sonuç olarak badem sütü proteinlerinin ısı stabilitesine bağlı olarak vegan ve vejeteryan ürünler için jelletirici bir bileşen olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Devnani vd., 2020).

Bu nedenlerle, bitki bazlı süt alternatifi içeceklerin raf ömrünü uzatmak için ısı işleme alternatif işleme teknolojilerinin uygulanması araştırılmaktadır. Isıl işlemlere alternatif olarak mikrodalga ısıtma, yüksek hidrostatik basıncı (High Hydrostatic Pressure-HHP), ultraviyole sterilizasyon (UV-C), darbeli elektrik alan (PEF), ultrasound (US) ve soğuk plazma gibi yöntemler kullanılabilmektedir. Isıl olmayan işleme teknolojileri, gıdanın bazı temel besin bileşenleri

zerinde çok az etkili olur veya hiç değişikliğe neden olmazlar (Silva vd., 2020; Munekata vd., 2020; Varghese ve Pare, 2019).

Badem sütüne ısı işlem (90 °C sıcaklıkta 60 saniye) ve vurgulu elektrik alan (7, 14, 21 ve 28 kV/cm'lik PEF) uygulamasının etkilerinin incelendiği bir çalışmada, 28 kV/cm gücünde vurgulu elektrik alan işleminin ısı işlem ile aynı düzeyde mikrobiyal stabilite sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca, PEF uygulamasının badem sütü örneklerinin biyoaktif bileşenlerinde ve antioksidan aktivitesinde artıa neden olduğu, depolama süresince fiziksel olarak daha stabil olduğu ve tortu oluşumunun gözlenmediği tespit edilmiştir (Manzoor vd., 2020).

Strieder vd. (2022) alımalarında β -karoten ile zenginletirilmi arpa bazlı süt alternatifinde termal ve termal olmayan atımlı yüksek basıncı işleminin etkisini aratırmılardır. Araştırmada basıncın (100, 300 ve 600 MPa), atım sayısının (1, 2 ve 3) ve sıcaklığın (40 ve 80 °C) znr protein içeriği, β -karoten, toplam fenolik madde, flavonoid içeriği ve in vitro düzeyde antioksidan kapasite üzerindeki etkileri araştırılmıştır. 100 MPa ve 40 °C'de atımlı yüksek basıncı uygulamasında protein çözünürlüğünün korunduğu, β -karoten, flavonoid ve antioksidan aktivite düzeylerinin arttığı ve bu basıncı değerinde sistemin homojenizasyon etkisini desteklediği belirlenmiştir. Atım sayısının artmasıyla birlikte arpa proteinlerinin çözünürlüğünün arttığı, 80 °C'de uygulanan işlemin daha düşük fenolik ve flavonoid içeriğine sebep olduğu, 300 MPa ve 40 °C'de ise en yüksek fenolik ve flavonoid içeriğinin belirlendiği tespit edilmiştir. Ancak bu uygulamanın da çözünebilir protein içeriğinde artıa sebep olmadığı bildirilmiştir.

Soya sütünde *Escherichia coli* W1485 (*E. coli*) ve *Bacillus cereus* (*B. cereus*) sporlarını etkisiz hale getirmek amacıyla ultraviyole sterilizasyonun (UV-C) etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada tp çapının (1.6 mm ve 3.2 mm iç çap) ve Reynolds sayısının (Re) etkisi incelenmiştir. Bu amaçla sarmal tüplü UV reaktörleri kullanılmış ve 253.7 nm'de 11.187 mJ/cm² ve 11.3 saniyelik UV-C dozu ile 4 farklı Re seviyesi (343, 686, 1029 ve

1372) her bakteri sporu ile ayrı ayrı inölüle edilmiş örneklerde test edilmiştir. Her iki mikroorganizma için de inaktivasyonun etkinliği Re artışı ile artmıştır. 1.6 mm ID UV reaktöründe *E. Coli* sporlarında 5.6 log KOB/ml ve *B. cereus* sporlarında 3.29 log KOB/ml'lik azalma elde edilmiştir. İnaktivasyon verimliliği, her iki mikroorganizma için de 1.6 mm iç çapa sahip UV reaktöründe 3.2 mm iç çapa sahip olandan daha yüksek ölçülmüştür. UV-C işleminin, soya sütündeki *E. coli* ve *B. cereus* sporlarının ürün kalitesini etkilemeden azaltmada kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Bandla vd., 2012).

Vanga vd. (2020) yaptıkları çalışmada ultrasound (25 kHz, 400 W, 1-16 dk) ve mikrodalga (2450 MHz, 70-100°C, 2-10 dk) tekniklerinin, soya sütü proteinlerinde yaptığı konformasyonel değişikliklerin protein sindirilebilirliği üzerindeki etkilerini in vitro koşullarda araştırmışlardır. Çalışmada, her iki uygulamanın da soya proteinlerinin sekonder yapılarını ve tripsin inhibitörlerinin aktivitelerini önemli ölçüde etkileyerek protein sindirilebilirliğinde artış sağladığı belirlenmiştir. Özellikle 85 °C'de 10 dakikalık mikrodalga işleminden sonra protein sindirilebilirliğinin %93 oranında arttığı tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada gıdalarda yaygın olarak bulunan patojenlerden *E. coli* ve *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) ile inoküle edilen badem sütünde ısıl işleme alternatif bir uygulama olan ultrasound işleminin etkisi araştırılmıştır. Araştırmada uygulanan ultrasound işleminin güç, zaman ve atım değerlerine bağlı olarak, patojenler üzerinde ölümcül bir hasara sebep olmamakla birlikte *E. coli*'nin lag fazında gecikme yaşanmasına ve ürünün raf ömrünün uzamasında etkili olduğu belirlenmiştir (Iorio vd., 2019).

Susam sütü ile yapılan bir çalışmada termal olmayan yöntemlerden soğuk plazma tekniği kullanılmıştır. Çalışmada, sabit güç seviyesinde (180 V) sabit akış hızında (1 L/saat) ve farklı sürelerde (10, 20, ve 30 dakika) uygulanan soğuk plazmanın susam sütünün mikrobiyal, fizikokimyasal, anti besin öğeleri ve enzim

aktivitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak, uygulanan tekniğin susam sütünün mikrobiyel yükünde azalma sağladığı, ancak lipit oksidasyonda artışa, viskozite ve beyazlık indeksi değerlerinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, susamda bulunan anti besin öğelerinden fitatlarda (1.48'den 0.58 mg/g'a), oksalatlarda (39.13'den 19.96 µg/g'a) ve lipoksigenazda (%100'den %18.3'e) azalma sağlanmıştır (Dharini vd., 2023).

Isıl işlem sonrasında ürün soğutularak ambalajlanır ve depolanır. Soya sütlerinde endüstriyel ölçekte genellikle UHT ve ardından aseptik paketleme işlemi gerçekleştirilir (Vallath vd., 2022).

Kolayca bozulabilen sütün raf ömrünü uzatmak ve yoğurt gibi farklı ürünlere işleyerek korumak amacıyla yıllardır kullanılan fermentasyon prosesi bitki bazlı süt alternatif ürünlerinde de uygulanmaktadır (Boukid vd., 2023). Bu amaçla kullanılan laktik asit bakterileri (LAB) basit şekerleri parçalayarak temelde laktik asit oluşumuna sebep olmakta, ürünün aroma (Tangyu vd., 2023) ve tekstürünü (Harper vd., 2022) etkilemekte ve antioksidan aktivitede artış (Chawafambira vd., 2022) gibi sağlık faydalarına sahip ürünlerin oluşmasını sağlamaktadır. Yapılan çalışmalarda bitki bazlı süt alternatifleri içeceklerde istenmeyen fasulyemsi aromadan sorumlu olan aldehitlerin ve bazı uçucu bileşenlerin laktik asit bakterileri ile fermentasyon prosesi sonucunda elimine edildiği ve duyuusal özellikleri geliştiği için daha çok tercih edilebilir nitelikler kazandığı bildirilmektedir (Harper vd., 2022).

2023 yılında yapılan bir çalışmada gıdalarda kullanılan 15 farklı laktik asit bakterisi ile 4 farklı bitki bazlı süt alternatifleri üretilmiş ve aroma özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla katı-faz mikroekstraksiyon ve GC-MS ile elde edilen veriler eğitimsiz panelistlerden oluşan duyuusal değerlendirme ekibinden elde edilen verilerle karşılaştırılarak farklı tat gruplarının (meyveli/tatlı, tereyağlı/yağlı, peynirli/ekşi ve çimenli/yeşil) nispi etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre fermentasyonun bitki bazlı süt alternatifleri ürünlerinde aromayı geliştirmede

nemli düzeyde etkisinin olduğu belirlenmiştir (Tangyu vd., 2023).

Bitki bazlı süt alternatiflerinde proteinleri biyoaktif amino asitlere (Chen vd., 2019; Gamba vd., 2020; Shori vd., 2022; Verni vd., 2020) ve organik asitlere (Choudhary vd., 2019; Gamba vd., 2020) indirgeyerek antioksidan özelliklerini artırmak amacıyla da fermentasyon teknolojisi kullanılmaktadır.

10 farklı *Lactobacillus* kültürü ile fermente edilen Soya sütünün biyoaktif özelliklerinin incelendiği bir çalışmada *Lacticaseibacillus rhamnosus* (*Lcb. rhamnosus*) ve *Lactiplantibacillus plantarum* (*Lpb. plantarum*) suşları ile fermente edilen örneklerin fermente edilmeyen soya sütüne kıyasla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca *Limosilactobacillus fermentum* (*Lim. fermentum*) ve *Lcb. rhamnosus* suşları ile fermente edilen örneklerde toplam fenolik içeriğin önemli lde azaldığı grlmştir. Soyada glikozid formda bulunan ve biyoyarayışlılığı düşük olan izoflavonların biyotransformasyonunun *Lpb. plantarum* suşu tarafından 24 saatlik fermentasyon sonucunda önemli lde yükseldiği bildirilmiştir. İlgili suşların, yüksek düzeyde antioksidan aktiviteye sahip ve aglikon bakımından zengin fermente soya sütü üretiminde kullanılabileceğini önermişlerdir (Lodha vd., 2021).

Nohut bazlı süt alternatifi üretilmesinin hedeflendiği bir çalışmada papain, α -amilaz ve β -glikosidaz enzimleri ile muamele ve *Lcb. rhamnosus* ile fermente edilen örneklerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında izoflavon içeriğinin farklı oranlarda artış gösterdiği ve 24 saatlik fermentasyon sonunda en yüksek değere ulaştığı belirlenmiştir (Zhang vd., 2022).

Farklı bitki kaynaklarından izole edilen laktik asit bakterisi suşlarının fındık sütünü asitleştirmesi ile ilgili yapılan bir çalışmada *Lactococcus lactis* (*Lc. lactis*) suşlarının pH değerini yoğurt kültüründen (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) daha hızlı dşrdğu bulunmuştur. Badem, kaju, macadamia fıstığı ve soya bazlı süt alternatiflerinde sükroz ana şeker

kaynağı olarak bulunmaktadır. Starter kltrlerin asit üretimini için büyüme ortamına adapte olması oldukça önemli olduğundan bitki kaynaklarından izole edilen *Lc. lactis* suşlarının daha hızlı ve daha düşük pH değeri sağladığını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada yoğurt kültürünün karbon ve enerji kaynağı olarak laktozu kullanmasından dolayı daha yavaş ve nispeten daha yüksek pH değerlerinde asitleştirme sağlayabildiği bildirilmiştir. Sonuç olarak, bitki kaynaklarından izole edilen *Lc. lactis* izolatlarının sükroz içeriğine sahip kabuklu yemiş bazlı süt alternatifleri için starter kültürü olma potansiyeline sahip olduğunu göstermişlerdir. Yoğurt veya peynir benzeri bir ürün söz konusu olduğunda, asit üretimine ek olarak bu starter kltrlerin asetoin/diasetil gibi arzu edilen uçucu aroma bileşiklerini üretilip retemeyeceğinin de belirlenmesi gerektiğini bildirmişlerdir (Huang vd., 2023).

2010 yılında yapılan bir çalışmada pirinç sütünden üretilen kefir rneklerinin *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *E. coli* ve *Pseudomonas fluorescens* (*P. fluorescens*) bakterilerine karşı inhibisyon etkisi ve antioksidan özellikleri incelenmiş ve inek sütü ile karşılaştırılmıştır. Pirinç sütünden elde edilen kefir örneklerinin inek sütünden elde edilen kefir örneklerine kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ve *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* ve *P. fluorescens*'a karşı inhibisyon sergilediği bildirilmiştir (Sirirat ve Jelena, 2010).

Atalar (2019), çalışmasında soğuk sıkım tekniği ile fındık yağı üretiminin yan ürünü olan posadan elde edilen fındık sütü ile farklı oranlarda inek sütünü karıştırarak (100%, 75/25%, 50/50% ve 25/75%) kefir üretmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, fındık sütü katkılı kefir örneklerinde kontrol örneğine göre protein, yağ, su tutma kapasitesi, kıvam, viskozite, ekzopolisakkarit seviyesi, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite düzeyi yüksek bulunmuştur. Fermentasyon sırasında %50 ve daha yüksek oranda fındık sütü eklenmesi kefir bakterilerinin gelişimini ve asitliğin ilerlemesini yavaşlatmıştır. Kefir örneklerinde fındık sütünün ilavesi asetik asit ve malik asit içeriğini arttırırken laktik asit ve sitrik asit içeriğini azaltmıştır. Sonuç olarak biyoaktif özelliklerine ve lipid profiline bağlı olarak fındık

sütü ilave edilen kefir örneklerinin inek sütü ile üretilen kefir örneklerine göre sağlığı artırıcı etkisi olabileceğini ve yapısal özellikleri iyileştirdiğini belirtmiştir.

Yapılan bir çalışmada *Lcb. rhamnosus* Yoba ile fermente edilen farklı oranlardaki börülce ve fıstık sütünün (1:1, 2:1, 3:1 v/v) probiyotik potansiyeli, fizikokimyasal ve duysal özellikleri değerlendirilmiştir. Börülce ve fıstık sütünün *Lcb. rhamnosus* Yoba gelişimini desteklediğini bildirmişlerdir. *Lcb. rhamnosus* Yoba'nın proteinleri parçalayarak ürettiği peptidlerden dolayı antioksidan aktivitede artış ve anti besin öğelerinde azalma olduğunu gözlemlemişlerdir. Demir ve potasyum içeriğinde gözlemlenen artışın, fermantasyon sırasında fitatların parçalanmasına bağlı açığa çıkan minerallerden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Chawafambira vd., 2022).

SONUÇ

Sütün bilinen besleyici birçok faydasına rağmen son yıllarda bazı tüketiciler tarafından süt ve ürünlerine alternatif olan bitki bazlı ürünlere eğilimin arttığı görülmektedir. Bununla birlikte bitki bazlı süt alternatiflerinin bazı besin bileşenleri açısından yetersiz olduğu ve besin değeri açısından hayvan sütü ile karşılaştırılmayacağı açıktır. Temelde çevresel sürdürülebilirlik felsefesine dayanan vegan beslenmede tüketilen bitki bazlı süt alternatifi besinlerin sağlık üzerinde hem olumlu hem de olumsuz bazı etkilerinin bulunduğu bildirilmektedir. Söz konusu besinlerin zengin lif içeriği ile kalp-damar hastalıkları, kanser ve diyabet riskini azalttığını gösteren bazı çalışmaların yanı sıra aynı besinlerin protein içeriğinin yetersizliği, mineral ve vitaminlerin düşük biyoyararlılığı başta olmak üzere çeşitli olumsuz sağlık etkilerinden de söz edilmektedir. Bitki bazlı suda çözünür ekstrakt olarak hazırlanan sütler, inek sütünün ikamesi olarak düşünülebilir ancak bileşiminin ve besin kalitesinin inek sütününe yakın olması için takviye edici bileşenlere ihtiyaç vardır. Bu zenginleştirme, katkı maddeleri eklenerek veya iki veya daha fazla bitki bazlı hammadde birleştirilerek yapılabilir. Bitki bazlı süt alternatifi ürünlerin duysal, besinsel ve

işlevsel özelliklerini geliştirmek için hammadde seçimi, ısıl olmayan işleme yöntemleri ve fermantasyon konularında yapılacak yeni araştırmalara ihtiyaç vardır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Makalenin derlenmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında tüm yazarlar katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

Alae-Carew, C., Green, R., Stewart, C., Cook, B., Dangour, A.D. Scheelbeek, P.F.D. (2022). The role of plant-based alternative foods in sustainable and healthy food systems: Consumption trends in the UK. *Science of The Total Environment* 807(3), 151041, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.151041.

Anonymous. (2017). *Türk Gıda Kodeksi Çiğ Sütün Arzına Dair Tebliği*. 27 Nisan 2017 tarih ve 30050 sayılı Resmî Gazete, Ankara. Tebliğ No: 2017/20. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/04/20170427-2.htm>

Anonymous. (2015). *Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi*. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü (ed.), Merdiven Reklam Tanıtım, Ankara, s. 96. ISBN: 978-975-491-408-5.

Applegate, L. (2011). *Beslenme ve Diyet-Temel İlkeleri*. Özpınar, H. (çeviri ed.), Kendall/Hunt Publishing, Iowa, pp. 544.

Atalar, İ. (2019). Functional kefir production from high pressure homogenized hazelnut milk. *LWT* 107: 256-263, doi: 10.1016/j.lwt.2019.03.013.

Autio, M., Sekki, S., Autio, J., Peltonen, K., Niva, M. (2023). Towards de-dairyfication of the diet?—Consumers downshifting milk, yet justifying their dairy pleasures. *Front. Sustain.* 4, 975679, doi: 10.3389/frsus.2023.975679.

Aydar, E.F., Mertdinç, Z., Demircan, E., Koca Çetinkaya, S. Özçelik, B. (2023). Kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) milk substitute as a novel

- plant-based drink: Fatty acid profile, antioxidant activity, in-vitro phenolic bio-accessibility and sensory characteristics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 83, 103254, doi: 10.1016/j.ifset.2022.103254.
- Aydar, E.F., Tutuncu, S. Ozcelik, B. (2020). Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. *Journal of Functional Foods* 70, 103975, doi: 10.1016/j.jff.2020.103975.
- Bandla, S., Choudhary, R., Watson, D.G. Haddock, J. (2012). UV-C treatment of soymilk in coiled tube UV reactors for inactivation of *Escherichia coli* W1485 and *Bacillus cereus* endospores. *LWT - Food Science and Technology* 46(1): 71-76. doi: 10.1016/j.lwt.2011.10.024.
- Baysal, A. (2002). *Beslenme*. 21. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, Türkiye, 560 s. ISBN:
- Bernat, D., Cháfer, M., Rodríguez-García, J., Chiralt, A., González-Martínez, C. (2015). Effect of high pressure homogenisation and heat treatment on physical properties and stability of almond and hazelnut milks. *LWT - Food Science and Technology* 62(1): 488-496, doi: 10.1016/j.lwt.2014.10.045.
- Bocker, R. ve Silva, E.K. (2022). Innovative technologies for manufacturing plant-based non-dairy alternative milk and their impact on nutritional, sensory and safety aspects. *Future Foods* 5, 100098, doi: 10.1016/j.fufo.2021.100098.
- Boeck, T., Sahin, A.W., Zannini, E. Arendt, E.K. (2021). Nutritional properties and health aspects of pulses and their use in plant-based yogurt alternatives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 20(4): 3858-3880, doi: 10.1111/1541-4337.12778.
- Borin, J.F., Knight, J., Holmes, R.P., Joshi, S., Goldfarb, D.S. Loeb, S. (2021). Plant-Based Milk Alternatives and Risk Factors for Kidney Stones and Chronic Kidney Disease. *J. Ren. Nutr.* 32: 363–365, doi: 10.1053/j.jrn.2021.03.011.
- Boukid, F., Hassoun, A., Zouari, A., Tülbek, M.Ç., Mefleh, M., Ait-Kaddour, A. Castellari, M. (2023). Fermentation for Designing Innovative Plant-Based Meat and Dairy Alternatives. *Foods* 12, 1005, doi: 10.3390/foods12051005.
- Bridges, M. (2018). Moo-ove Over, Cow's Milk: The Rise of Plant-Based Dairy Alternatives. *Pract. Gastroenterol.* 42(1): 20–27.
- Casagrande, S.S., Gary-Webb, T.L. (2010). Chapter 8 - Trends in US Adult Fruit and Vegetable Consumption. In: *Bioactive Foods in Promoting Health*, Watson, R.R., Preedy, V.R. (ed.), Academic Press, the UK, pp. 111-130. ISBN: 978-0-12-374938-3.
- Catanzaro, R., Sciuto, M., Marotta, F. (2021). Lactose intolerance: An update on its pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Nutrition Research* 89: 23-34, doi: 10.1016/j.nutres.2021.02.003.
- Chawafambira, A., Jombo, T.Z., Mkungunugwa, T. (2022). Effect of *Lactococcus lactis* rhamnosus Yoba fermentation on physicochemical properties, amino acids and antioxidant activity of Cowpea-Peanut milk. *Journal of Food Quality* 2022, 3192061, doi: 10.1155/2022/3192061.
- Chen, Y., Zhang, H., Liu, R., Mats, L., Zhu, H., Pauls, K.P. Deng, Z., Tsao, R. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory polyphenols and peptides of common bean (*Phaseolus vulga* L.) milk and yogurt in Caco-2 and HT-29 cell models. *Journal of Functional Foods* 53, 125-135, doi: 10.1016/j.jff.2018.12.013.
- Choudhary, S., Singh, M., Sharma, D., Attri, S., Sharma, K., Goel, G. (2019). Principal Component Analysis of Stimulatory Effect of Synbiotic Combination of Indigenous Probiotic and Inulin on Antioxidant Activity of Soymilk. *Probiotics & Antimicro. Prot.* 11: 813–819, doi: 10.1007/s12602-018-9432-9.
- Craig, W.J., Mangels, A.R., Brothers, C.J. (2022). Nutritional Profiles of Non-Dairy Plant-Based Cheese Alternatives. *Nutrients* 14, 1247, doi:10.3390/nu14061247.
- Cui, L., Qiuju, J., Zhao, J., Hou, D., Zhou, S. (2023). A comprehensive review on oat milk: from oat nutrients and phytochemicals to its processing technologies, product features, and

- potential applications. *Food Funct.* 14, 5858, doi: 10.1039/d3fo00893b.
- Değerli, C., El, S.N. (2019). Optimum beslenmede sağlıklı atıştırmalıkların yeri. *GIDA*, 44 (6): 988-999, doi: 10.15237/gida.GD19071.
- Devnani, B., Ong, L., Kentish, S., Gras, S. (2020). Heat induced denaturation, aggregation and gelation of almond proteins in skim and full fat almond milk. *Food Chemistry* 325, 126901, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126901.
- Dewiasty, E., Setiati, S., Agustina, R., Roosheroe, A.G., Abdullah, M., Istanti, R., de Groot, L. (2021). Prevalence of lactose intolerance and nutrients intake in an older population regarded as lactase non-persistent. *Clinical Nutrition ESPEN* 43, 317-321, doi: 10.1016/j.clnesp.2021.03.033.
- Dharini, M., Jaspın, S., Mahendran, R. (2023). Cold plasma bubbling: Impact on safety, physicochemical properties, and nutritional quality of sesame milk. *Food and Bioprocess Technology* 139: 109-120, doi: 10.1016/j.fbp.2023.03.005.
- Erk, G., Seven, A., Akpınar, A. (2019). Vegan ve vejeteryan beslenmede probiyotik bitkisel bazlı süt ürünlerinin yeri. *GIDA* 44(3): 453-462, doi: 10.15237/gida.GD18083.
- Escobar-Sáez, D., Montero-Jiménez, L., García-Herrera, P., Sánchez-Mata, M.C. (2022). Plant-based drinks for vegetarian or vegan toddlers: Nutritional evaluation of commercial products, and review of health benefits and potential concerns. *Food Research International* 160, 111646, doi: 10.1016/j.foodres.2022.111646.
- FDC. (2023). FoodData Central. www.fdc.nal.usda.gov/ (Accessed: 14.05.2023).
- Firth, J., Gangwisch, J.E., Borisini, A., Wootton, R.E., Mayer, E.A. (2020). Food and mood: how do diet and nutrition affect mental wellbeing? *BMJ*, 371, doi: 10.1136/bmj.m2382.
- FRSC (Food Regulation Standing Committee) (2019). Misleading Descriptions For Food Options Paper [Press release]. [www.health.gov.au/sites/default/files/documents/2020/04/foi-request-1456-food-labelling-](http://www.health.gov.au/sites/default/files/documents/2020/04/foi-request-1456-food-labelling-misleading-descriptions-for-food-options-paper.pdf)
- [misleading-descriptions-for-food-options-paper.pdf](http://www.health.gov.au/sites/default/files/documents/2020/04/foi-request-1456-food-labelling-misleading-descriptions-for-food-options-paper.pdf) (Accessed: 15 July 2023).
- FSSAI (Food Safety and Standards Authority of India). (2021). State Food Safety Departments are directed to investigate the alleged use of dairy terms on the labels of plant based beverages and food products [Press release]. www.fssai.gov.in/upload/press_release/2021/09/6134e1e56895bPress_Release_Dairy_Term_04_09_2021.pdf (Accessed: 15 July 2023).
- Gallego-Narbón, A., Zapatera, B., Barrios, L., Vaquero, M.P. (2019). Vitamin B12 and folate status in Spanish lacto-ovo vegetarians and vegans. *Journal of Nutritional Science* 8(7): 1-8, doi: 10.1017/jns.2019.2.
- Gamba, R.R., Yamamoto, S., Abdel-Hamid, M., Sasaki, T., Michihata, T., Koyanagi, T., Enomoto, T. (2020). Chemical, Microbiological, and Functional Characterization of Kefir Produced from Cow's Milk and Soy Milk. *International Journal of Microbiology*, 7019286, doi: 10.1155/2020/7019286.
- Gantt, K. (2020). Almonds and Confusion in the Dairy Industry: If Almonds and Water Equal Milk, Do Almonds Equal Dairy. *North East Journal of Legal Studies* 40: 62-81.
- Gobbi, L., Salvatore C., Mattia R., Roberto R. (2019). Biogenic Amines Determination in "Plant Milks". *Beverages* 5(2), doi: 10.3390/beverages5020040.
- Gökçen, M., Aksoy, Y.C., Ateş Özcan B. (2019). Vegan beslenme tarzına sağlık açısından genel bakış. *Sağlık ve Yaşam Bilimleri Dergisi* 1(2): 50-54, doi: 10.33308/2687248X.201912152.
- Grossmann, L., Kinchla, A.J., Nolden, A., McClements, D.J. (2021). Standardized methods for testing the quality attributes of plant-based foods: Milk and cream alternatives. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 20: 2206-2233, doi: 10.1111/1541-4337.12718.
- Harper, A.R., Dobson, R.C.J., Morris, V.K., Moggré, G. (2022). Fermentation of plant-based dairy alternatives by lactic acid bacteria. *Microbial Biotechnology* 15(5): 1404-1421, doi: 10.1111/1751-7915.14008.

- Hasan, M., Maheshwari, C., Dhaka, A., Meena, N.L., Taria, S., Kumar, M., Garg, N.K. (2022). Plantbased beverages-A healthy alternate to bovine milk. *Academia Letters*, 5622, doi: 10.20935/AL5622.
- Hess, J.M. (2022). Modeling Dairy-Free Vegetarian and Vegan USDA Food Patterns for Nonpregnant, Nonlactating Adults. *The Journal of Nutrition* 152: 2097-2108, doi: 10.1093/jn/nxac100.
- Huang, W., Dong, A., Pham, H.T., Zhou, C., Huo, Z., Wätjen, A.P., Prakash, S., Bang-Berthelsen, C.H., Turner, M.S. (2023). Evaluation of the fermentation potential of lactic acid bacteria isolated from herbs, fruits and vegetables as starter cultures in nut-based milk alternatives. *Food Microbiology* 112, 104243, doi: 10.1016/j.fm.2023.104243.
- Huang, Y., Thompson, T., Wang, Y., Yu, Q., Zhu, L., Xu, X., Wen, Z.T., Townsend, J.A. (2019). Analysis of cariogenic potential of alternative milk beverages by in vitro *Streptococcus mutans* biofilm model and ex vivo caries model. *Archives of Oral Biology* 105: 52–58, doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.05.033.
- IDF (International Dairy Federation) (2020). The Codex General Standard for the Use of Dairy Terms - Its nature, intent, and implications [Position paper]. www.fil-idf.org/wp-content/uploads/2020/11/IDF-Position-Paper-The-Codex-general-standard-for-the-use-of-dairy-terms-FINAL.pdf (Accessed: 15 July 2023).
- Iorio, M.C., Bevilacqua, A., Corbo, M.R., Campaniello, D., Sinigaglia, M., Altieri, C. (2019). A case study on the use of ultrasound for the inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in almond milk. *Ultrasonics Sonochemistry* 52: 477-483, doi: 10.1016/j.ultsonch.2018.12.026.
- Jeske, S., Zannini, E., Arendt, E.K. (2017). Evaluation of Physicochemical and Glycaemic Properties of Commercial Plant-Based Milk Substitutes. *Plant Foods Hum. Nutr.* 72: 26-33, doi: 10.1007/s11130-016-0583-0.
- Kaur, P., Kaur, K., Basha, S.J., Kennedy, J.F. (2022). Current trends in the preparation, characterization and applications of oat starch — A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 212: 172-181, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.05.117.
- Kris-Etherton, P.M., Petersen, K.S., Hibbeln, J.R., Hurley, D., Kolick, V., Peoples, S., Rodriguez, N., Woodward-Lopez, G. (2021). Nutrition and behavioral health disorders: depression and anxiety. *Nutr. Rev.* 79(3): 247-260, doi: 10.1093/nutrit/nuaa025.
- Lodha, D., Das, S., Hati, S. (2021). Antioxidant activity, total phenolic content and biotransformation of isoflavones during soy lactic-fermentations. *J. Food Process Preserv.* 45, 15583, doi: 10.1111/jfpp.15583.
- Makinen, O.E., Wanhalinna, V., Zannini, E., Arendt, E.K. (2016). Foods for Special Dietary Needs: Non-dairy Plant-based Milk Substitutes and Fermented Dairy-type Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56: 339–349, doi: 10.1080/10408398.2012.761950.
- Manzoor, M.F., Zeng, X.A., Ahmad, N., Ahmed, Z., Rehman, A., Aadil, R.M., Roobab, U. Siddique, R., Rahaman, A. (2020). Effect of pulsed electric field and thermal treatments on the bioactive compounds, enzymes, microbial, and physical stability of almond milk during storage. *J. Food Process Preserv.* 44, 14541, doi: 10.1111/jfpp.14541.
- McClements, D.J., Newman, E., McClements, I.F. (2019). Plant-based Milks: A Review of the Science Underpinning Their Design, Fabrication, and Performance. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 18: 2047-2067, doi: 10.1111/1541-4337.12505.
- McHugh, T. (2018). How plant-based milks are processed. *Food Technology* 72: 63–64.
- Metin, M. (2008). *Süt teknolojisi sütün bileşimi ve işlenmesi*. 7. Baskı. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, Türkiye, 802 s. ISBN: 975-483-279-X.
- Mozaffarian, D., Rosenberg, I., Uauy, R. (2018). History of modern nutrition science-implications for current research, dietary guidelines, and food policy. *BMJ* 361, 2392, doi: 10.1136/bmj.k2392.

- Munekata, P.E.S., Domínguez, R., Budaraju, S., Roselló-Soto, E., Barba, F.J., Mallikarjunan, K., Roohinejad, S., Lorenzo, J.M. (2020). Effect of Innovative Food Processing Technologies on the Physicochemical and Nutritional Properties and Quality of Non-Dairy Plant-Based Beverages. *Foods* 9(3), 288, doi: 10.3390/foods9030288.
- Musa-Veloso, K. ve Juana, J. (2020). Regulation and Labeling of Plant-Based Beverages and Simulated Meat, Poultry, and Egg Products in Canada and the United States. *Cereal Foods World* 65(4), doi: 10.1094/CFW-65-4-0044.
- Nawaz, M.A., Tan, M., Øiseth, S., Buckow, R. (2022). An Emerging Segment of Functional Legume-Based Beverages: A Review. *Food Reviews International* 38(5): 1064-1102, doi: 10.1080/87559129.2020.1762641.
- Nowshin, H., Kumkum, D., Begum, A.A., Mazumder, A.R. (2018). Effects of soaking and grinding conditions on anti-nutrient and nutrient contents of soy milk. *Journal of the Bangladesh Agricultural University* 16(1): 158-162, doi: 10.3329/jbau.v16i1.36497.
- Oduro, A.F., Saalia, F.K., Adjei, M.Y. B. (2021). Using Relative Preference mapping (RPM) to identify innovative flavours for 3-blend plant-based milk alternatives in different test locations. *Food Quality and Preference* 93, 104271, doi: 10.1016/j.foodqual.2021.104271.
- Onyesom, I., Enaholo, A.T., Mordi, J. (2005). Effect of Processing Techniques on The Contents of Flatulence Factors and Emulsion Properties of Cowpea (*Vigna unguiculata*). *J. Appl. Sci. Environ. Mgt.* 9(2): 65-72, doi: 10.4314/jasem.v9i2.17293.
- Patisaul, H.B. ve Jefferson, A. (2010). The pros and cons of phytoestrogens. *Frontiers in Neuroendocrinology* 31(4): 400-419, doi: 10.1016/j.yfrne.2010.03.003.
- Paul, A.A., Kumar, S., Kumar, V., Sharma, R. (2020). Milk Analog: Plant based alternatives to conventional milk, production, potential and health concerns. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60(18): 3005-3023, doi: 10.1080/10408398.2019.1674243.
- Pineli, L.d.L.d.O., Botelho, R.B.A., Zandonadi, R.P., Solorzano, J.L., de Oliveira, G.T., Reis, C.E.G., Teixeira, D.d.S. (2015). Low Glycemic Index and Increased Protein Content in a Novel Quinoa Milk. *LWT-Food Sci. Technol.* 63(2): 1261–1267, doi: 10.1016/j.lwt.2015.03.094.
- Pointke, M., Albrecht, E.H., Geburt, K., Gerken, M., Traulsen, I., Pawelzik, E. (2022) A Comparative Analysis of Plant-Based Milk Alternatives Part 1: Composition, Sensory, and Nutritional Value. *Sustainability* 14, 7996, doi: 10.3390/su14137996.
- Popova, A. ve Mihaylova, D. (2019). Antinutrients in Plant-based Foods: A Review. *The Open Biotechnology Journal* 13: 68-76, doi: 10.2174/1874070701913010068.
- Prasad, R. ve Shivay, Y.S. (2020). Cow milk protein allergy and lactose intolerance. *Current Science* 118(9): 1375-1378, doi: 10.18520/cs/v118/i9/1375-1378.
- Reyes-Jurado, F., Soto-Reyes, N., Dávila-Rodríguez, M., Lorenzo-Leal, A.C., Jiménez-Munguía, M.T., Mani-López, E., López-Malo, A. (2023) Plant-Based Milk Alternatives: Types, Processes, Benefits, and Characteristics. *Food Reviews International* 39(4): 2320-2351, doi: 10.1080/87559129.2021.1952421.
- Romero, A.C., Sartori, A.G.O., Caetano-Silva, M.E., de Alencar, S.M., Calori, M.A., Augusto, P.E.D. (2023). Ozone processing of peanut “milk”: Degradation of aflatoxins, impact on quality attributes and the potential effect on peanut allergens. *Journal of Cleaner Production* 405, 136950, doi: 10.1016/j.jclepro.2023.136950.
- Röös, E., Garnett, T., Watz, V., Sjörs, C. (2018). *The role of dairy and plant based dairy alternatives in sustainable diets*. Swedish University of Agricultural Sciences, the research platform Future Food, Uppsala, Sweden, 146 p. ISBN: 978-91-576-9604-5.
- Sakkas, H., Bozidis, P., Touzios, C., Kolios, D., Athanasiou, G., Athanasopoulou, E., Gerou, I., Gartzonika, C. (2020). Nutritional status and the influence of the vegan diet on the gut microbiota and human health. *Medicina* 56(2):88, doi: 10.3390/medicina56020088.

- Scholz-Ahrens, K.E., Ahrens, F., Barth, C.A. (2020). Nutritional and health attributes of milk and milk imitations. *European Journal of Nutrition* 59: 19–34, doi: 10.1007/s00394-019-01936-3.
- Sethi, S., Tyagi, S.K., Anurag, R.K. (2016). Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: A review. *J. Food Sci. Technol.* 53(9): 3408-3423, doi: 10.1007/s13197-016-2328-3.
- Sharma, A.K., Lourembam, B., Bisht, B. (2020). New Approach to Plant-Based Milk Alternatives-A Review. *Ind. J. Pure App. Biosci.* 8(3): 130-133, doi: 10.18782/2582-2845.8108.
- Shen, P., Walker, G.D., Yuan, Y., Reynolds, C., Stanton, D.P., Fernando, J.R., Reynolds, E.C. (2019). Effects of soy and bovine milk beverages on enamel mineral content in a randomized, double-blind in situ clinical study. *Journal of Dentistry* 88, 103160, doi: 10.1016/j.jdent.2019.06.007.
- Shkempi, B. ve Huppertz, T. (2023). Impact of dairy products and plant-based alternatives on dental health: food matrix effects. *Nutrients*, 15(6):1469, doi: 10.3390/nu15061469.
- Shori, A.B., Aljohani, G.S., Al-zahrani, A.J., Al-sulbi, O.S., Baba, A.S. (2022). Viability of probiotics and antioxidant activity of cashew milk-based yogurt fermented with selected strains of probiotic *Lactobacillus* spp., *LWT* 153, 112482, doi: 10.1016/j.lwt.2021.112482.
- Silva, A.R.A., Silva, M.M.N., Ribeiro, B.D. (2020). Health issues and technological aspects of plant-based alternative milk. *Food Research International* 131, 108972, doi: 10.1016/j.foodres.2019.108972.
- Sirirat, D. ve Jelena, P. (2010). Bacterial inhibition and antioxidant activity of Kefir produced from Thai Jasmine rice milk. *Biotechnology* 9(3): 332-337, doi: 10.3923/biotech.2010.332.337.
- Stare, F.J. ve McWilliams, M. (1973). *Living Nutrition*. John Wiley & Sons Publishing, New York, the USA, 467 p.
- Strieder, M.M., Silva, E.K., Mekala, S., Meireles, M.A.A., Saldaña, M.D.A. (2022). Pulsed high-pressure processing of barley-based non-dairy alternative milk: β -carotene retention, protein solubility and antioxidant activity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 82, 103212, doi: 10.1016/j.ifset.2022.103212.
- Sumner, O. ve Burbridge, L. (2020). Plant-based milks: the dental perspective. *British Dental Journal*, doi: 10.1038/s41415-020-2058-9.
- Sutedja, A.M., Ito, A., Yanase, E., Batubara, I., Fardiaz, D., Lioe, H.N. (2022). Influence of jack bean (*Canavalia ensiformis* (L) DC) milk processing on bioactive compounds and its antioxidant activity. *Food Science and Technology* 42, 11521, doi: 10.1590/fst.11521.
- Tamer A., Nalbant A. (2021). Beslenme ve Bağışıklık Sistemi. *Sakarya Tıp Dergisi* 11(2): 458-466, doi: 10.31832/smj.896467.
- Tangyu, M., Fritz, M., Tan, J.P., Ye, L., Bolten, C.J., Bogicevic, B., Wittmann C. (2023). Flavour by design: food-grade lactic acid bacteria improve the volatile aroma spectrum of oat milk, sunflower seed milk, pea milk, and faba milk towards improved flavour and sensory perception. *Microb Cell Fact.* 22, 133, doi: 10.1186/s12934-023-02147-6.
- Tangyu, M., Muller, J., Bolten, C.J., Wittmann C. (2019). Fermentation of plant-based milk alternatives for improved flavour and nutritional value. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 103: 9263-9275, doi: 10.1007/s00253-019-10175-9.
- Tong, S.C., Siow, L.F., Tang, T.K., Lee, Y.Y. (2022). Plant-based milk: unravel the changes of the antioxidant index during processing and storage – A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 15: 1-19, doi: 10.1080/10408398.2022.2143477.
- Vallath, A., Shanmugam, A., Rawson, A. (2022). Prospects of future pulse milk variants from other healthier pulses - As an alternative to soy milk. *Trends in Food Science & Technology* 124: 51-62, doi: 10.1016/j.tifs.2022.03.028.
- Vanga, S.K., Wang, J., Raghavan, V. (2020). Effect of ultrasound and microwave processing on the structure, in-vitro digestibility and trypsin inhibitor activity of soymilk proteins. *LWT*, 131, 109708, doi:10.1016/j.lwt.2020.109708.

- Varghese, T. ve Pare, A. (2019). Effect of microwave assisted extraction on yield and protein characteristics of soymilk. *Journal of Food Engineering* 262: 92-99, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2019.05.020.
- Verni, M., Demarinis, C., Rizzello, C.G., Baruzzi, F. (2020). Design and Characterization of a Novel Fermented Beverage from Lentil Grains. *Foods* 9(7), 893, doi: 10.3390/foods9070893.
- Vogelsang-O'Dwyer, M., Sahin, A.W., Zannini, E., Arendt, E.K. (2022). Physicochemical and nutritional properties of high protein emulsion-type lupin-based model milk alternatives: Effect of protein source and homogenization pressure. *J. Sci. Food Agric.* 102: 5086-5097, doi: 10.1002/jsfa.11230.
- Vorster, H.H. (2009). Introduction to Human Nutrition: A Global Perspective on Food and Nutrition. In: *Introduction to Human Nutrition*, Gibney, M.J., Lanham-New, S.A., Cassidy, A., Vorster, H.H. (ed.), 2nd Edition, Wiley-Blackwell, the UK, pp. 1-11. ISBN: 978-1-4051-6807-6.
- Yadav, D.N., Bansal, S., Jaisval, A.K., Singh, R. (2017). Plant Based Dairy Analogues: An Emerging Food. *Agricultural Research & Technology* 10(2), 555781, doi: 10.19080/ARTOAJ.2017.10.555781.
- Yılmaz Tuncel, N., Korkmaz, F., Polat, H., Tuncel, N.B. (2022). Monitoring starch hydrolysis with micro visco-amylo-graph for the production of chickpea milk and optimization of the parameters with response surface methodology. *J Food Sci Technol* 59: 3448–3457, doi: 10.1007/s13197-021-05332-w.
- Yücecan, S. (2012). *Optimal Beslenme*. Klasmat Matbaacılık, Yayın No: 726, Ankara, Türkiye. ISBN: 978-975-590-242-5.
- Zhang, X., Liu, S., Xie, B., Sun, Z. (2022). An Approach to Processing More Bioavailable Chickpea Milk by Combining Enzymolysis and Probiotics Fermentation. *Journal of Food Quality* 1665524, doi: 10.1155/2022/1665524.
- Zhou, H., Zheng, B., Zhang, Z., Zhang, R., He, L., McClements, D.J. (2021). Fortification of Plant-Based Milk with Calcium May Reduce Vitamin D Bioaccessibility: An In Vitro Digestion Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69(14): 4223-4233, doi: 10.1021/acs.jafc.1c01525.



**DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN PICKLED VINE
(*Vitis vinifera* L.) LEAVES BY A VALIDATED LC-MS/MS METHOD**

Tuba Zorlu Ünlü¹, Semra Topuz^{2*}, Mustafa Bayram², Tarık Balkan³, Cemal Kaya²

¹ Department of Food Engineering, Institute of Graduate Studies, Tokat Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey

² Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Tokat Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey

³ Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tokat Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey

Received / Geliş: 21.08.2023; Accepted / Kabul: 04.12.2023; Published online / Online baskı: 06.12.2023

Zorlu Ünlü, T., Topuz, S., Bayram, M., Balkan, T., Kaya, C. (2023). Determination of pesticide residues in pickled vine (*Vitis vinifera* L.) leaves by a validated LC-MS/MS method. GIDA (2023) 48 (6) 1335-1350 doi: 10.15237/gida.GD2306

Zorlu Ünlü, T., Topuz, S., Bayram, M., Balkan, T., Kaya, C. (2023) Valide edilmiş bir LC-MS/MS metoduyla asma yapraklarında pestisit kalıntılarının belirlenmesi. GIDA (2023) 48 (6) 1335-1350 doi: 10.15237/gida.GD23096

ABSTRACT

Pesticides are chemicals used to combat insects, rodents, fungi and weeds, which are agricultural pests. In this study, it was aimed to determine pesticide residues of the pickled vine leaves produced by industrial and traditional methods from Narince variety grown in Tokat. The amounts of pesticides in the pickled vine leaves were determined by the QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) method. As a result of pesticide analysis performed on pickled vine leaves, 13 different pesticide active ingredients were determined and 8 pesticides were found to be above the maximum residue limit (MRL) value. While, the highest substance amounts according to MRL values were cyhalothrin, pyraclostrobin, cypermethrin, boscalid, the most detected pesticide active ingredients were ethiofencarb, isocarbofos, cyhalothrin, respectively. As a consequence of the investigation, it was found that detected some pesticide residue amounts from pickled vine leaves were at a level that would pose a health risk.

Keywords: Method validation, pesticide residue, QuEChERS method, vine leaf

**VALİDE EDİLMİŞ BİR LC-MS/MS METODUYLA ASMA YAPRAKLARINDA
PESTİSİT KALINTILARININ BELİRLENMESİ**

ÖZ

Pestisitler tarım zararlıları olan böcek, kemirgen, mantar ve yabancı otlarla mücadele de kullanılan kimyasallardır. Bu çalışmada, Tokat ilinde yetiştirilen Narince çeşidinden endüstriyel ve geleneksel yöntemlerle üretilen salamura asma yapraklarında pestisit kalıntılarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Salamura asma yapraklarındaki pestisit miktarları QuEChERS (hızlı, kolay, ucuz, etkili, dayanıklı ve

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: semra.topuz@gop.edu.tr

☎: (+90) 356 252 1616/2891

☎: (+90) 356 252 1729

Tuba Zorlu Ünlü; ORCID ID: 0000-0001-8645-7228

Semra Topuz; ORCID ID: 0000-0002-9122-0839

Mustafa Bayram; ORCID ID: 0000-0002-8232-226X

Tarık Balkan; ORCID ID: 0000-0003-4756-4842

Cemal Kaya; ORCID ID: 0000-0001-8354-9565

güvenli) yöntemi ile belirlenmiştir. Salamura asma yapraklarında yapılan pestisit analizi sonucunda 13 farklı pestisit etken maddesi tespit edilmiş olup 8 pestisit maksimum kalıntı limiti (MRL) değerinin üzerinde bulunmuştur. MRL değerlerine göre en yüksek pestisit miktarları sihalotrin, piraklostrobin, sipermetrin, boskalid iken en çok tespit edilen pestisit maddeleri sırasıyla etiyofenkarb, izokarbofos, sihalotrin olmuştur. Araştırma sonucunda, salamura asma yapraklarında tespit edilen bazı pestisit kalıntı miktarlarının sağlık açısından risk oluşturacak düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Metot validasyonu, pestisit kalıntısı, QuEChERS metodu, asma yaprağı

INTRODUCTION

Grape cultivation and viticulture are geographically spread over a very wide area in the world. Grapes are grown between 20°-50° latitudes in the Northern Hemisphere and 20°-40° latitudes in the Southern Hemisphere (Dağlıoğlu, 2005).

Turkey has favorable conditions for viticulture in terms of mathematics, geographical location and climatic characteristics. According to the 2020 data of the Turkish Statistical Institute (TurkStat), there are 23136 thousand hectares of agricultural land in Turkey. Viticulture activity are carried out in 4010 thousand decares of this area. When these data are evaluated, it is determined that about 17% of the total cultivated agricultural area is viticulture (Anonymous, 2021). In Turkey, grapes are mostly consumed as table, dried and processed into wine. It is also used in the production of many products specific to Turkey such as raki, pickles, bastık, pekmez, tarhana (Cangi and Yağcı, 2017). Vine leaves, which are consumed fresh or in brine, which is one of the most important income sources, whose production and trade have been increasing in recent years, have even left the grape fruit in the background in some regions. Its production is mostly made in Manisa and Tokat provinces in Turkey. Especially in Tokat, Manisa and Mersin, the production of fresh and pickled vine leaves took the first place and grapes started to take place in the second plan as a source of income (Cangi and Yağcı, 2012). Due to its structure, vine leaves are not suitable for long-term storage and consumption. For this reason, it is processed with different methods and its shelf life is extended and marketed. Vine leaves can be frozen, dried, fermented (dry salted, in brine), canned and preserved without brine (Cangi and Yağcı, 2017).

Sultani Çekirdeksiz, Narince, and Yapıncak types are the most preferred ones for making pickled leaves. Narince variety is mostly found in Tokat and Amasya regions. Almost all of the vineyards in these provinces are of this variety. It is a white, thin-skinned and intensely flavored grape variety (Eren, 2014). The leaves of Narince cultivar are broad and angular, long-stalked, medium hairy, less sliced and medium hard (Demirhan, 2006).

Vine leaves have an important export potential for Turkey. In Turkey, approximately 13.5 million dollars of revenue is obtained from the export of vine leaves and 135 million dollars from the stuffed grape leaves (Kuşaksız and Çimer, 2019). As in all commercial agricultural products, irrigation and fertilization are carried out in order to increase the yield and obtain more products. Chemical pesticides are used in the fight against diseases and pests such as powdery mildew, mildew and vineyard scabies, which are common in the region (Bal et al., 2016; Pertot et al., 2016). Chemical applications are the most used method in the fight against various diseases in grape and vine leaves because they give quick and precise results (Hayar et al., 2021). Chemical control methods are harmless when used consciously and in a controlled manner. However, it is reported that it poses a threat to food safety with its unconscious or uncontrolled use (Şık et al., 2012). Recent research have revealed that even when the use of chemicals in agricultural production is under control, it can pose serious risks to humanity. Applications in food safety, environmental pollution, toxicology, and occupational health are just a few of the areas where pesticide residues are examined (Niessen, 2010). With the development of modern agriculture in terms of food safety, pesticide residue analysis has become a very important issue due to their intensive use. It is very

important to analyze and monitor pesticide residues and to evaluate the level of exposure of people to pesticides through their food consumption (Sannino et al., 2004). Since viticulture has an important place in the Tokat region, grapes and their products contain pesticide residues are one of the important problems (Cangi et al., 2014; Bal et al., 2016). Discussions about residue issues have begun as a result of the rise in vine leaf exports. In addition to these problems, residue declarations were transmitted in vine leaves from Turkey to Germany, Bulgaria and Austria in 2020-2022, and from Egypt to Cyprus, Austria, Germany, Bulgaria, Ireland and Netherlands in 2020 and 2021 (Balkan and Kara, 2023; Anonymous, 2023). Food products in Turkey are subject to inspection according to the Turkish Food Codex Maximum Residue Limits of Pesticides regulation. This regulation has been prepared taking into account the Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council on Maximum Residue Limits of Pesticides in Foods of Plant and Animal Origin, dated 23/2/2005. It is also updated according to the updates of the Council of the European Union. It is critical that analytical techniques for tracking pesticide residues in plants be developed or modified. QuEChERS is the most often used technique for determining pesticide residues, and it works well when combined with mass spectrometry detectors. It is highly recommended to use gas chromatography tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) and liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). As numerous pesticides can be analyzed using a single injection thanks to the great sensitivity and selectivity of GC-MS and LC-MS (Balkan and Karaağaçlı, 2023).

In the literature, it has been determined that vine leaves are rich in phenolic compounds and have several biological activities (Lacerda et al., 2016). However, pesticide residues used in vine cultivation can cause various health problems. In addition, pesticide residues create economic losses in terms of domestic and foreign markets (Gazioğlu-Şensoy et al., 2017).

Since viticulture has an important place in the Tokat region, pesticide residues on vine leaves are one of the important problems. In present research, it was aimed to detect pesticide amounts of pickled vine leaves, which are traditionally and commercially produced from the leaves of Narince grape variety in Tokat province in the Central Black Sea Region of Turkey, and to determine their compliance with the Turkish Food Codex Regulation on Maximum Residue Limits of Pesticides. For this purpose, it was worked up to determine pesticide residues from vine leaves by the QuEChERS method, which consists of three stages (extraction, clean-up and chromatography).

MATERIAL and METHODS

Sample collection

In the study, pickled vine leaves (15 samples) produced from Narince grape variety (peculiar to Tokat region) were used. These 15 brands dominate the majority of the Tokat market. Industrially produced vine leaves belonging to different brands were obtained from the Merkez district (Tokat province) and traditionally produced vine leaves were obtained from Erbaa and Niksar districts (Tokat province) (Figure 1). All samples were collected from the market in June 2020. Because, the vine leaves that are harvested and fermented for the first time in the year are released to the market in this month. For each brand, two samples of one kilogram each with the same production dates and batch numbers were obtained. Selection criteria for pickled vine leaves were based on the Narince variety grown in the Tokat region in 2020. Because the pickled vine leaves of the Narince variety, which are grown and processed in Tokat, have a significant market share in Turkey. The brine leaf samples produced industrially are expressed with the E code, and the traditionally produced samples with the G code. After the samples were obtained, they were stored at 4-8 °C under refrigerator conditions in the laboratory of the Tokat Gaziosmanpaşa University Faculty of Engineering and Architecture, Department of Food Engineering. Analyses were carried out in Tokat Gaziosmanpaşa University Food Engineering Department and Scientific and

Technological Research Application and Research Center laboratories.

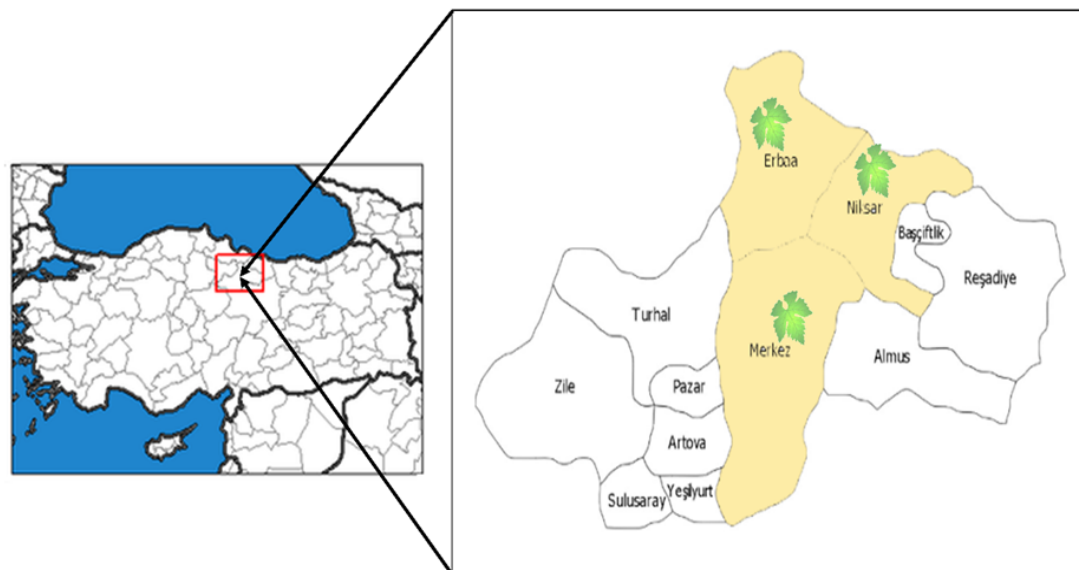


Figure 1. Sampling points on the map of Tokat province

Chemical materials and equipments

Ammonium formate, acetic acid and methanol were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Pesticide reference standards were supplied Dr. Ehrenstorfer Laboratories GmbH (Augsburg, Germany). Q-sep packages (magnesium sulfate anhydrous ($MgSO_4$), sodium acetate ($NaOAc$), ($MgSO_4+PSA$ (primary secondary amine)+C18) were purchased from Restek (France). Precise balance (Radwag, Poland), grinder (Premier, Turkey), distilled water instrument (Merck, Germany), LC-MS/MS device (Shimadzu, Japan) were used in various research stages.

Sample extraction and clean-up for pesticide residue analysis

243 different pesticides on pickled vine leaves were analyzed using the QuEChERS method. This method consists of three stages: extraction, clean-up and chromatography (Figure 2). With LC-MS/MS, each sample was examined in triplicate (Lehotay, 2007).

LC-MS/MS analyses

This research was conducted using a Shimadzu® LC-MS 8050 model. LC-MS/MS system equipped with UPLC: LC-30AD pump x 2, SIL-20A autosampler, DGU-20A3R degasser, CTO-20ACV column oven and triple quadrupole MS/MS detector. The LC column was made by GL Sciences Inc. (Tokyo, Japan) and was an Inertsil (ODS IV) C18 column (2.1 mm x 150 mm, 3 μm particle size). A gradient elution procedure was used to carry out the chromatographic separation, using eluents A and B made up of $dH_2O + 5$ mM ammonium formate and methanol + 5 mM ammonium formate, respectively. Analysis started with 5% eluent B, which was increased linearly to 60% in 3 min, 70% in 4 min, 80% in 6 min, 95% in 7 min. The gradient elution was started at 5 % of B (held 1 min), then increased linearly to reach 95% of B in 4 min (held 2 min), and decreased to initial stage (5% of B) at 6 min, holding until 9 min. There was a 0.40 mL/min flow and 10 μL injection volume was used. The autosampler was kept at 4 °C, and the column oven was kept at 35 °C. For MS/MS detection, the electro spray ionization (ESI)

interface was used positive polarity with the following; 3 kV of capillary voltage, 3V of extractor voltage, 350 °C of heat block temperature, 250 °C of desolvation line (DL) temperature, Nitrogen (N₂) as nebulizer gas of 2.9 L min⁻¹ and drying gas of 10 L min⁻¹. N₂ gas of 99% purity produced by a Peak Scientific nitrogen

generator (Billerica, MA, USA) was used in the ESI source and the collision cell. Collision induced dissociation (CID) gas is argon (Ar, 99.999%) of 230 kpa with flow rate 0.15 mL min⁻¹. LabSolution® software (version 4.91) was used to regulate all instrument parameters. (Balkan and Yılmaz, 2022).

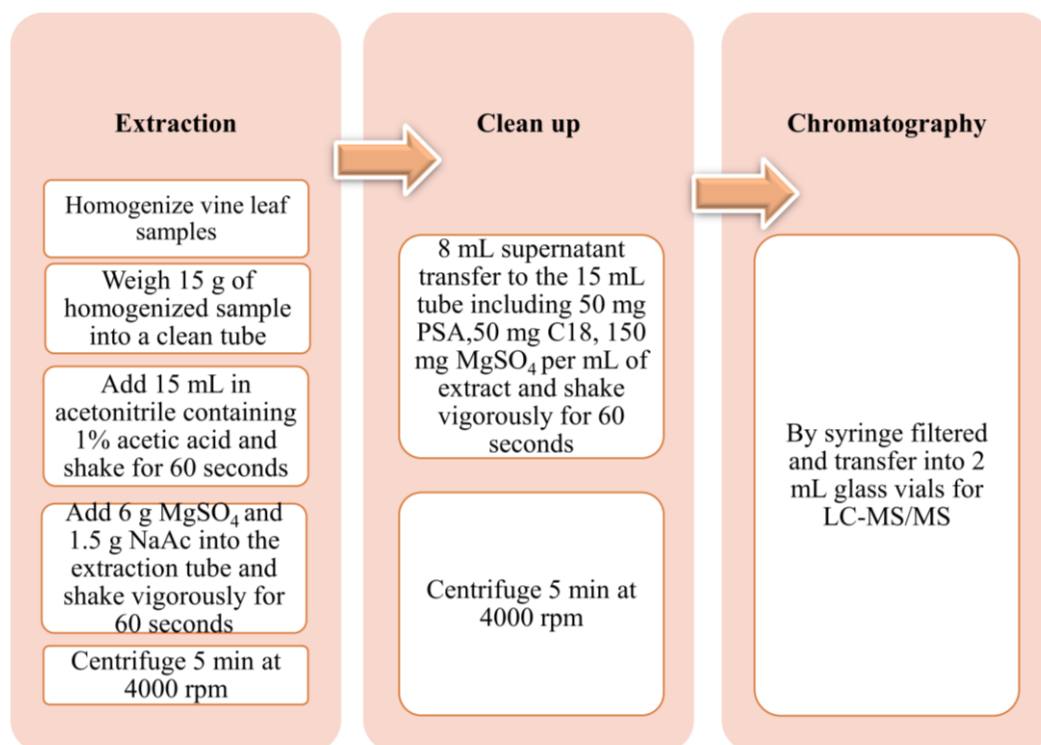


Figure 2. Analytical steps of the QuEChERS-AOAC Official Method 2007

Method validation

Using the European SANTE/11312/2021 Guideline (EC, 2021), the analytical method was internally validated by evaluating linearity, mean recovery, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), and precision (repeatability and within-laboratory reproducibility). Using matrix-matched calibration standards at six doses ranging from 5 to 200 g/kg, the method's linearity was evaluated. Linear regression coefficients (R^2) values of >0.99 were acceptable. After 10 mg/L of multistandard working solution was added to samples of blank matrix (grape leaves), 10 replicate analyses were carried out. Three times

the relevant standard deviation (SD) was used to determine the LODs. According to SANTE Guideline, the LOQs were determined as 10 times the SD of the 10 replicate analyses that can be quantified with respect to acceptable recoveries (between 70 and 120%) and repeatability ($RSD_r \leq 20\%$) (EC, 2021). The recovery of pesticides from matrix and precision of the method were determined by the analyses of blank samples fortified at two concentration levels (10 and 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$) in five replicates. On the same day, the repeatability (RSD_r) was assessed. On five consecutive days, the within-laboratory reproducibility (RSD_{WR}) test was run. The

precision values were expressed as the relative standard deviation (RSD) (Magnusson and Örnemark, 2014).

RESULTS and DISCUSSION

Method validation

In the validation studies, the blank samples were examined and checked for the presence of any of the target pesticides before being added to the analytical sections with the necessary quantity of pesticide mixtures. The 243 pesticides (acaricide, fungicide, herbicide, insecticide, and plant growth regulator) were utilized to validate the method. These pesticides are listed in Table 1. Total Ion Chromatogram (TIC) was given in Figure 3.

For all pesticides, linearity was achieved with coefficients of determination (R^2) better than 0.990. The mean recoveries (RM%) over the analytical ranged from 71.17 to 119.37 % as shown in Table 1. The within-laboratory repeatability ($RSD_r\%$) and reproducibility ($RSD_{WR}\%$) of the recovery results were used to evaluate the method's accuracy and precision (Table 1). Both $RSD_r\%$ and $RSD_{WR}\%$ were less than 20% in all cases, which is in accordance with the guidelines (EC, 2021). In studies conducted

on vine leaves, the recovery values of pesticides were found between 70% and 120% ($RSD_r\%$ and $RSD_{WR} \leq 20\%$) (Balkan and Kara, 2023; Hayar et al., 2021). Our study has some advantages over other studies. Hayar et al. (2021), and Balkan and Kara (2023) validated 33 and 9 pesticides in grape leaves, respectively. While 243 pesticides were validated on grape leaves in this study, much fewer pesticides were validated in published studies. In another study conducted on grapevine leaves, it was reported that 400 pesticides were recovered between 70% and 120%, but the RSDs of some pesticides exceeded 20%.

LOQ and LOD were lower than the corresponding default EU-MRLs for vine leaves rendering the method acceptable for checking compliance to MRLs. The values are listed in Table 1. The method's performance satisfied the EU SANTE/11312/2021 guideline's analytical quality control requirements, and as a result, it was considered appropriate for its intended use (EC, 2021). The method was used monitoring for pesticide residues in vine leaves (Balkan and Kara, 2023; Hamzawy, 2022; Hayar et al., 2021).

Table 1. Validation data of method

Pesticide	Spiking Level (0.01 mg kg ⁻¹)			Spiking Level (0.05 mg kg ⁻¹)					
	R ²	LOD	LOQ	RM	RSD _r	RSD _{WR}	RM	RSD _r	RSD _{WR}
		ug kg ⁻¹			(%)			(%)	
2,4-D	0.9998	1.87	6.23	100.99	17.23	8.96	103.30	7.47	8.23
Abamectin	0.9946	2.17	7.23	84.49	5.78	14.93	99.75	6.46	12.27
Acephate	0.9981	2.16	7.20	112.04	4.44	2.74	98.17	3.51	2.15
Acequinocyl	0.9980	2.15	7.15	89.71	11.28	10.24	83.93	12.14	12.75
Acetamiprid	0.9999	1.99	6.65	96.74	1.26	6.00	100.69	1.06	1.86
Acetochlor	0.9909	1.38	4.58	101.36	7.28	8.93	109.41	6.86	2.70
Acrinathrin	0.9987	1.00	3.32	96.03	11.02	13.63	99.59	4.90	10.65
Alachlor	0.9932	2.30	7.66	102.31	6.63	6.94	109.86	3.43	2.64
Aldicarb	0.9979	0.69	2.29	91.51	4.86	13.93	101.98	14.63	17.24
Aldicarb-sulfone	0.9999	1.69	5.64	104.63	2.88	2.28	107.06	1.84	0.78
Aldicarb-sulfoxide	0.9999	2.68	8.93	104.04	5.30	9.74	109.68	5.99	5.01
Ametoctradin	0.9999	2.85	9.50	81.40	1.00	4.19	96.24	0.64	2.27
Amitraz	0.9996	1.72	5.73	93.87	9.42	6.79	106.71	6.36	3.48
Atrazine	0.9962	0.91	3.02	75.33	4.76	5.67	110.15	1.51	0.83
Azinphos-ethyl	0.9909	1.46	4.86	89.92	2.50	7.79	114.85	12.86	7.13
Azinphos-methyl	0.9916	1.68	5.62	91.96	14.18	5.03	115.11	3.25	4.35
Azoxystrobin	0.9998	2.21	7.38	107.60	5.37	1.01	112.31	2.68	8.96

Table 1. continue

Pesticide	Spiking Level (0.01 mg kg ⁻¹)						Spiking Level (0.05 mg kg ⁻¹)		
	R ²	LOD	LOQ	RM	RSD _r	RSD _{WR}	RM	RSD _r	RSD _{WR}
		ug kg ⁻¹			(%)			(%)	
Benalaxyl	0.9967	1.50	5.00	103.80	3.52	14.57	99.15	1.16	2.69
Benfuracarb	0.9995	0.70	2.34	107.72	18.23	7.66	102.76	10.05	3.35
Bensulfuron-methyl	0.9964	2.53	8.42	88.68	9.59	4.08	111.81	3.00	3.36
Bifenazate	0.9970	2.76	9.19	91.92	3.82	8.56	85.84	4.89	3.42
Bitertanol	0.9977	1.45	4.83	86.46	6.62	3.63	105.54	2.43	4.71
Boscalid	0.9930	2.20	7.32	75.92	5.39	6.62	114.10	4.23	3.19
Bromuconazole	0.9995	1.64	5.47	93.15	8.86	6.80	109.43	4.24	6.22
Buprimate	0.9920	0.91	3.02	98.37	15.22	4.75	118.10	3.35	6.95
Buprofezin	0.9991	1.48	4.94	81.73	10.25	3.08	106.05	2.39	4.49
Butralin	0.9995	1.65	5.50	82.68	3.66	3.89	83.65	10.21	9.20
Butylate	0.9999	1.60	5.32	116.42	2.57	6.10	110.94	8.53	4.26
Carbaryl	0.9999	2.32	7.73	109.38	3.15	1.12	111.78	6.72	1.31
Carbendazim	0.9995	2.37	7.89	87.63	5.82	7.94	104.95	4.27	2.04
Carbofuran	0.9974	0.80	2.65	89.54	6.55	6.56	117.65	3.04	3.21
Carbofuran-3-hydroxy	0.9996	1.99	6.62	92.70	7.09	7.10	104.53	3.78	1.55
Carbosulfan	0.9992	2.43	8.11	107.75	1.98	11.14	97.74	2.01	3.58
Carboxin	0.9923	1.47	4.91	95.17	7.90	8.99	118.99	3.66	5.76
Carfentrazone-ethyl	0.9981	1.13	3.78	88.31	14.52	10.65	107.29	3.03	2.61
Chlorantraniliprole	0.9914	1.70	5.65	80.35	3.35	5.75	94.79	7.07	5.29
Chlorbufam	0.9968	1.65	5.51	78.57	13.53	11.79	115.99	8.39	6.90
Chlorfluazuron	0.9990	1.40	4.65	91.10	10.47	5.52	98.95	4.74	12.25
Chloridazon	0.9978	2.02	6.72	106.51	9.67	4.28	106.51	2.24	3.74
Chlorsulfuron	0.9962	2.79	9.31	76.85	3.04	9.10	103.05	2.34	3.03
Clethodim	0.9981	0.60	2.01	78.10	5.75	4.91	113.97	5.40	3.69
Clofentezine	0.9929	2.60	8.68	80.71	5.55	7.68	116.02	3.76	5.86
Clothianidine	0.9980	2.18	7.28	75.76	7.24	8.35	104.63	2.95	4.76
Cyantraniliprole	0.9998	1.20	4.00	103.31	12.50	5.01	110.34	1.67	4.84
Cycloate	0.9996	1.65	5.50	103.43	5.61	6.78	116.87	8.28	2.51
Cycloxydim	0.9964	1.60	5.34	94.59	7.45	7.79	102.23	1.68	4.15
Cyflufenamid	0.9915	1.28	4.27	91.60	7.89	8.16	102.02	4.78	6.63
Cyhalothrin	0.9950	2.18	7.26	103.16	2.24	4.47	93.09	15.25	5.84
Cymoxanil	0.9997	1.17	3.91	92.83	3.44	3.57	104.35	2.05	1.24
Cypermethrin	0.9996	0.69	2.30	75.13	5.03	3.05	103.84	2.39	17.10
Cyproconazole	0.9992	1.67	5.55	88.74	9.47	13.92	94.51	5.18	5.80
Cyprodinil	0.9983	1.44	4.80	87.64	6.90	8.23	97.86	6.55	4.50
Dazomet	0.9998	1.70	5.67	101.47	7.57	12.59	104.24	1.26	2.45
Deltamethrin	0.9984	2.20	7.32	94.77	7.69	3.78	112.78	4.86	2.24
Demeton-s-methyl	0.9974	2.73	9.11	91.04	14.94	15.70	106.76	9.27	5.15
Demeton-s-methyl-sulfone	0.9999	1.81	6.03	105.26	3.35	1.08	101.06	1.61	3.62
Desmedipham	0.9975	1.59	5.30	75.89	4.69	6.38	107.53	3.63	2.61
Diafenthiuran	0.9998	1.22	4.08	79.47	3.33	15.26	88.22	8.64	6.01
Diazinon	0.9998	2.54	8.47	93.15	13.25	13.37	107.77	1.92	1.15
Dichlorfos	0.9990	1.53	5.09	96.64	5.53	14.84	117.98	4.56	1.43
Diclofop -methyl	0.9964	1.74	5.81	94.40	10.84	15.75	107.24	5.60	8.55
Diclotophos	0.9999	1.21	4.04	97.37	3.58	4.54	99.75	3.17	2.28

Table 1. continue

Pesticide	Spiking Level (0.01 mg kg ⁻¹)						Spiking Level (0.05 mg kg ⁻¹)		
	R ²	LOD	LOQ	RM	RSD _r	RSD _{WR}	RM	RSD _r	RSD _{WR}
	ug kg ⁻¹			(%)			(%)		
Diethofencarb	0.9991	1.88	6.26	96.97	4.61	3.61	112.84	1.94	0.80
Difenacozole	0.9997	1.84	6.15	116.55	3.91	2.30	106.74	5.36	0.63
Diflubenzuran	0.9941	1.68	5.61	71.98	12.05	6.88	101.35	7.29	7.05
Dimethenamid	0.9984	1.75	5.83	83.15	3.90	5.51	110.52	3.98	3.10
Dimethoate	0.9993	0.62	2.05	91.28	5.04	0.99	111.73	1.88	3.20
Dimethomorph	0.9993	1.92	6.40	91.96	3.01	8.82	108.30	3.06	7.01
Diniconazole	0.9999	1.61	5.36	106.90	5.00	10.29	111.94	2.67	4.28
Dioxacarb	0.9995	1.18	3.92	93.48	2.05	4.02	104.33	2.36	4.40
Diphenamid	0.9996	0.64	2.12	96.02	5.92	7.44	109.20	1.78	2.41
Diphenylamine	0.9982	2.02	6.72	97.87	3.55	2.68	106.12	5.09	12.78
Diuron	0.9967	1.20	4.01	75.46	3.71	8.34	113.24	1.68	3.90
DMF	0.9982	0.82	2.72	93.20	6.28	3.01	107.89	2.49	1.91
Dodine	0.9990	0.80	2.66	79.77	4.18	12.24	81.98	8.67	2.03
Emamectin	0.9991	1.76	5.86	85.42	4.67	10.43	101.00	7.95	2.69
Emamectin benzoat	0.9995	0.81	2.70	95.89	2.88	15.20	87.86	6.94	13.94
EPN	0.9958	1.39	4.62	78.57	6.60	3.93	104.14	7.41	2.92
Epoxiconazole	0.9931	1.31	4.38	83.94	7.35	18.31	90.88	1.35	2.16
EPTC	0.9992	1.10	3.65	103.02	17.74	2.29	107.80	5.94	5.74
Ethiofencarb	0.9950	1.22	4.07	104.73	2.68	1.32	106.85	4.94	2.74
Ethion	0.9986	1.11	3.71	94.91	9.91	13.21	100.19	3.41	5.92
Ethirimol	0.9968	1.03	3.44	98.31	10.97	18.39	86.24	2.16	0.73
Etofenprox	0.9967	2.25	7.49	90.40	8.35	9.37	96.59	18.34	3.48
Ettoxazole	0.9999	0.92	3.08	85.20	6.92	8.30	78.82	2.07	3.70
Famaxadone	0.9952	2.07	6.90	90.48	10.84	8.01	109.85	9.46	6.80
Fenamidone	0.9983	0.99	3.31	80.05	7.63	5.16	105.51	3.30	2.47
Fenamiphos	0.9920	0.97	3.22	86.51	3.96	2.68	101.01	2.52	3.20
Fenamiphos- sulfone	0.9911	1.18	3.94	89.95	3.66	3.91	99.92	2.08	2.20
Fenamiphos- sulfoxide	0.9931	1.05	3.50	94.22	4.22	6.13	99.86	3.18	4.33
Fenarimol	0.9987	0.57	1.91	77.85	4.46	10.44	104.45	2.34	6.26
Fenazaquin	0.9991	1.26	4.20	102.06	2.71	8.31	108.07	3.52	1.20
Fenbuconazole	0.9956	1.23	4.11	84.94	4.62	10.07	109.45	4.48	6.47
Fenbutatin oxide	0.9991	0.91	3.04	83.73	3.64	4.85	91.15	2.83	6.78
Fenhexamid	0.9989	0.85	2.84	91.07	11.84	7.89	113.17	1.32	0.90
Fenoxycarb	0.9925	1.07	3.55	83.91	4.77	9.44	96.76	3.92	2.64
Fenoxypob-ethyl	0.9998	1.33	4.42	102.56	8.36	18.13	113.65	3.04	5.25
Fenpropathrin	0.9986	0.78	2.61	80.42	8.35	9.55	87.36	15.29	8.61
Fenproxymate	0.9994	1.63	5.45	88.35	0.89	5.37	79.56	6.81	6.87
Fenthion	0.9992	1.01	3.36	83.78	5.05	11.46	117.05	3.57	5.62
Fenthion-sulfone	0.9989	1.03	3.42	86.66	4.00	2.89	104.63	3.43	5.00
Fenthion-sulfoxide	0.9998	0.76	2.52	90.41	3.39	4.63	102.61	2.60	1.56
Fipronil	0.9998	0.90	3.00	79.09	3.25	10.02	79.85	4.13	10.05
Fipronil-sulfone	0.9997	1.45	4.83	81.28	5.19	7.60	95.42	2.68	6.84
Fluazifop-p-butyl	0.9976	0.55	1.82	77.13	6.02	8.62	108.20	10.91	7.75
Fluazinam	0.9999	1.21	4.04	104.64	2.79	4.15	91.17	7.12	5.36
Flubendiamide	0.9972	1.29	4.31	84.62	2.30	19.61	86.11	14.95	14.27

Table 1. continue

Pesticide	Spiking Level (0.01 mg kg ⁻¹)						Spiking Level (0.05 mg kg ⁻¹)		
	R ²	LOD	LOQ	RM	RSD _r	RSD _{WR}	RM	RSD _r	RSD _{WR}
	ug kg ⁻¹			(%)			(%)		
Fludioxinil	0.9999	0.46	1.55	84.90	12.33	9.86	88.21	2.26	1.49
Flufenoxuron	0.9977	0.83	2.78	82.70	2.33	10.93	98.31	7.66	8.96
Fluopicolide	0.9946	1.03	3.43	89.79	7.66	4.16	108.09	1.61	4.08
Fluopyram	0.9996	0.67	2.23	93.20	1.10	3.54	110.67	2.87	2.54
Fluquinconazole	0.9974	0.74	2.45	117.69	4.14	5.89	107.85	5.32	3.41
Flurochloridone	0.9990	0.96	3.19	106.12	14.91	6.35	110.67	3.93	10.57
Fluroxypyr	0.9995	0.98	3.27	89.60	5.94	13.13	113.68	5.52	12.32
Flusilazole	0.9948	1.60	5.34	78.35	7.94	18.40	106.90	3.90	5.56
Flutriafol	0.9990	1.60	5.32	88.79	8.10	7.39	101.11	5.04	4.14
Forchlorfenuron	0.9948	1.52	5.08	81.81	6.02	8.87	110.12	3.24	1.85
Formetanete hydrochloride	0.9940	1.22	4.06	89.69	7.99	12.19	102.42	7.70	6.23
Fosthiazate	0.9936	0.46	1.52	111.16	11.04	1.46	111.52	2.48	1.92
Furathiocarb	0.9994	0.86	2.88	87.84	3.88	4.18	107.99	3.52	1.43
Haloxypop-R-methyl	0.9931	1.42	4.75	104.01	5.71	14.62	92.37	2.75	4.21
Hexaconazole	0.9966	0.93	3.11	83.75	13.89	8.94	113.20	2.74	2.59
Hexaflumuron	0.9908	1.39	4.62	93.59	12.90	6.60	84.62	8.47	15.51
Hexythiazox	0.9988	0.86	2.85	92.92	2.54	11.91	98.74	3.81	8.13
Imazalil sulfate	0.9999	0.91	3.05	89.78	15.12	7.16	101.26	5.28	5.29
Imidacloprid	0.9999	0.99	3.31	94.40	7.36	1.53	100.46	2.67	1.03
Indoxacarb	0.9995	1.10	3.66	98.86	4.33	10.72	103.96	4.43	8.89
Iodosulfuron-methyl-sodium	0.9985	1.40	4.66	74.42	7.12	4.82	97.95	3.85	4.39
Ioxynil	0.9995	1.01	3.38	81.71	7.05	15.76	88.13	11.89	12.86
Isocarbofos	0.9921	1.60	5.34	96.02	12.56	14.42	94.18	4.54	7.40
Kresoxim-methyl	0.9974	0.69	2.28	80.38	5.90	6.52	106.16	2.23	2.42
Lenacil	0.9910	0.72	2.38	85.01	3.87	9.41	117.26	1.99	3.61
Linuron	0.9957	1.05	3.49	83.79	14.36	3.15	114.72	4.86	9.04
Lufenuron	0.9997	0.64	2.13	89.21	5.12	11.89	102.53	3.98	4.65
Malaoxon	0.9996	0.70	2.34	86.73	4.11	2.80	102.14	0.99	2.06
Malathion	0.9985	1.35	4.49	85.10	7.31	1.60	115.20	0.83	0.87
Mandipropamid	0.9991	1.86	6.18	86.03	6.43	10.09	110.17	2.71	4.06
Mecarbam	0.9908	1.66	5.53	85.01	1.66	12.07	107.82	1.75	1.94
Mepanipyrim	0.9993	0.97	3.23	93.39	3.15	2.03	106.70	3.19	3.05
Mepanipyrim-hydroxypropyl	0.9985	0.99	3.30	84.91	9.13	15.85	107.21	2.01	3.31
Metaflumizone	0.9994	0.75	2.49	79.94	2.36	2.30	102.27	1.37	1.86
Metalaxyl-M	0.9908	0.95	3.17	103.21	9.42	9.17	106.12	9.17	3.97
Metamitron	0.9998	1.09	3.64	108.63	6.67	14.33	97.31	3.80	0.56
Methacrifos	0.9990	0.64	2.15	106.91	4.25	10.06	103.67	4.93	2.99
Methamidophos	0.9999	0.80	2.68	108.10	12.48	12.72	117.56	3.40	2.81
Methidathion	0.9973	2.39	7.96	104.31	2.89	4.69	97.86	3.72	3.49
Methiocarb	0.9923	1.73	5.75	79.21	4.26	4.66	112.58	6.72	4.17
Methiocarb-sulfone	0.9998	0.85	2.82	100.57	1.99	10.79	119.37	2.29	4.68
Methiocarb-sulfoxide	0.9999	0.76	2.53	99.43	4.08	3.88	102.72	4.92	2.76
Methomyl	0.9999	1.03	3.42	104.35	4.67	3.47	104.01	1.56	2.84

Table 1. continue

Pesticide	Spiking Level (0.01 mg kg ⁻¹)						Spiking Level (0.05 mg kg ⁻¹)		
	R ²	LOD	LOQ	RM	RSD _r	RSD _{WR}	RM	RSD _r	RSD _{WR}
	ug kg ⁻¹			(%)			(%)		
Methoxyfenozide	0.9935	1.45	4.83	99.40	4.22	4.58	107.73	1.66	1.31
Metolachlor-S	0.9969	0.97	3.22	95.66	4.77	3.79	93.12	17.28	2.26
Metosulam	0.9961	1.02	3.39	82.98	4.75	5.98	110.28	2.36	1.23
Metrafenone	0.9935	1.07	3.55	74.44	12.84	7.94	100.79	0.93	3.22
Metribuzin	0.9998	0.81	2.72	93.61	19.82	15.24	108.02	2.54	1.62
Mevinphos	0.9913	0.77	2.56	106.41	6.55	7.48	112.98	2.62	2.92
Molinate	0.9977	0.96	3.21	102.65	3.48	12.48	111.34	12.79	2.70
Monocrotophos	0.9997	0.99	3.31	111.09	10.50	5.84	115.27	5.04	4.38
Monolinuron	0.9914	1.00	3.33	106.56	4.03	4.96	103.97	1.03	1.88
Myclobutanil	0.9962	0.94	3.12	107.50	8.67	9.70	78.52	4.54	7.93
Nicosulfuron	0.9959	0.80	2.67	86.20	14.95	7.17	113.34	4.12	6.49
Novaluron	0.9916	1.02	3.41	84.33	7.05	11.81	110.61	4.05	3.24
Nuarimol	0.9992	0.73	2.45	107.58	4.71	8.52	112.41	4.07	5.08
Omethoate	0.9996	0.96	3.20	102.49	6.53	19.01	117.54	3.78	2.22
Oxadixyl	0.9970	1.00	3.34	87.13	9.38	6.49	95.83	4.54	0.68
Oxamyl	0.9998	1.07	3.55	73.78	9.85	6.19	112.39	2.18	3.14
Oxycarboxin	0.9997	1.67	5.57	97.10	1.48	1.78	104.05	1.16	1.20
Oxydemeton-methyl	0.9999	1.20	3.99	108.39	1.28	3.15	104.20	1.69	2.44
Paclobutrazol	0.9982	2.01	6.69	100.30	8.19	14.16	101.02	2.82	4.84
Paraoxon-ethyl	0.9916	1.16	3.88	80.22	5.60	2.56	107.76	3.18	3.18
Paraoxon-methyl	0.9989	0.84	2.79	91.02	2.94	16.72	93.37	2.44	2.40
Pencycuron	0.9993	0.77	2.56	92.77	13.35	10.31	109.53	3.76	2.39
Pendimethalin	0.9990	0.94	3.13	76.09	9.30	9.22	111.09	6.24	4.23
Permethrin	0.9996	0.56	1.86	84.27	2.54	1.84	77.00	2.75	6.12
Phenmedipham	0.9979	0.87	2.91	93.24	7.55	16.14	102.23	2.58	19.25
Phorate	0.9981	1.70	5.66	82.92	2.66	5.80	98.23	3.75	3.39
Phorate-sulfone	0.9904	1.09	3.63	92.18	3.11	9.74	110.85	3.32	3.43
Phorate-sulfoxide	0.9971	0.55	1.83	90.37	7.54	7.48	80.43	5.44	4.24
Phosalone	0.9968	0.71	2.35	116.49	2.71	1.77	102.74	2.50	1.41
Phosmet	0.9936	0.75	2.50	91.40	6.66	11.52	116.71	3.94	9.52
Phosphamidon	0.9998	0.94	3.12	89.34	8.12	7.01	113.75	1.33	1.30
Pirimicarb-desmethyl	0.9997	1.09	3.64	93.22	9.61	3.24	103.08	2.51	1.35
Primicarb	0.9941	1.11	3.69	88.52	3.70	3.83	104.34	1.22	2.88
Primiphos-ethyl	0.9996	0.76	2.53	94.90	15.77	4.70	84.27	6.24	5.63
Primiphos-methyl	0.9985	0.92	3.05	98.94	9.51	5.85	106.08	1.78	2.75
Prochloraz	0.9979	0.67	2.22	82.45	8.63	6.08	106.53	3.19	4.39
Profenefos	0.9901	0.89	2.97	81.56	5.37	3.83	104.04	8.42	3.98
Profoxydim-lithium	0.9994	0.56	1.88	101.12	2.16	12.88	99.50	4.93	5.64
Promecarb	0.9976	1.06	3.53	117.98	3.65	4.93	113.17	3.48	4.66
Prometryn	0.9998	0.79	2.62	78.11	5.50	1.99	111.42	3.01	1.88
Propaquizafob	0.9984	0.76	2.55	115.46	6.24	5.91	112.52	5.87	3.46
Propargite	0.9999	0.66	2.21	93.68	13.86	5.89	107.01	6.56	5.77
Propazine	0.9984	0.94	3.12	106.78	6.43	6.88	100.00	4.89	3.89
Propiconazole	0.9935	0.54	1.79	86.93	4.07	1.38	115.16	3.09	1.72
Propoxur	0.9947	0.79	2.62	85.25	1.35	12.66	109.85	4.97	1.03
Propyzamide	0.9948	0.75	2.49	77.86	10.30	2.74	114.51	1.21	2.33

Table 1. continue

Pesticide	Spiking Level (0.01 mg kg ⁻¹)						Spiking Level (0.05 mg kg ⁻¹)		
	R ²	LOD	LOQ	RM	RSD _r	RSD _{WR}	RM	RSD _r	RSD _{WR}
	ug kg ⁻¹			(%)			(%)		
Prothiophos	0.9992	0.82	2.73	82.99	5.79	11.16	112.61	1.89	16.28
Pymetrozine	0.9987	0.96	3.19	83.39	4.75	7.83	74.39	5.74	8.46
Pyraclostrobin	0.9999	0.68	2.25	103.54	4.69	2.92	86.05	1.58	0.75
Pyrazophos	0.9964	1.00	3.34	113.86	1.76	3.99	119.30	0.35	2.45
Pyridaben	0.9996	0.94	3.13	77.47	2.04	5.55	109.65	2.79	2.43
Pyridaphenthion	0.9992	0.86	2.87	101.30	5.56	4.73	107.48	5.23	7.20
Pyridate	0.9999	0.77	2.57	113.32	4.45	7.91	107.49	0.88	1.39
Pyrimethanil	0.9998	0.89	2.97	93.14	5.59	11.40	92.44	4.47	5.57
Pyriproxyfen	0.9999	0.91	3.05	110.11	5.69	5.99	106.83	3.20	3.93
Quinalphos	0.9976	1.26	4.19	87.07	6.23	5.34	77.24	6.25	1.06
Quizalofop-ethyl	0.9972	0.89	2.97	98.61	12.88	6.73	116.89	3.90	4.33
Rimsulfuron	0.9995	1.87	6.23	77.71	8.93	16.06	111.67	3.87	3.46
Sethoxydim	0.9901	0.79	2.63	98.48	4.35	10.63	109.30	4.67	6.24
Simazine	0.9996	0.81	2.69	94.50	1.33	4.94	108.74	3.99	1.35
Spinosyn A	0.9998	0.64	2.12	100.62	6.06	10.35	105.69	5.60	1.37
Spinosyn D	0.9997	0.77	2.57	106.95	7.45	4.03	116.87	4.04	5.54
Spirodiclofen	0.9997	1.11	3.71	110.63	3.81	9.75	118.72	4.05	7.95
Spiroxamine	0.9999	0.76	2.52	103.98	5.66	4.20	96.32	6.99	9.78
Sulfoxaflo	0.9999	1.40	4.67	96.43	6.17	12.64	90.62	5.46	6.60
Tebufenozide	0.9957	1.38	4.60	105.64	5.66	3.79	104.40	5.39	3.36
Tebufenpyrad	0.9968	0.84	2.79	104.89	4.67	5.10	99.83	3.06	5.35
Teflubenzuron	0.9995	0.72	2.40	102.94	6.81	4.21	111.11	8.82	13.03
Tepraloxymid	0.9995	1.46	4.87	78.21	6.59	6.55	92.56	5.81	18.45
Terbutryn	0.9985	2.40	7.99	85.87	5.67	11.84	79.51	6.31	6.77
Terbutylazine	0.9977	1.22	4.06	81.41	7.22	3.69	106.89	1.51	0.40
Tetraconazole	0.9998	1.64	5.47	79.96	7.53	11.29	110.38	3.83	6.06
Tetramethrin	0.9959	0.48	1.61	112.37	4.45	5.02	110.74	2.18	3.58
Thiabendazole	0.9971	1.49	4.96	77.16	5.05	10.35	107.75	2.73	5.81
Thiacloprid	0.9987	0.78	2.59	116.17	4.48	4.26	108.97	1.10	1.17
Thiamethoxam	0.9983	1.37	4.58	71.17	4.92	3.63	97.79	3.49	1.61
Thifensulfuron-methyl	0.9999	0.82	2.74	100.34	3.82	11.06	103.13	1.42	1.56
Thiodicarb	0.9949	0.74	2.48	105.86	3.94	2.70	104.13	1.98	1.91
Tolclofos-methyl	0.9979	1.79	5.98	97.66	11.37	4.66	89.27	3.65	5.09
Tolfenpyrad	0.9998	1.07	3.55	101.91	16.78	12.78	110.65	5.86	4.53
Tolyfluand	0.9917	1.19	3.97	99.00	10.26	5.58	110.38	3.25	4.05
Tralkoxydim	0.9947	0.86	2.87	91.86	3.57	4.45	111.64	8.03	10.60
Triadimefon	0.9905	0.85	2.84	103.78	10.47	11.79	111.19	3.05	1.56
Triadimenol	0.9959	0.64	2.14	80.91	7.87	8.64	109.39	2.68	4.21
Tri-allate	0.9984	1.68	5.60	96.47	9.75	9.24	97.21	10.80	2.44
Triasulfuron	0.9984	1.62	5.41	83.07	7.43	5.32	97.61	5.18	2.14
Triazophos	0.9987	0.73	2.42	92.56	5.06	4.10	93.15	4.39	4.40
Tribenuron-methyl	0.9994	0.97	3.22	86.09	9.39	12.19	97.10	2.64	3.65
Trichlorfon	0.9986	1.42	4.72	79.52	0.74	2.63	100.91	4.16	2.80
Trifloxystrobin	0.9983	1.28	4.25	97.27	4.21	19.26	110.22	1.91	3.52
Triflumizole	0.9989	1.66	5.53	90.98	2.25	9.96	94.95	1.18	4.09
Triflumuron	0.9924	1.77	5.90	92.34	2.90	2.38	106.21	2.00	4.35
Triticonazole	0.9999	0.94	3.13	93.40	4.03	12.82	108.33	7.45	5.41

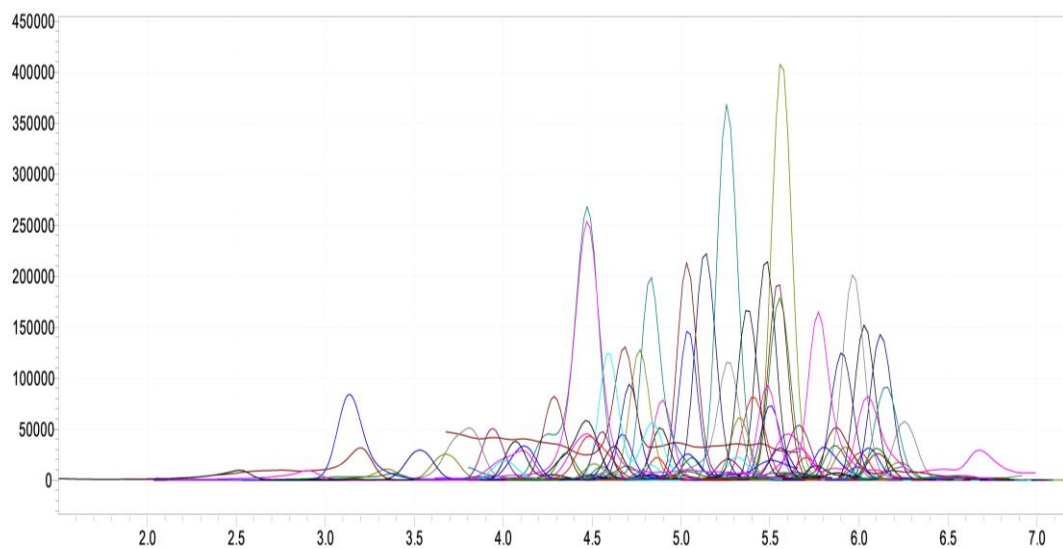


Figure 3. Total Ion Chromatogram (TIC) of pesticides

Pesticide residue concentrations in brined vine leaves

In the study, 13 of 243 pesticide active ingredients analyzed were determined in pickled vine leaves. In addition, 8 pesticide active ingredients were determined above the MRL value (Table 2). In the study, at least 1 pesticide residue was found in each of the 15 samples. Ethiofencarb is used as an insecticide and acaricide (Anonymous, 2012). Ethiofencarb was on the list of banned pesticides whose use has been terminated in Turkey according to the Turkish Food Codex Regulation on Maximum Residue Limits of Pesticides. Boscalid, carboxin, cyhalothrin, metalaxyl-m, methacrifos, pyraclostrobin, pyrimethanil, triconazole fungicide; cypermethrin, ethiofencarb, isocarbofos, methacrifos are pesticides used as insecticides (Anonymous, 2016). Cypermethrin is used against the cluster moth, and cyhalothrin is used against *Lobesia botrana* and *Otiorynchus sulcatus*. While metalaxyl m is used to combat vineyard mildew, metrafenone is used against vineyard powdery mildew. Pyraclostrobin is used against vineyard mildew and vineyard powdery mildew, and pyrimethanil is used against gray mold (Anonymous, 2015). Carboxin is used for *Pythium* spp. in wheat, barley and cotton. Hexythiazox is a acaricide used

against red spider in viticulture (Anonymous, 2015).

The highest pesticide residues according to MRL values were cyhalothrin, pyraclostrobin, cypermethrin, boscalid. Their residues were 0.316 mg/kg, 0.294 mg/kg, 0.276 mg/kg and 0.215 mg/kg, respectively. The most common pesticide for all samples were ethiofencarb, isocarbofos, cyhalothrin, respectively. Although banned, ethiofencarb (in all samples), hexythiazox (in one sample), methacrifos (in three samples), isocarbofos (in six samples) were detected in brine leaf samples. Boscalid (in three samples), cyhalothrin (in five samples), metrafenone (in one sample), pyrimethanil (in one sample) were found to be higher than the MRL values, respectively. The samples with the highest pesticide residues are E1 and E2 samples, while the samples with the least pesticide residues are E6 and G3 samples (Table 2).

Bakırcı et al. (2019) analyzed 232 vine leaf samples from the province of Manisa (Turkey) in 2017 for pesticide residues using QuEChERS method and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). As a result of the study, 42 different pesticide types and 210

different results were obtained. 92 of the detected pesticide active ingredients were found above the MRL value. While the highest residue was cyhalothrin, the most detected pesticide was metalaxyl (Bakırcı et al., 2019). In another study, residue levels of vine leaves treated with cold brine (26.5 °C) and hot brine (80 °C) after 4 months of fermentation were investigated. Fungicides with active ingredients of tebuconazole, metrofenone and pyrimethanil were noted on the leaves. According to the results of the research, it was reported that the residue level in the vine leaves applied with hot and cold brine decreased, while the residue level was very

high in the leaves without brine (Kuşaksız and Çimer, 2019). El-Din et al. (2018) investigated 26 pesticide residues in 96 grape leaves samples collected from Egyptian local markets. It was discovered that every pesticide residue found in leaf samples exceeded the MRLs. Another study, 78 samples of grape leaves were gathered from local markets of Egyptian. More than 400 pesticide residues in grape leaves were identified using a QuEChERS technique, followed by GC-MS/MS and LC-MS/MS. The results showed that 36 pesticide residues from various chemical groups were found in 78 samples over the MRLs (Hamzawy, 2022).

Table 2. Pesticide values of pickled vine leaves (mg/kg)

Pesticide	MRL* ***	E1**	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	G1	G2	G3
Boscalid	0.01	---	0.215	---	0.040	---	---	---	---	---	0.035	---	---	---	---	---
Carboxin	0.01***	0.007	0.007	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Cyhalothrin	0.02	0.09	0.053	0.138	---	---	---	---	---	---	0.109	---	---	---	0.316	---
Cypermethrin	0.05	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0.276	---
Ethiofencarb	****	0.011	0.009	0.009	0.009	0.008	0.009	0.009	0.008	0.008	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009
Hexythiazox	0.5	---	---	---	0.018	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Isocarbofos	****	0.029	---	0.016	0.045	0.054	---	---	0.052	---	0.015	---	---	---	---	---
Metalaxyl M	0.05	---	0.027	0.045	---	---	---	---	0.034	---	---	---	---	---	---	---
Methacrifos	****	0.007	0.006	---	---	---	---	0.011	---	---	---	---	---	---	---	---
Metrafenone	0.01	---	---	---	---	---	---	---	0.039	---	---	---	---	---	---	---

Pyraclostrobin	0.02	:	:	:	:	:	:	:	:	:	0.294	:	0.128	:	:	:
Pyrimethanil	0.01	:	:	:	0.062	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
Triticonazole	0.01***	0.004	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:

* MRL: Maximum residue limit

** Pickled vine leaf samples (E1, E2, E3....G1,G2...)

*** If there is no MRL or LOD in the evaluation section of clause 6 for the relevant pesticide in the product in Annex-1, 0.01 mg/kg value is used as MRL for processed food.

**** There is no active ingredient in the Turkish Food Codex Regulation on Maximum Residue Limits of Pesticides.

CONCLUSION

The production of pickled vine leaves, which has an important place in markets in Turkey, has experienced a downsizing in the domestic and foreign markets due to pesticide residues. The grape leaf of the Narince variety is a geographical indication registered product that has a high economic contribution to the region and has an important place in the promotion of the region. However, the fact that vine leaves are a secondary product after grapes has led to the absence of established quality standards for the processing of vine leaves. This situation causes the end product with different characteristics and variable quality standards. Although studies on vine leaves have been carried out in recent years, the resources are still insufficient.

Pesticide active ingredients were found in pickled vine leaves above the maximum residue amounts allowed in the Turkish Food Codex Regulation on Maximum Residue Limits of Pesticides. In addition, some pesticides detected are included in the list of banned pesticides whose use has been terminated according to the Turkish Food Codex Regulation on Maximum Residue Limits of Pesticides. When the obtained data is evaluated, due to the lack of certain standards in the production of pickled vine leaves, serious differences were observed in quality parameters. Determination of standard production parameters for the production of pickled vine leaves is important in terms of establishing a

reliable market. It is also seen that pesticide residues pose a serious risk for vine leaves.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Tokat Gaziosmanpaşa University Scientific Research Projects Unit (TGOÜ-BAP) with the project No: 2019/19. We would like to thank TGOÜ-BAP for funding the study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Tuba ZORLU ÜNLÜ: Sample collection, Analysis, Writing original manuscript. Semra TOPUZ: Methodology, Writing original manuscript, Reviewing & editing. MUSTAFA BAYRAM: Supervision, Evaluation, Writing-review & editing. Tarık BALKAN: Methodology, Analysis. Cemal KAYA: Writing-review & editing.

REFERENCES

- Anonymous (2012). Ülkemizde Bitki Koruma Ürünleri ile İlgili Yapılan Yasaklamalar. Available at <https://isparta.tarimorman.gov.tr> (Accessed 09.07.2021).
- Anonymous (2015). Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Bitki Koruma Ürünleri Daire Başkanlığı. BKÜ veri tabanı, Zararlı Organizma Detay. Available at <https://bku.tarimorman.gov.tr> (Accessed 02.06.2019).

- Anonymous (2016). Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği- Ek 2.
- Anonymous (2021). Bitkisel Üretim Verileri. Available at <https://www.tarimorman.gov.tr>. (Accessed 13.06.2021).
- Anonymous (2023). Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Portal Search Page. Available at <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/>. (Accessed 19.08.2023).
- Bakırcı, G.T., Çınar, E., Karakaya, S. (2019). Manisa ilinden toplanan asma yapraklarında pestisit kalıntıları. *Academic Food Journal*, 17(1): 55-60.
- Bal, H.S.G., Çallı, A., Yavuz, H., Buğancık, E. (2016). Salamuralık Yaprak Üreten Bağlarda Kimyasal İlaç Kullanımı, Kalıntı Sorunu ve Üretici Bilinci: Tokat Kazova. In: 12th National Agricultural Economics Congress, May 25-27, Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Isparta, Türkiye, pp. 801-808.
- Balkan, T., Yılmaz, Ö. (2022). Method validation, residue and risk assessment of 260 pesticides in some leafy vegetables using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 384: 132516.
- Balkan, T., Kara, K. (2023). Dissipation kinetics of some pesticides applied singly or in mixtures in/on grape leaf. *Pest Management Science*, 79(3): 1234-1242.
- Balkan, T., Karaağaçlı, H. (2023). Determination of 301 pesticide residues in tropical fruits imported to Turkey using LC-MS/MS and GC-MS. *Food Control*, 147: 109576.
- Cangi, R., Yağcı, A. (2012). Iğdır yöresinde salamuralık asma yaprağı üretim imkanları. *Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology*, 2: 9-14.
- Cangi, R., Yanar, Y., Yağcı, A., Topçu, N., Sucu, S., Dülgeroğlu, Y. (2014). Narince üzüm çeşidinin yapraklarında farklı fungusit uygulamaları ve salamuralık yöntemlerine bağlı olarak fungusit kalıntı düzeylerinin belirlenmesi. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University*, 31(2): 23-30.
- Cangi, R., Yağcı, A. (2017). Bağdan sofraya yemeklik asma yaprak üretimi. *Neşebir Journal of Science and Technology*, 6: 137-148.
- Dağlıoğlu, E. (2005). Kilis ili Merkez ilçede üzüm yetiştiren işletmelerin ekonomik analizi. Msc thesis, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, 89 p.
- Demirhan, Y., 2006. Narince ve Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşitlerinden salamuralık asma yaprağı üretimine giberellik asit ve humik asit uygulamalarının etkileri. Msc thesis, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Konya, Türkiye, 83 p.
- El-Din, A.M.S., Azab, M.M., Shalaby, M.A. (2018). Pesticide residues monitoring of organophosphorus and carbamates in grapes in three Egyptian governorates. *Archives of Current Research International*, 12(1): 1-12.
- Eren, R. (2014). Türkiye’de yetiştirilen şaraplık üzümler ve üretilen şaraplar. Available at <https://www.slideshare.net> (Accessed 15.06.2019).
- European Commission (2021). SANTE/11312/2021 Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. 1-55.
- Gazioğlu-Şensoy, R.İ., Ersayar, L., Doğan, A. (2017). Van ilinde satılmakta olan yaş ve kuru üzümler ile salamuralık asma yapraklarında pestisit kalıntı miktarlarının belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(3): 436-446.
- Hamzawy, A.H. (2022). Residual pesticides in grape leaves (*Vitis vinifera* L.) on the Egyptian market and human health risk. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 15(1): 62-70.
- Hayar, S., Zeitoun, R., Maestroni, B.M. (2021). Validation of a rapid multiresidue method for the determination of pesticide residues in vine leaves. Comparison of the results according to the different conservation methods. *Molecules*, 26(4): 1176.

- Kuşaksız, E., Çimer, H. (2019). Asma (*Vitis vinifera* var. Sultani çekirdeksiz) yapraklarında farklı salamura ortamlarının pestisit kalıntı düzeylerine etkisi. *Journal of Agriculture Faculty of Ege University*, 56(3): 267-272.
- Lacerda, D.S., Costa, P.C., Funchal, C., Dani, C., Gomez, R. (2016). Benefits of vine leaf on different biological systems. *Grape and Wine Biotechnology*, 19: 125-143.
- Lehotay, S.J. (2007). Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 90(2): 485-520.
- Magnusson, B., Örnemark, U. (2014). Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available <http://www.eurchem.org>. (Accessed 09.01.2021).
- Niessen, W.M.A. (2010). Group-specific fragmentation of pesticides and related compounds in liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(25): 4061-4070.
- Pertot, I., Caffi, T., Rossi, V., Mugnai, L., Hoffmann, C., Grando, M.S., Gary, C., Lafond, D., Duso, C., Thiery, D., Mazzoni, V., Anfora, G. (2017). A critical review of plant protection tools for reducing pesticide use on grapevine and new perspectives for the implementation of IPM in viticulture. *Crop Protection*, 97: 70-84.
- Sannino, A., Bolzoni, L., Bandini, M. (2004). Application of liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry to the determination of a new generation of pesticides in processed fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1036(2): 161-169.
- Şık, B., Küçükçetin, İ.Ö., ErKaymaz, T., Yıldız, G. (2012). Gıda Güvenliği Açısından Endokrin Sistem Bozucu Pestisitler. *Academic Food Journal*, 10(2): 89-95.

SOYA PROTEİNİ İZOLATI-FRUKTOZ GLİKASYON KONJUGATLARININ YAPISI VE BAZI TEKNOFONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ULTRASON İŞLEMİNİN ETKİSİ

Mustafa Onur Yüzer*

Bayburt Üniversitesi, Aydıntepe Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Bayburt, Türkiye

Geliş/Received: 10.07.2023; Kabul /Accepted: 04.12.2023; Online baskı /Published online: 06.12.2023

Yüzer, M.O. (2023). Soya proteini izolatu-fruktoz glikasyon konjugatlarının yapısı ve bazı teknofonksiyonel özellikleri üzerine ultrason işleminin etkisi. GIDA (2023) 48 (6) 1351-1365 doi: 10.15237/gida.GD23079

Yüzer, M.O. (2023). Effect of ultrasound process on the structure and some techno functional properties of soy protein isolate-fructose glycation conjugates. GIDA (2023) 48 (6) 1351-1365 doi: 10.15237/gida.GD23079

ÖZ

Bu çalışmada, konjugatlar ultrasonik işlemden (130 W, 20 kHz) 5 ve 15 dakika sonra soya protein izolatu (SPI) ve fruktoz (F) sulu dispersiyonlarının ısıtılıp glikasyon reaksiyonu (95 °C, 30 dakika) gerçekleştirilmesiyle hazırlanmıştır. Ultrasonik ön işlemin, elde edilen SPI-F konjugatlarının yapı ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Serbest amino grupları, aşılama derecesi ve FT-IR analizleri SPI-F konjugatlarının oluşumunu doğrulamıştır. Ultrasonik işlem glikasyon reaksiyonunu teşvik etmiştir. Konjugatların yapısal ve fizikokimyasal özelliklerindeki değişiklikler SPI'nin su tutma ve yağ tutma özelliklerinin düşmesine neden olsa da emülsifikasyon özelliklerini geliştirmiştir. Bu nedenle, emülsifikasyon özelliklerini kontrol etmek için soya proteini glikasyon konjugatlarının yapısını değiştirmek için optimum bir ultrasonik ön işlem kullanılabilir. Bu bulguların, gıda emülsiyonu ve diğer sistemlerde glikasyonla modifiye edilmiş protein-sakarit ikili sistemlerinin uygulanması için yararlı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Soya protein izolatu, fruktoz, glikasyon, ultrason

EFFECT OF ULTRASOUND PROCESS ON THE STRUCTURE AND SOME TECHNO FUNCTIONAL PROPERTIES OF SOY PROTEIN ISOLATE-FRUCTOSE GLYCATION CONJUGATES

ABSTRACT

In this study, conjugates were prepared by heating aqueous dispersions of soy protein isolate (SPI) and fructose (F) for 5 and 15 min after ultrasonic treatment (130 W, 20 kHz) and by carrying out a glycation (95 °C, 30 min). Structural and functional properties of the resulting SPI-F conjugates were investigated to determine effect of the ultrasonic pretreatment. The formation of SPI-F conjugates was confirmed by free amino groups, degree of grafting and FT-IR analyses. The glycation reaction was enhanced by ultrasound. Although changes in the structural and physicochemical properties of the conjugates impaired the water- and oil-holding properties of SPI, its emulsifying properties were improved. Therefore, the structure of soy protein glycation conjugates can be modified to control their emulsification properties by using an optimal ultrasonic pretreatment. It can be said that these results are useful for application of glycation-modified protein-saccharide binary systems in food emulsions and other systems.

Keywords: Soy protein isolate, fructose, glycation, ultrasound

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author

✉: mustafaonuryuzer@gmail.com

☎: (+90) 458 311 4426-3021

Mustafa Onur Yüzer; ORCID no: 0000-0002-8192-2298

GİRİŞ

Bitkisel proteine yönelik pazar eğilimi, son yıllarda önemli bir artış göstermiştir. Bu eğilimin, diğer faydalı sağlık iddiaları ve tüketicilerin diyet yaşam tarzlarındaki değişikliklerin yanı sıra, hayvansal proteinlere kıyasla bitkisel protein üretimiyle ilişkili güçlü sürdürülebilirlik faktörleri ve daha az çevresel etki nedeniyle önümüzdeki yıllarda da devam etmesi beklenmektedir. Pazar talebini karşılamak için, yerini alabilecekleri geleneksel hayvansal protein bileşenlerine kıyasla rakip veya gelişmiş kalite ve işlevselliğe sahip bitki bazlı protein bileşenlerine ihtiyaç bulunmaktadır (Akharume vd., 2021). Soya proteini gibi protein kaynağı olarak vegan ürünü kullanma eğilimi, sağlıklı diyet tercihleri ve gıda hassasiyetleri nedeniyle artmaktadır. Soya fasulyesi, ekonomik değeri yüksek olan çok yönlü bir baklagildir. 2000 yılı aşkın bir süredir özellikle Asyalılar tarafından tüketilen bu protein kaynağı, günümüzde Batılılar arasında da popüler hale gelmektedir (Djuardi vd., 2020). Soya proteini gıda endüstrisinde önemli potansiyel uygulamalarla iyi çözünürlük, emülsifikasyon ve antioksidan özelliklere sahiptir. Soya proteini izolatu (SPI), et ürünleri, içecekler, bebek formülleri ve gıda takviyeleri gibi çeşitli gıda ürünlerinde bileşen olarak kullanılmaktadır (Singh vd., 2008). Fakat soya proteininin yüzey aktivitesi ve emülsifiye edici özellikleri, moleküler yapısı nedeniyle hala sınırlı kabul edilmektedir. Soya proteininin modifikasyonu, daha iyi arzu edilen yapı, gelişmiş fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikler elde etmeye yöneliktir (Djuardi vd., 2020). Bu problemlerin üstesinden gelmek ve SPI'yi verimli bir şekilde kullanmak için proteinler üzerinde bazı modifikasyonlar gereklidir.

Bitkisel proteinlerin besin çekiciliği önemli olsa da gıda ürünlerine görünüm, tat, renk, koku, doku ve hatta yapı kazandırmak için gıda formülasyonunda içerik olarak kullanımlarını kolaylaştıran fonksiyonellikleri de aynı derecede önemlidir (Akharume vd., 2021). Çözünürlük, şişme, jelleşme kapasitesi ve emülsifiye etme yeteneği gibi gıda proteinlerinin fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesi, gıda bilimi ve gıda endüstrisindeki en büyük endişelerden biridir. Proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için hidroliz, asetilasyon, asitleştirme,

esterleştirme ve enzimatik çapraz bağlama gibi fiziksel, kimyasal ve enzimatik yöntemler dahil olmak üzere çeşitli yöntemler vardır. Ancak kimyasal yöntemlerin çoğu toksik bileşenler içerdiğinden tercih edilmemektedir. Bu nedenle Maillard reaksiyonunun ilk basamağı olarak da bilinen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonu, herhangi bir kimyasal katalizör kullanmadan proteinlerin indirgeyici şekerlerle konjugasyonu ile protein modifikasyonu açısından son 15 yılda popülerlik kazanmaktadır (Namlı vd., 2021).

Maillard reaksiyonunun ilk basamağı olan glikasyon, proteinlerin özelliklerini değiştirmek için kullanılabilir. Glikasyon, proteinlerin serbest amino grupları ve indirgen şekerler arasında meydana gelen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarının ilk adımıdır. Glikasyon sadece proteinlerin fonksiyonel özelliklerini iyileştirmekle kalmayıp aynı zamanda nihai ürünün görünümünü ve tadını da etkilediğinden gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Taş vd., 2021). Bu reaksiyon, gıda proteinleri için diğer kimyasal modifikasyon türlerinden daha üstündür ve gıda endüstrisinde protein modifikasyonu için umut verici bir uygulama teşkil etmektedir (Liu vd., 2012). Diğer kimyasal modifikasyon teknikleri ile karşılaştırıldığında, glikasyon ılımlı koşullar altında gerçekleşir ve herhangi bir yabancı kimyasal gerektirmez. Bazı çalışmalarda, gıda proteinlerinin glikasyonla farklı indirgeyici şekerler tarafından modifiye edilmesinden sonra çözünürlük, emülsifikasyon ve antioksidan aktivitenin arttığı gösterilmiştir (Liu vd., 2012; Taş vd., 2021).

Glikasyonun, gıda protein çözünürlüğünü önemli ölçüde artırdığı (Shepherd vd., 2000), ısı stabilitesini (Sato vd., 2005) ve emülsifiye edici özellikleri geliştirdiği (Diftis and Kiosseoglou, 2004), köpürme özelliklerini iyileştirdiği (Achouri vd., 2005), antioksidan aktiviteyi artırdığı (Lertittikul vd., 2007), antimikrobiyal veya bakterisidal aktiviteyi artırdığı (Song vd., 2002) ve dokusal özellikleri iyileştirdiği (Gerrard vd., 2003) ifade edilmektedir. Taş vd. (2021) SPI'nin D-Allulose ile glikolize edilmesi durumunda, çözünürlük, antioksidan ve emülsifikasyon aktiviteleri gibi fizikokimyasal özelliklerin fruktoz

ile glikasyona kıyasla iyileşeceğini bildirmişlerdir. He vd. (2021) SPI'yi kapsamlı bir şekilde modifiye etmek, protein modifikasyonlarının mekanizmasını analiz etmek ve modifikasyonların protein yapısı ve fonksiyonel özellikler (çözünürlük, emülsifikasyon özellikleri, köpük) üzerindeki etkisini araştırmak için dekstran ıslak glikasyon ve süksinik anhidrit asilasyonu kombinasyonunu kullanmışlardır. İki işleminde SPI'nin yapısını ve fonksiyonel özelliklerini önemli ölçüde iyileştirdiğini tespit etmişlerdir. Ertuğrul vd. (2021) bezelye proteininin mikrodalga glikasyon yoluyla modifiye edilmesi durumunda, çözünürlük ve hidrasyon davranışı gibi fonksiyonel özelliklerin su banyosu glikasyonuna kıyasla daha fazla artacağını bildirmişlerdir.

Bitkisel proteinler arasında da soya proteini en çok kullanılan ve biyolojik değeri yüksek olan proteinlerdir. Ultrason işlemi ise basit, kirletici ve termal olmayan bir işlem olarak gıda işleme proseslerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle, ultrasonla ön işlemden geçirilen karışımların, glikasyon sonucunda yapısını ve fonksiyonel özelliklerini daha da geliştirmesi ve endüstriyel üretimlerini kolaylaştırması beklenebilir (Tian vd., 2023). Ayrıca, ultrason destekli glikasyon reaksiyonunun verimliliğini artırabildiği kısmen gösterilmiştir (Chen vd., 2019; Zhao vd., 2016). Bu çalışmada soya proteini konjugasyonunda fruktoz kullanılacaktır ve glikasyonun soya protein izolatları üzerine etkisi belirlenecektir. Bununla birlikte çalışmanın amacı glikasyon öncesi SPI-Fruktoz karışımlarına ultrason ön işlem uygulamasının konjugasyon oluşumuna ve ürünlerin yapısal ve fizikokimyasal (çözünürlük, su ve yağ tutma kapasiteleri ve emülsifikasyon) özellikleri üzerindeki etkisini incelemektir. Böylelikle soya proteini izolatlarının tekno-fonksiyonel özelliklerinin değiştirilmesi beklenmektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan soya proteini (%90) izolatu (SPI) (Vegrano, İstanbul) doğrudan satın alınmıştır. Glikasyon işleminde kullanılacak şekerin (fruktoz) yüksek saflıkta olmasına dikkat

edilmiştir ve diğer kimyasalların analitik saflıkta olması ile Sigma Aldrich'den temin edilmiştir.

Ultrasonik ön işleme SPI-Fruktoz konjugatlarının glikasyon işlemiyle hazırlanması

Glikasyon işlemi için Zhao vd. (2021) ve Zhang vd. (2015) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bunun için öncelikle kuru bazda SPI ve şeker (fruktoz) 1:1 oranında (ön denemelerle belirlenmiştir) karıştırılmıştır. Bu karışımlar 0.1 M potasyum fosfat tamponu (pH 7) içinde toplam çözelti konsantrasyonu %10 (w/v) olacak şekilde dispersiyonları hazırlanmıştır. Daha sonra SPI:Şeker dispersiyonları oda sıcaklığında 2 saat karıştırılmış ve tam çözünme ve hidrasyonu sağlamak için gece boyunca 4 °C'de saklanmıştır. Çözeltiler 210 mL kapaklı kavanozlara gruplandırılarak aktarılmıştır. Bu karışımın bir kısmı ile soya protein izolatu ısıtma ve soğutma adımları atlanıp geri kalan işlemler aynen yapılarak doğrudan dondurulup liyofilize edilmiştir. Kalan örnekler ultrasonla işlenmiştir. Dispersiyonların ultrasonik işlemi, titanyum prob uçlu bir ultrasonikatör (CPX130PB, Cole-Parmer Instruments, Illinois, ABD) kullanılarak bir buz banyosunda gerçekleştirilmiştir. Dispersiyon (50 mL), 130 W (20 kHz) güç çıkışında 10 s açık kalma süresi ve 5 s kapalı kalma süresiyle 5 ve 15 dak için ultrason ile işlenmiştir. Nihai dispersiyonlar glikasyon reaksiyonu için su banyosunda 95 °C'de ve 30 dak süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun tamamlanmasından hemen sonra sıcaklığı düşürmek ve reaksiyonu durdurmak için kavanozlar bir buz banyosunda oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Ardından önce -20 °C'de dondurulmuştur ve daha sonra liyofilize edilmiştir. Son olarak, liyofilizasyondan sonra örnekler öğütülmüş toz haline getirilmiş ve diğer analizlerde kullanılmaya kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Araştırmada elde edilen örnekler için kodlamalar Çizelge 1'de verilmiştir. Kontrol olarak fruktozsuz SPI örneği (N-SPI) kullanılmıştır.

Serbest amino grupları (FAG) ve aşılama derecesi (DG) SPI ve fruktoz arasındaki glikasyon reaksiyonu etkinliğini belirlemek amacıyla glikasyon derecesi (graft/aşılama derecesi) ve serbest amino gruplarının içeriği belirlenmiştir. Bunun için Zhao

vd. (2021) ve Zhao vd. (2023) tarafından bildirilen OPA (o-phthaldialdehyde) yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. OPA (80 mg), 2 mL %95 etanol içinde çözündürülmüştür. Elde edilen solüsyona 50 mL 0.01 M sodyum tetraborat tampon solüsyonu (pH 9.7), 5 mL %20 (w/v) sodyum dodesil sülfat ve 200 µL β-merkaptöetanol eklenmiştir. OPA reaktifi, karışık çözeltinin distile su ile 100 mL'ye seyreltilmesiyle hazırlanmıştır. Bu reaktif günlük hazırlanmıştır ve reaksiyonun etkinliğini korumak için 2 saat içinde kullanılmıştır. 200 µL numune dispersiyonuna (2 mg/mL) 4 mL OPA reaktifi eklenmiş, solüsyon alt üst edilerek kısaca karıştırılmış ve 25 °C'de 5 dakika boyunca ile inkübe edilmiştir.

Numunelerin serbest amino gruplarının ölçülmesi, bir ultraviyole görünür (UV-Vis) spektrofotometre kullanılarak 340 nm'de absorpsanları belirlenerek gerçekleştirilmiştir. N-SPI numunesi %100 FAG göstererek referans olarak kullanılmıştır. Kör, 4 mL OPA reaktifi içinde 200 µL damıtılmış sudur. Numunelerin aşılama dereceleri (DG) ve serbest amino grupları (FAG) aşağıdaki denklemler kullanılarak hesaplanmıştır:

$$DG (\%) = (A_r - A_s) / A_r \times 100 \quad (1)$$

$$FAG (\%) = A_s / A_r \times 100 \quad (2)$$

Burada A_r , referans numunenin (N-SPI) absorpsanını ve A_s , numunenin absorpsanını ifade etmektedir.

Çizelge 1. Örneklere ait kodlamalar

Table 1. Codings of the samples

ÖRNEK	Örnek kodu	Ultrason ön işlemi	Isıl işlem	Fruktoz
Herhangi bir işlem görmemiş SPI	N-SPI	—	—	—
Isıl işlem görmüş SPI	H-SPI	—	+	—
İşlem görmemiş SPI+şeker	G-SPI	—	—	+
Glike edilmiş SPI+şeker	GH-SPI	—	+	+
Ultrason görmüş glike edilmiş SPI+şeker	GH-SPI-U5	5 dak	+	+
	GH-SPI-U15	10 dak	+	+

* SPI; soya proteini izolatu

Fonksiyonel özelliklerin belirlenmesi

Çözünürlük

Konjugatların yüzde çözünürlükleri pH 3 ile 11 aralığında belirlenmiştir. 5 mg/mL konsantrasyonda protein izolatu distile su içinde hazırlanmıştır. 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak dispersiyonların pH'ları ayarlanmıştır. Oda sıcaklığında 1 s manyetik karıştırıcıyla karıştırılmış, daha sonra 3000 g'de 30 dak santrifüj edilmiştir (Ghribi vd., 2015). Santrifüjün ardından üstte kalan fazda Bradford (1976) metodu kullanılarak protein analizi gerçekleştirilmiştir. Bunun için üstte kalan fazdan 0.1 mL alınarak üzerine 3 mL Bradford reaktifi katılmıştır ve 5 dak bekletildikten sonra karışımın absorpsansı 595 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okunmuştur. Protein miktarının hesaplanmasında sığır serum albümini standart eğrisinden yararlanılmıştır. Çözünürlük aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır:

$$\text{Çözünürlük} (\%) = \frac{\text{Süpernatantın protein içeriği}}{\text{Örneğin toplam protein içeriği}} \times 100 \quad (3)$$

Su ve yağ tutma kapasitesi

Su (STK) ve yağ tutma kapasitelerini (YTK) tespit etmek için, 2 mL'lik bir santrifüj tüpüne yaklaşık 50 mg protein izolatu tartılmış, üzerine 1.5 mL ticari mısırozü yağı veya damıtılmış su ilave edilerek disperse edilmiş ve ortam sıcaklığında 20 s vorteksle karıştırılmıştır. Vortekslenildikten sonra tüplerin kapakları kapatılmış ve tüpler 30 dak süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra tüpler 14.000 g'de 20 dak santrifüj edilmiş ve süpernatant dikkatli bir şekilde 45° açıyla boşaltılarak tortuyu içeren santrifüj tüpü tartılmıştır. Tutulan yağ veya su içeriği, tortuyu içeren tüplerin tartılmasıyla belirlenmiştir. STK ve YTK, sırasıyla g protein izolatu başına emilen g su veya yağ olarak ifade edilmiştir. STK ve YTK, aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{STK veya YTK} = \frac{M_2 - M_1}{M_0} \quad (4)$$

Burada, M_0 numunenin ağırlığını, M_1 kuru numuneyi içeren santrifüj tüpünün ağırlığını ve M_2 su veya yağın uzaklaştırılmasından sonra santrifüj tüpünün ağırlığını ifade etmektedir (Aydemir ve Yemenicioğlu, 2013; Gundogan ve Can Karaca, 2020).

Emülsiyon özellikleri

Konjugatların emülsiyon aktivite indeksi (EAI) ve emülsiyon stabilite indeksi (ESI) Pearce ve Kinsella (1978) tarafından geliştirilen metoda göre tespit edilmiştir. Bu amaçla %1'lik protein izolatu dispersiyonu saf su ile hazırlanmış ve daha sonra bu karışımın üzerine 10 mL mısırözü yağı eklenmiştir. 1 N HCl veya 1 N NaOH ile karışımın pH'sı 7'ye ayarlanarak homojenizatör (Ultra-Turrax T25 dijital, IKA, Almanya) ile 20000 rpm'de 1 dak homojenize edilmiştir. Homojenizasyondan hemen sonra oluşan emülsiyonun alt kısmından (sıvı fazdan) 50 µL emülsiyon örneği alınarak üzerine 5 mL %0.1'lik (w/v) sodyum dodesil sülfat (SDS) çözeltisi eklenerek seyreltilmiştir ve bu karışımın 500 nm'de absorbansı ölçülerek aşağıda verilen denklem ile emülsiyon aktivitesi hesaplanmıştır:

$$EAI (m^2/g) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{c \times \phi \times 10000} \quad (5)$$

Burada, A_0 0. dak'daki absorbansı, c protein dispersiyonunun konsantrasyonu (0.01 g/mL), N seyreltme faktörünü (100) ve ϕ yağın hacimsel fraksiyonunu (10/40=0.25) ifade etmektedir.

Oluşan emülsiyonu 10 dakika beklettikten sonra sıvı fazdan (alt kısmından) alınan 50 µL örneğin 5 mL %0.1'lik (w/v) SDS ile seyreltilip absorbansının (500 nm) okunmasıyla ESI değerleri aşağıdaki denklem yardımıyla hesaplanmıştır:

$$ESI (dak) = \frac{A_0 \times t}{A_0 - A_{10}} \quad (6)$$

Burada, t emülsiyonun bekleme süresini (10 dak) ve A_{10} homojenizasyon işleminden 10 dak sonraki absorbansı ifade etmektedir.

Karakterizasyon

SEM

Konjugatların yüzey morfolojisi, bir taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile 5 kV'luk voltaj

ivmesinde görüntülenmiştir. Örneklerin elektriksel iletkenliğini arttırarak daha net görüntüler elde edebilmek için örneklerin yüzeyi, görüntülemeye önce kaplama işlemi 10 nm kalınlığında altın-paladyum alaşımı ile yapılmıştır.

Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

Numunelerin fonksiyonel gruplarını belirlemek ve elde edilen konjugatların bileşenleri arasındaki etkileşimlerini araştırmak için FT-IR spektroskopisi kullanılmıştır. Soya proteini izolatlarının ikincil yapısı, 400 cm^{-1} ile 4000 cm^{-1} dalga boyu aralığında Platinum ATR donanımlı bir FTIR spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir.

İstatistik analiz

Elde edilen deney sonuçları SPSS Statistics 26.0 (IBM, New York, USA) programı vasıtasıyla varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli bulunan ortalama değerler arasındaki farklılıkların değerlendirilmesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi (Post-hoc analizi) kullanılmıştır. Elde edilen istatistik analiz sonuçları $P \leq 0.05$ önem düzeyine göre değerlendirilmiştir.

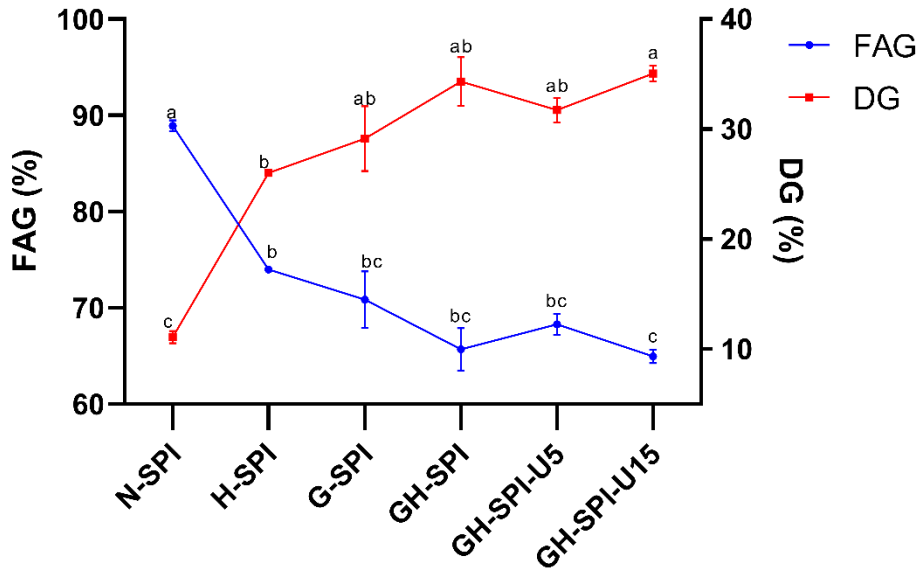
SONUÇ VE TARTIŞMA

Glikasyon reaksiyonu derecesi

Şekil 1'de örneklerin FAG içerikleri ve DG değerleri gösterilmiştir. Isıl işlemin soya proteininin FAG ve DG değerleri üzerine istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) etkisi olduğu tespit edilmiştir. Ultrasonikasyon işleminin ise sadece 15 dakikalık işlemin FAG ve DG değerleri üzerine istatistiksel olarak etki ($P < 0.05$) ettiği görülmektedir. İşlem görmemiş protein izolatu (N-SPI) örneğine göre ısıl işlem, glikasyon ve ultrasonikasyon işlemleri ile FAG içeriklerinde düşüş gözlenmektedir. DG değerlerinde ise beklendiği gibi ısıl işlem, glikasyon ve ultrasonikasyon işlemleri ile artış görülmektedir. Serbest amino grupları, karbonil-amino reaksiyonuna katılmıştır, böylece önceki çalışmalarda olduğu gibi, DG arttıkça serbest amino gruplarının miktarı azalmıştır (Zhuo vd., 2013; Wang vd., 2016). Şekil incelendiğinde ultrason ön işleminin SPI'nın fruktoz ile glikasyonunu hızlandırdığı söylenebilir. Ultrason uygulamasının neden olduğu kaviteasyonun,

proteinin yüzeyindeki reaktif amino gruplarını açığa çıkararak SPI'nin açılmasını teşvik ettiği düşünülmektedir. Bu durumun, proteinin ε-amino grupları ile polisakarit karbonil gruplarının indirgeyici uçları arasındaki çarpışma etkileşimini güçlendirerek glikasyon reaksiyonunun hızlanmasına neden olduğu ifade edilmiştir (Zhao vd., 2016; Zhao vd., 2021). Ayrıca ultrason uygulama süresi arttıkça glikasyon işleminin daha etkin olduğu anlaşılmaktadır. Benzer sonuçlar ultrasonik işleme hazırlanan fıstık proteini izolatu-glukomannan konjugatları (Li vd., 2014) için ve ultrasonik ön işlem ile soya proteini izolatu-

maltodekstrin glikasyon konjugatları (Zhao vd., 2021) için görülmektedir. Chen vd. (2019) peyniraltı suyu protein izolatu ile akasya zambını ultrason ve klasik ısıtma ile glikolize etmişlerdir. Ultrason işleminin glikasyon reaksiyonunu hızlandırabileceğini, ultrason ile hazırlanan konjugatların daha düşük esmerleşme yoğunluğuna sahip olduğunu ve ultrason ile hazırlanan konjugatların çözünürlüğü, ısı stabilitesi ve emülsifiye edici özellikleri iyileştirildiğini bildirmişlerdir.



Şekil 1. Örneklerin serbest amino grupları (FAG) ve aşılama derecesi (DG)

*Örneklere ait kodlamalar Çizelge 1'de verilmiştir.

Figure 1. Free amino groups (FAG) and grafting grade (DG) of the samples

*Coding of the samples is given in Table 1

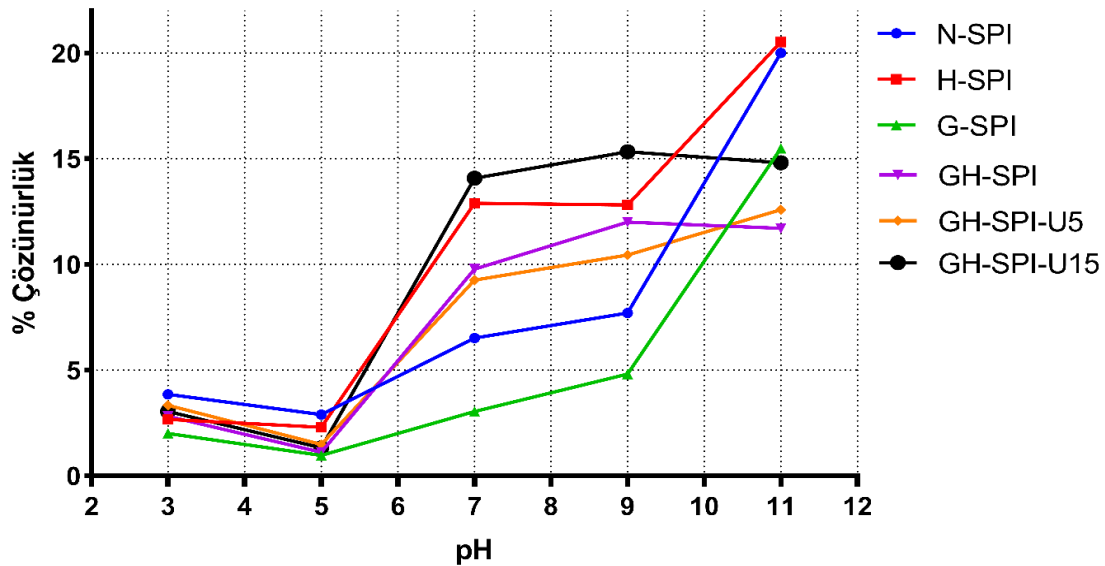
Fonksiyonel özellikler

Bir proteinin çözünürlüğü yalnızca birincil bir işlevsel özellik olarak görülmez, aynı zamanda diğer işlevsel özellikler için de genellikle bir ön koşuldur (Wang vd., 2016). Şekil 2'de SPI ve SPI konjugatlarının çözünürlüğü, pH'ın (3-11 arasında) bir fonksiyonu olarak değerlendirilmiştir. Çözünürlük değerlerinde çift yönlü varyans analizi gerçekleştirilmiş olup buna göre örnekler ve pH değerleri arasındaki interaksiyon istatistiksel açıdan önemli ($P < 0.05$)

bulunmuştur. Örneklerin hepsi, nötr ve alkali çözültide yüksek, asidik çözültide düşük çözünürlük göstermiş ve pH 5'te (izoelektrik noktasına yakın) en düşük çözünürlüğü göstermişlerdir. Ultrasonik işlem ve glikasyonla elde edilen GH-SPI, GH-SPI-U5 ve GH-SPI-U15 konjugatlarının çözünürlüğü, pH 11 dışında tüm pH aralığında doğal SPI'den daha yüksek belirlenmiştir. Glikasyondan sonra SPI'lerin protein çözünürlüğünün iyileştirilmesi, bir hidrofilik sakaritin hidrofobik bir proteinin

yüzeyine bağlanmasından kaynaklanıyor olabileceği, sakaritin -OH grubunun hidrojen bağlama kapasitesi yüzey hidrofobikliğini değiştirmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Wang vd., 2016). Çalışmamızdaki çözünürlük profilleri, literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Gu vd., 2009; Wang vd., 2016). Isıl işlem görmüş protein izolatu örneği H-SPI çözünürlüğü diğer örnekler göre yüksek çıkmıştır. Bunun nedeninin ısıl işlem etkisiyle protein yapısının denatüre olup açılmasının olduğu düşünülmektedir. G-SPI örneği ise

çözünürlük profili en düşük olan örnektir. Ultrasonikasyon işlemiyle küçük protein parçaları oluşturulur ve protein ile su arasındaki etkileşim artırılarak proteinin çözünmesi sağlanır. Ultrason işlemi etkisi ile meydana gelen ve çözeltideki kabarcıkların boyutunu etkileyen kaviteasyon verimi ultrason frekansından büyük ölçüde etkilenmektedir. Sonuç olarak su molekülleri proteinlere daha kolayca bağlanabilir ve bu durumda da örneklerin çözünürlükleri artmaktadır (Liv vd., 2020; Singh vd., 2023).



Şekil 2. Örneklerin pH 3-11 aralığındaki çözünürlük profilleri
Figure 2. Solubility profiles of the samples in the range of pH 3-11

Soya proteini izolatının su tutma kapasitesi (STK) ısıl işlemle artarken, şeker ilavesi, ultrasonikasyon ve glikasyonla azalmıştır (Çizelge 2). Aynı durum örneklerin yağ tutma kapasitesi (YTK) için de geçerlidir. Ultrasonikasyon ve glikasyon reaksiyonunun soya proteininin STK ve YTK değerleri üzerine istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu, polisakaritler ile kovalent aşılamanın proteinlerin jelleşme özelliklerini bozduğunu göstermektedir. Bu duruma birçok faktör katkıda bulunmuştur. SPI'nin fruktoz ile konjugasyonu, doğal protein yapısını yok ederek ağ yapısından sorumlu disülfid bağlarının oluşumunu engellemiş olabilir (Sun vd.,

2011; Zhao vd., 2021). Ayrıca Zhao vd. (2021) glikasyon işleminin, ısıl işlem sırasında SPI'nin H_0 'ını azalttığı, agregalar arasındaki hidrofobik etkileşimleri azaltarak ve gevşek bir ağ yapısı oluşturarak, jel mukavemetinde azalmaya ve jellerde su kaybına yol açtığını belirtmişlerdir. Isıtıldığında artan STK ve YTK, artan yüzey hidrofobikliğı ve artan SH grupları arasında pozitif bir korelasyon gösterdiği tahmin edilmektedir, bu da Gu vd. (2009) bulgularını doğrulamaktadır. Isıl işlem görmüş küresel proteinlerin artan STK'sını, agregatların ayrışmasına ve proteinin kısmi denatürasyonuna bağlamışlardır. Şekerlerin mevcudiyetinde azalan

STK ve YTK (Çizelge 2), azalmış dağılıbilirlik, hidrofobiklik ve serbest SH grupları ile pozitif korelasyon gösterdiği, değişen protein-protein ve protein-su etkileşimleri nedeniyle şekerler tarafından proteinlerin açılmasının inhibisyonunu gösterir (Gu vd., 2009). Literatürde başka protein

izolatlarının şeker ilavesiyle fonksiyonel özelliklerinde her zaman istenildiği gibi artışlara sebep olmadığı da rastlanılan bir durumdur (Gu vd., 2009; Álvarez vd., 2012; Wang vd., 2018; Zha vd., 2019; Gao vd., 2023).

Çizelge 2. Örneklerin fonksiyonel özelliklerine ait sonuçlar

Table 2. Results of the functional properties of the samples

	STK (g/g)	YTK (g/g)	EAI (m ² /g)	ESI (dak)
N-SPI	3.54±0.12 ^a	4.55±0.09 ^b	4.97±0.22	22.77±3.30 ^b
H-SPI	3.79±0.16 ^a	5.96±0.41 ^a	5.78±1.21	33.88±0.11 ^a
G-SPI	2.52±0.33 ^b	2.88±0.11 ^d	5.26±0.11	18.31±0.25 ^b
GH-SPI	1.97±0.57 ^b	3.34±0.08 ^{cd}	5.00±0.62	19.93±2.58 ^b
GH-SPI-U5	1.73±0.30 ^b	3.40±0.16 ^{cd}	5.43±0.17	35.51±0.00 ^a
GH-SPI-U15	1.78±0.05 ^b	3.77±0.43 ^c	5.44±0.45	22.55±4.58 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. ^{a-d} Farklı üst simge karakterler, bir sütun içinde P<0.05 düzeyinde önemli farklılıkları göstermektedir.

Values are expressed as mean ± standard deviation. ^{a-d} Different superscript characters within a column indicate significant differences at P<0.05 level.

Çizelge 2'de örneklerin EAI ve ESI değerleri verilmiştir. Ultrasonikasyon ve glikasyon reaksiyonunun soya proteininin emülsifikasyon özelliklerinden EAI üzerine istatistiksel olarak önemsiz (P>0.05) etkisi tespit edilirken ESI değerleri üzerine önemli (P<0.05) etkisinin olduğu belirlenmiştir. Sade protein izolatının ısı işlem görmesiyle bu değerler artış göstermiştir. Aynı şekilde ultrasonikasyon ve glikasyon işlemleri kontrol örneğine göre EAI ve ESI değerlerini artırmıştır. Feng vd. (2023) bu durumu proteinin yağ damlacıklarının yüzeyine adsorpsiyonu fiziksel bir adsorpsiyon işlemi olduğunu ve protein yapısındaki ve yüzey hidrofobikliğindeki değişiklikler o/w arayüzüne adsorpsiyon yeteneğini etkileyebileceği şeklinde açıklamışlardır. Zhang vd. (2022) SPI'yi galaktozla glike ettikleri çalışmada glikasyon ile SPI konjugatlarının EAI ve ESI değerlerinin arttığını tespit etmişlerdir. Maillard reaksiyonunda yer alan galaktozun konsantrasyonunun artmasıyla bu değerlerin daha da arttığı ve bunun nedeni olarak galaktozun reaksiyon sırasında SPI'ye bağlanması, hidrofilik grupların ortaya çıkması ve çözünürlüğün artması olabileceğini belirtmişlerdir. Ma vd. (2022) yaptıkları çalışmada konjugatların, orijinal SPI ve karışımlardan önemli ölçüde daha yüksek EAI ve ESI sergilediğini

tespit etmişlerdir. Bir protein-polisakarit konjugatı bir su-yağ sistemine eklendiğinde, proteinin su-yağ arayüzünde emilerek viskoelastik bir filmin oluşmasına izin verdiği, polisakaridin ise emülsifiye damlacıklar için kalınlaşması yoluyla sterik stabilizasyon sağlamasına bağlanmışlardır. Böylece, konjuge numuneler için geliştirilmiş EAI ve ESI, bu sinerjistik davranışa bağlanmıştır. Ding vd. (2023) glikasyonla protein izolatlarının EAI ve ESI değerlerinin artmasını reaksiyon nedeniyle şeker zincirlerine erişimin, protein moleküllerinin moleküler ağırlığı ve sterik engeli arttırdığını belirtmişlerdir. Ayrıca glikosile edilmiş proteinler, glikosile edilmemiş proteinlere göre daha fazla hidrofilik gruba sahiptir ve bu da sterik engelleme etkisini artırır. Protein moleküllerindeki hidrofobik kalıntılar, yağ damlacıklarının yüzeyine yapışabilirken, şeker molekülleri yağ damlacıklarının yanındaki su moleküllerini çekebilir. Bu nedenle glikasyon, proteinin yağ-su arayüzünü stabilize etme ve yağ damlası toplanma eğilimini azaltma yeteneğine yardımcı olur. Böylelikle polisakarit EAI ve ESI değerlerinde artışa sebep olmuş olabilir (Ding vd., 2023). Mevcut çalışmada ise reaksiyonda şeker olarak bir monosakaritin kullanılmış olması bahsedilen bu etkiyi tam olarak göstermediğinden EAI ve ESI değerlerinde artışa neden olurken STK ve YTK

için azalma göstermiş olabileceği söylenebilir. Spesifik olarak, fruktozun düşük moleküler ağırlığı, sterik stabilizasyon sürecini sürdürülemez hale getirerek, daha küçük su ve yağ tutma endekslerine yol açmış olabilir (Han vd., 2022). Wang vd. (2018) soya fasulyesi protein izolatının ıslak ısıtmalı Maillard reaksiyonu yoluyla ksiloz/fruktoz ile konjugasyonunda iki monosakkarit ile konjugasyon, çözünürlüğü önemli ölçüde arttırmış, ancak SPI'nin emülsifiye edici aktivitesini azaltmıştır.

FTIR spektroskopisi

Glikasyon sırasında örneklerin kimyasal yapılarında bir etkileşimin veya değişimin olup olmadığını tespit etmek ve proteinlerin ikincil yapısı hakkında bilgiler edinmek amacıyla FTIR analizleri yapılmıştır. Örneklerin FTIR spektrumları Şekil 3'de verilmiştir. Bu spektrumlar kullanılarak fonksiyonel gruplar tespit edilmiştir. Muhtemelen sonikasyon ön işlemi, protein yüzeyinde açığa çıkabilecek amino gruplarının fraksiyonunu artıran ve karbonhidratlarla aşılama reaksiyonlarına katılabilen küresel protein yapısının kısmi olarak açılmasını teşvik etmektedir (Iscimen vd., 2023). SPI'nin FT-IR spektrumu, amid I titreşimine ve N-H bükülmesine karşılık gelen 1600–1700 (1629) cm^{-1} 'deki bantları göstererek protein spektrumunun tipik özelliklerini göstermiştir. Ayrıca, 1450–1550 (1513) cm^{-1} 'deki bantların, protein yapısının amid II gruplarına ait olduğu bilinmektedir (Boostani vd., 2017). Benzer şekilde Su vd. (2010) tarafından rapor edilen çalışmada, 1200-1450 cm^{-1} 'deki soğurma bandı, amid III grubunun soya proteinlerinin C-N gerilmesi ve N-H bükülme titreşimlerinin örnekleri olduğunu ortaya koymaktadır. Glike edilmiş konjuge numunelerde 510, 513, 777, 817, 865, 975 ve 1050 cm^{-1} 'deki (şekerler için belirtilen bölgeler) absorbansın SPI'ye kıyasla önemli ölçüde arttığı görülmektedir. Dolayısıyla bu durum, proteinlerin polisakkaritlerle kovalent bağlanmasını açıklamaktadır (Guan vd., 2006). Sonikasyona tabi tutulan konjugatlar, muhtemelen kaviteasyonun bazı hidrojen bağlarını bozduğu için (Iscimen vd., 2023) kontrole kıyasla 1629 cm^{-1} civarında daha belirgin piklere sahiptir. SPI ile karşılaştırıldığında, konjugatların 3200-3600 cm^{-1} 'inde daha geniş

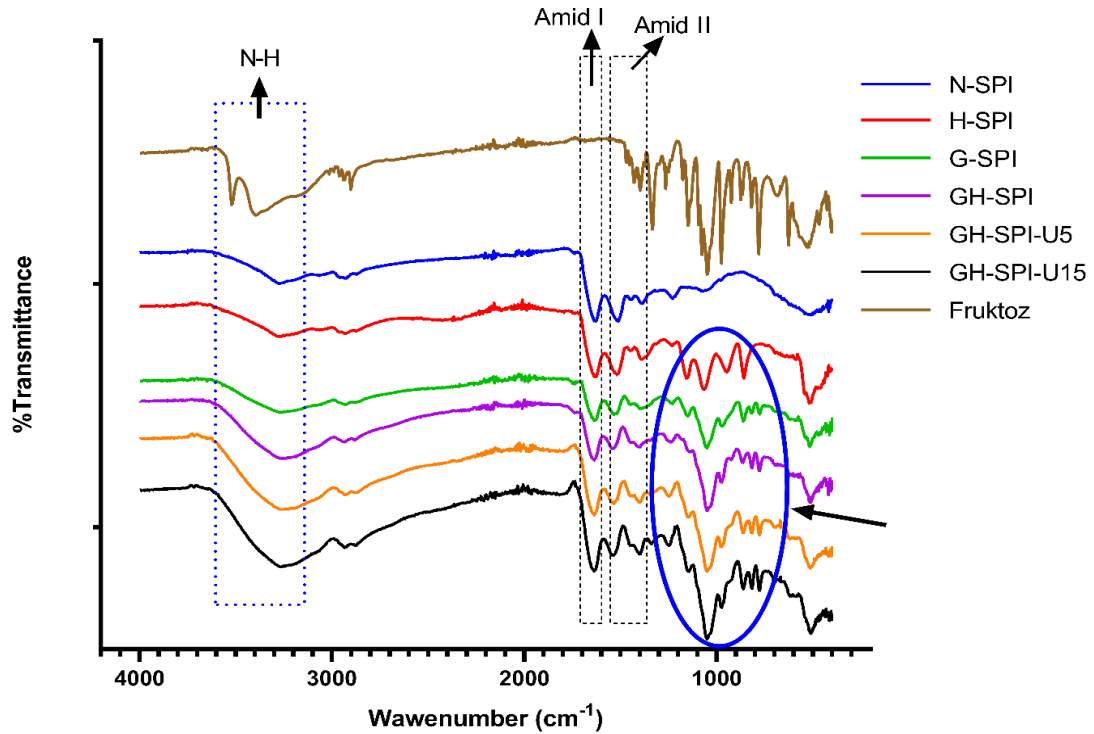
esneme titreşimi, SPI'ye bağlı fruktoz üzerindeki hidroksil grupları ile ilişkilidir (Li vd., 2019; Zhang vd., 2022). Aynı zamanda bu bant aralığına bakıldığında ultrasonikasyon uygulanan örnekler daha geniş yayılım gösteren pikler vermiştir. 3200-3600 cm^{-1} 'inde NH gerilmesiyle ilişkili geniş tepeler glikasyon ve ultrason işlemlerinin protein yapısını yeniden düzenlemelerinin ve konformasyonel değişikliklerin ikili etkilerinin olduğunu göstermektedir. Isıl işlem görmüş SPI numunesinde ise SPI numunesine göre 900-1200 cm^{-1} aralığında pikler görülmektedir. Bu piklerin protein moleküllerinin denatürasyonu sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Ayrıca ultrasonikasyon işleminin süresi uzadıkça 1100 cm^{-1} civarındaki pikin daha belirginleştiği görülmektedir. Yan vd. (2023) soya protein izolatı-epigallokateşin galat konjugatlarını hazırlamak için ultrason destekli geleneksel kovalent bağlanma yöntemlerini kullandıkları çalışmalarında mevcut çalışmayla uyumlu olan FTIR spektrumları elde etmişlerdir.

SEM analizi

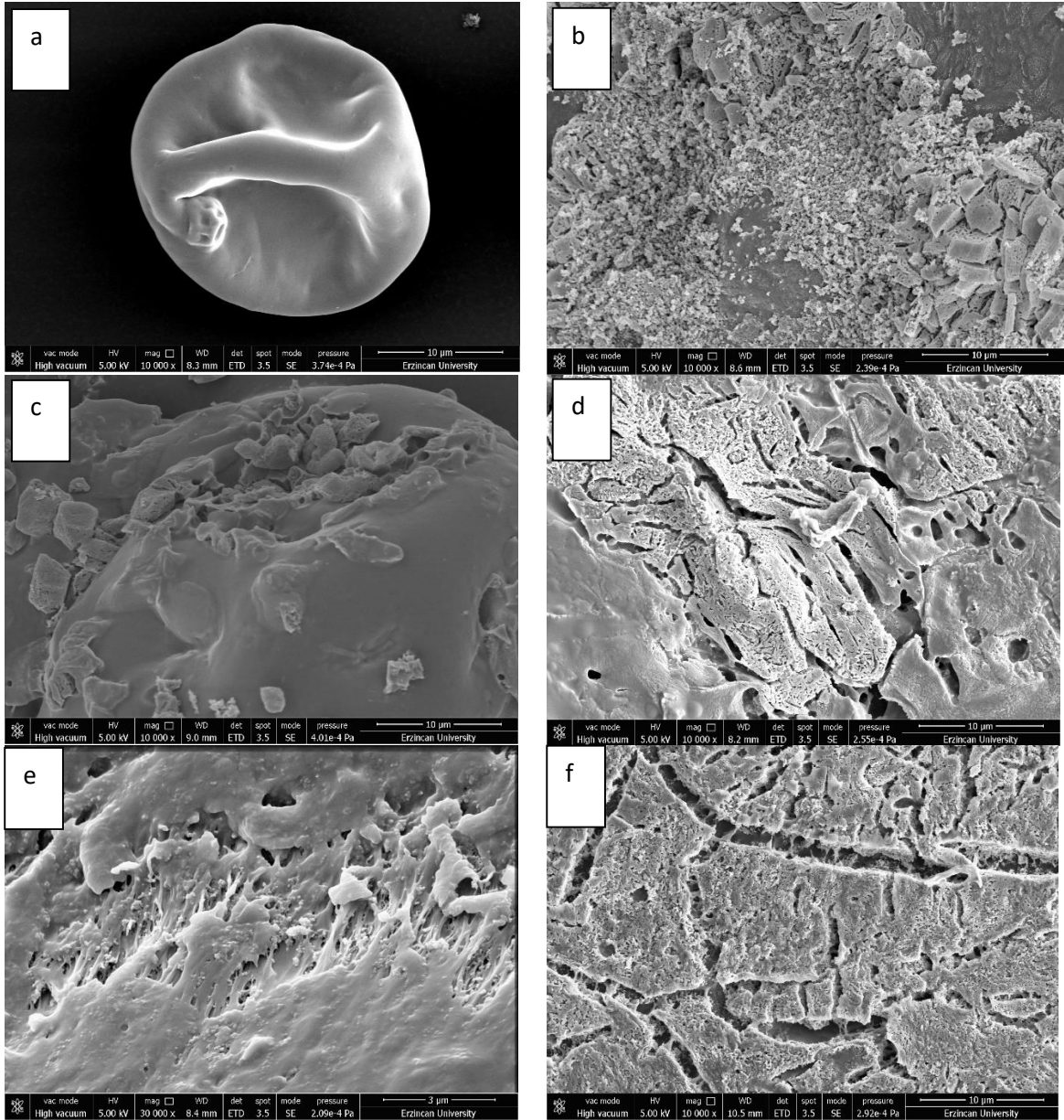
Glikasyona tabi tutulmuş ve kontrol örneklerinin SEM görüntüleri Şekil 4'de verilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) prosedürü, gıda proteinlerinin morfolojisinin değerlendirilebileceği doğru moleküler gözlemlere izin veren yeni bir yöntemdir. Bunun gibi mikroskopik yöntemler umut verici bir yaklaşım olabilir, çünkü proteinlerin yapısı, morfolojisi ve işlevi arasında var olan ilişkiler doğası gereği dinamik ve ayrıca, mikro yapı değerlendirmesinin, Maillard modifikasyonu yoluyla doğal olarak değişikliklere uğrayabilen protein fonksiyonlarına yönelik araştırmalar için potansiyeller sağlayabileceği düşünülmektedir (Boostani vd., 2017). Soya proteini globulinlerinin pürüzsüz bir yüzeye sahip küresel bir şekle sahip olduğu bulunmuştur (Şekil 4.a). Bu görüntü Shekarforoush vd. (2016) ve Boostani vd. (2017) tarafından yapılan önceki gözlemlere benzerdir. Soya proteinlerinin şeker moleküllerine sıkı bir şekilde bağlandığını ve bunun da birikmiş ve homojenleşmemiş bir yapının inşasıyla sonuçlandığını gösterir (Şekil 4.d, e ve f). Mevcut çalışmada elde edilen SEM mikrografı, FT-IR spektrumlarında gösterildiği gibi, SPI ve şeker

arasındaki ilişkilerin varlığını da gösterebilir. SPI-Fruktoz karışımları için SEM mikrografları, tanımlanabilir bir bağ göstermezler (Şekil 4.c). Buna karşılık, ultrasonikasyonun ve konjugasyonun bir sonucu olarak partikül yapısında ve şeklinde bazı değişiklikler meydana gelmiştir. Özellikle sonikasyon süresi uzadıkça pürüzlülük fazlaşmaktadır. Görüntüler, küresel SPI ve şeker bileşenleri için, belki de SPI ve şeker arasında kovalent bağlantıların oluşumunu gösteren çok kompakt bir rasgele mikro yapı göstermektedir. Tian vd. (2023) oligomerik bir protein olan fikosiyani (PC) değiştirmek için ultrason ön işlemiyle kombine glikasyonu kullanılmış ve PC'nin pürüzsüz bir yüzeye sahip düzenli küresel bir yapıya sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ultrason uygulanmış PC'nin yüzey yapısı, ultrason işleminin dağıtıcı etkisinden dolayı

hacimde büyük bir değişiklik olmayan gözenekli bir bal peteği yapısı gösterirken glike PC'nin yapısı, pürüzlü bir yüzeye ve önemli ölçüde genişlemiş bir hacme sahip düzensiz bir agrega olarak görülmüştür. Bu sonuçlar, mevcut çalışmadaki sonuçlarla da uyumlu olacak şekilde modifikasyonun PC'nin gelişmiş yapısını etkilemesi nedeniyle PC'nin başlangıçtaki düzgün yapısının modifikasyondan sonra kaybolduğunu ve pürüzlü hale geldiğini göstermiştir. Iscimen vd. (2023) ultrasonikasyon uygulanarak üretilen konjuge bakla protein izolatlarında toz özelliklerinin sonikasyonla değiştirildiğini göstermişlerdir. Özellikle, düşük sonikasyon seviyeleri kullanıldığında numunelerin daha pürüzsüz yüzeylere sahip olduğu, ancak daha yüksek seviyeler kullanıldığında daha parçalı olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 3. Örneklerin FT-IR spektrumları
Figure 3. FT-IR spectra of the samples



Şekil 4. SEM görüntüleri; (a) N-SPI, (b) H-SPI, (c) G-SPI, (d) GH-SPI, (e) GH-SPI-U5 ve (f) GH-SPI-U15

Figure 4. SEM images; (a) N-SPI, (b) H-SPI, (c) G-SPI, (d) GH-SPI, (e) GH-SPI-U5 and (f) GH-SPI-U15

SONUÇ

Sonuç olarak, çalışmada soya protein izolatı fruktoz şekeri ile glikasyona uğratılmıştır. Aynı zamanda glikasyondan önce ultrasonikasyon işleminin etkisi araştırılmıştır. SPI-F konjugatlarının bazı fonksiyonel özellikleri ve karakterizasyonu incelenmiştir. Ultrasonik ön işlem, DG'yi arttırmıştır ve SPI-F konjugatlarının

FAG değerlerini azaltmıştır, bu da konjugatların düzenli ikincil yapıya ve daha az kompakt üçüncül konformasyona neden olabilir. Glikasyon reaksiyonu, SPI jellerin ağını zayıflatmış, böylece STK ve YTK değerleri düşmüştür. Uygun bir ultrasonik ön işlemin, SPI-Fruktoz konjugatlarının glikasyon reaksiyonu kapsamını ve yapısını değiştirebileceği söylenebilir. Ayrıca

ultrasonikasyon ve glikasyon işlemleri EAİ ve ESI değerlerini geliştirmiştir. Bu bulguların, gıda emülsiyonu ve diğer sistemlerde glikasyonla modifiye edilmiş protein-sakarit ikili sistemlerinin uygulanması için yararlı olması beklenmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

- Achouri, A., Boye, J. I., Yaylayan, V. A., Yeboah, F. K. (2005). Functional properties of glycosylated soy 11s glycinin. *Journal of Food Science*, 70(4), C269-C274. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07172.x
- Akharume, F. U., Aluko, R. E., Adedeji, A. A. (2021). Modification of plant proteins for improved functionality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 198-224. doi:https://doi.org/10.1111/1541-4337.12688
- Álvarez, C., García, V., Rendueles, M., Díaz, M. (2012). Functional properties of isolated porcine blood proteins modified by Maillard's reaction. *Food Hydrocolloids*, 28(2), 267-274.
- Aydemir, L. Y., Yemenicioğlu, A. (2013). Potential of Turkish Kabuli type chickpea and green and red lentil cultivars as source of soy and animal origin functional protein alternatives. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 686-694. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.023
- Boostani, S., Aminlari, M., Moosavi-nasab, M., Niakosari, M., Mesbahi, G. (2017). Fabrication and characterisation of soy protein isolate-grafted dextran biopolymer: A novel ingredient in spray-dried soy beverage formulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 297-307. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.019
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1), 248-254. doi:https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Chen, W., Ma, X., Wang, W., Lv, R., Guo, M., Ding, T., Liu, D. (2019). Preparation of modified whey protein isolate with gum acacia by ultrasound Maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 95, 298-307. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.030
- Diftis, N., Kiosseoglou, V. (2004). Competitive adsorption between a dry-heated soy protein-dextran mixture and surface-active materials in oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 18(4), 639-646. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.11.007
- Ding, Z., Jiang, F., Liu, K., Gong, F., Liu, Y., Zheng, Z., Xu, Y. J. (2023). Structural and functional characteristics of hemp protein isolate-pullulan polysaccharide glycosylation conjugate in an aqueous model system. *Foods*, 12(7), 1416. https://doi.org/10.3390/foods12071416
- Djuardi, A. U. P., Yuliana, N. D., Ogawa, M., Akazawa, T., Suhartono, M. T. (2020). Emulsifying properties and antioxidant activity of soy protein isolate conjugated with tea polyphenol extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3591-3600. doi:10.1007/s13197-020-04391-9
- Ertugrul, U., Namli, S., Tas, O., Kocadagli, T., Gokmen, V., Sumnu, S. G., Oztop, M. H. (2021). Pea protein properties are altered following glycation by microwave heating. *LWT*, 150, 111939. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111939
- Feng, S., Zhang, S., Jiang, M., Liu, F., Chen, K., Zhang, Y. (2023). Effects of glycation methods on the interfacial behavior and emulsifying performance of soy protein isolate-gum arabic conjugates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233, 123554. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123554
- Gao, K., Chang, L., Xu, Y., Rao, J., Chen, B. (2023). Water-soluble fraction of pea protein isolate is critical for the functionality of protein-glucose conjugates obtained via wet-heating Maillard reaction. *Food Research International*, 113503. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113503

- Gerrard, J. A., Brown, P. K., Fayle, S. E. (2003). Maillard crosslinking of food proteins III: the effects of glutaraldehyde, formaldehyde and glyceraldehyde upon bread and croissants. *Food Chemistry*, 80(1), 45-50. doi:https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00233-9
- Ghribi, A. M., Gafsi, I. M., Blecker, C., Danthine, S., Attia, H., Besbes, S. (2015). Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 165, 179-188. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.06.021
- Gu, X., Campbell, L. J., Euston, S. R. (2009). Influence of sugars on the characteristics of glucono- δ -lactone-induced soy protein isolate gels. *Food Hydrocolloids*, 23(2), 314-326. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.01.005
- Guan, J.-J., Qiu, A.-Y., Liu, X.-Y., Hua, Y.-F., Ma, Y.-H. (2006). Microwave improvement of soy protein isolate-saccharide graft reactions. *Food Chemistry*, 97(4), 577-585. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.035
- Gundogan, R., Can Karaca, A. (2020). Physicochemical and functional properties of proteins isolated from local beans of Turkey. *LWT*, 130, 109609. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109609
- He, M., Li, L., Wu, C., Zheng, L., Jiang, L., Huang, Y., Li, Y. (2021). Effects of glycation and acylation on the structural characteristics and physicochemical properties of soy protein isolate. *Journal of Food Science*, 86(5), 1737-1750. doi:https://doi.org/10.1111/1750-3841.15688
- Iscimen, E.M., Dursun Capar, T., McClements, D.J., Yalcin, H., Hayta, M. (2023). Ultrasound-assisted preparation of faba bean protein isolate-*Vitis vinifera* L. polyphenol extract conjugates: Structural and functional characterization. *Food Bioscience*, 55, 103041. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103041
- Lertittikul, W., Benjakul, S., Tanaka, M. (2007). Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH. *Food Chemistry*, 100(2), 669-677. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.085
- Li, C., Huang, X., Peng, Q., Shan, Y., Xue, F. (2014). Physicochemical properties of peanut protein isolate-glucomannan conjugates prepared by ultrasonic treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(5), 1722-1727. doi:https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.03.018
- Li, R., Cui, Q., Wang, G., Liu, J., Chen, S., Wang, X., Jiang, L. (2019). Relationship between surface functional properties and flexibility of soy protein isolate-glucose conjugates. *Food Hydrocolloids*, 95, 349-357. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.030
- Li, Y., Cheng, Y., Zhang, Z., Wang, Y., Mintah, B.K., Dabbour, M., Jiang, H., He, R., Ma, H. (2020). Modification of rapeseed protein by ultrasound-assisted pH shift treatment: Ultrasonic mode and frequency screening, changes in protein solubility and structural characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 69, 105240. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105240
- Liu, J., Ru, Q., Ding, Y. (2012). Glycation a promising method for food protein modification: Physicochemical properties and structure, a review. *Food Research International*, 49(1), 170-183. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.034
- Ma, X., Chi, C., Pu, Y., Miao, S., Liu, D. (2022). Conjugation of soy protein isolate (SPI) with pectin: effects of structural modification of the grafting polysaccharide. *Food Chemistry*, 387, 132876. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132876
- Namli, S., Sumnu, S. G., Oztop, M. H. (2021). Microwave glycation of soy protein isolate with rare sugar (D-allulose), fructose and glucose. *Food Bioscience*, 40, 100897. doi:https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100897
- Pearce, K. N., Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3), 716-723. doi:10.1021/jf60217a041

- Sato, R., Sawabe, T., Saeki, H. (2005). Characterization of fish myofibrillar protein by conjugation with alginate oligosaccharide prepared using genetic recombinant alginate lyase. *Journal of Food Science*, 70(1), C58-C62. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09021.x>
- Shekarforoush, E., Mirhosseini, H., Sarker, M. Z. I., Kostadinović, S., Ghazali, H. M., Muhamad, K., Samaram, S. (2016). Soy protein–gum karaya conjugate: emulsifying activity and rheological behavior in aqueous system and oil in water emulsion. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(1), 1-10. doi:10.1007/s11746-015-2751-z
- Shepherd, R., Robertson, A., Ofman, D. (2000). Dairy glycoconjugate emulsifiers: casein–maltodextrins. *Food Hydrocolloids*, 14(4), 281-286. doi:[https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(99\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(99)00067-3)
- Singh, A., Sit, N. (2023). Dual modification of manila tamarind protein isolate by ultrasonication and autoclaving and their characterization. *Food and Bioprocess Technology*, 16, 2947–2960. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03100-6>
- Singh, P., Kumar, R., Sabapathy, S. N., Bawa, A. S. (2008). Functional and edible uses of soy protein products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7(1), 14-28. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00025.x>
- Song, Y., Babiker, E. E., Usui, M., Saito, A., Kato, A. (2002). Emulsifying properties and bactericidal action of chitosan–lysozyme conjugates. *Food Research International*, 35(5), 459-466. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00144-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00144-2)
- Su, J.-F., Huang, Z., Yuan, X.-Y., Wang, X.-Y., Li, M. (2010). Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. *Carbohydrate Polymers*, 79(1), 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.035>
- Sun, W.-W., Yu, S.-J., Yang, X.-Q., Wang, J.-M., Zhang, J.-B., Zhang, Y., Zheng, E.-L. (2011). Study on the rheological properties of heat-induced whey protein isolate–dextran conjugate gel. *Food Research International*, 44(10), 3259-3263. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.019>
- Tas, O., Ertugrul, U., Oztop, M. H., Mazi, B. G. (2021). Glycation of soy protein isolate with two ketoses: d-Allulose and fructose. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(11), 5461-5470. doi:<https://doi.org/10.1111/ijfs.15218>
- Tian, H., Zhang, Z., Ning, F., Li, W., Sun, X., Yang, X., Luo, L. (2023). Effect of ultrasound pretreatment complex glycation on the structure and functional activity of phycocyanin modified by mannose. *LWT*, 188, 115390. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115390>
- Wang, Z., Han, F., Sui, X., Qi, B., Yang, Y., Zhang, H., Jiang, L. (2016). Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between mung bean [*Vigna radiate* (L.)] protein isolates and glucose and on structural and physico-chemical properties of conjugates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(5), 1532-1540. doi:<https://doi.org/10.1002/jsfa.7255>
- Wang, Z., Zhang, C., Zhang, T., Ju, X., He, R. (2018). Effects of acylation and glycation treatments on physicochemical and gelation properties of rapeseed protein isolate. *RSC Advances*, 8(70), 40395-40406. <https://doi.org/10.1039/C8RA07912A>
- Yan, S., Wang, Q., Yu, J., Li, Y., Qi, B. (2023). Ultrasound-assisted preparation of protein–polyphenol conjugates and their structural and functional characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 100, 106645. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106645>
- Zha, F., Dong, S., Rao, J., Chen, B. (2019). Pea protein isolate–gum Arabic Maillard conjugates improves physical and oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 285, 130-138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.151>
- Zhang, B., Guo, X., Zhu, K., Peng, W., Zhou, H. (2015). Improvement of emulsifying properties of oat protein isolate–dextran conjugates by glycation. *Carbohydrate Polymers*, 127, 168-175.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.072>

Zhang, Q., Long, X., Xie, J., Xue, B., Li, X., Gan, J., Sun, T. (2022). Effect of d-galactose on physicochemical and functional properties of soy protein isolate during Maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 133, 107914. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107914>

Zhao, C.-B., Zhou, L.-Y., Liu, J.-Y., Zhang, Y., Chen, Y., Wu, F. (2016). Effect of ultrasonic pretreatment on physicochemical characteristics and rheological properties of soy protein/sugar Maillard reaction products. *Journal of Food Science and Technology*, 53(5), 2342-2351. doi:10.1007/s13197-016-2206-z

Zhao, C., Chu, Z., Mao, Y., Xu, Y., Fei, P., Zhang, H., Liu, J. (2023). Structural characteristics and acid-induced emulsion gel properties of heated soy protein isolate–soy oligosaccharide glycation

conjugates. *Food Hydrocolloids*, 137, 108408. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108408>

Zhao, C., Yin, H., Yan, J., Niu, X., Qi, B., Liu, J. (2021). Structure and acid-induced gelation properties of soy protein isolate–maltodextrin glycation conjugates with ultrasonic pretreatment. *Food Hydrocolloids*, 112, 106278. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106278>

Zhuo, X.-Y., Qi, J.-R., Yin, S.-W., Yang, X.-Q., Zhu, J.-H., Huang, L.-X. (2013). Formation of soy protein isolate–dextran conjugates by moderate Maillard reaction in macromolecular crowding conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 316-323. doi:<https://doi.org/10.1002/jsfa.5760>

PIYASADA SATILAN YOĞURTLARIN FİZİKOKİMYASAL, MİKROBİYOLOJİK VE ADE-İNİHİBİTÖR AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Zeynep Gürbüz¹, Tuba Erkaya Kotan²,
Hüseyin Ender Gürmeriç^{*3}, Mustafa Şengül¹

¹ Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

² Atatürk Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Erzurum, Türkiye

³ Gümüşhane Üniversitesi, Şiran Mustafa Beyaz Meslek Yüksekokulu, Şiran, Gümüşhane, Türkiye

Geliş/Received: 09.11.2023; Kabul /Accepted: 04.12.2023; Online baskı /Published online: 11.12.2023

Gürbüz, Z., Erkaya Kotan, T., Gürmeriç, H. E., Şengül, M. (2023). Piyasada satılan yoğurtların fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve ADE- inhibitör aktivitelerinin belirlenmesi. GIDA (2023) 48 (6) 1366-1378 doi: 10.15237/ gida.GD23107

Gürbüz, Z., Erkaya Kotan, T., Gürmeriç, H. E., Şengül, M. (2023). Determination of physicochemical, microbiological, and ACE-inhibitor activities of yogurts on the market. GIDA (2023) 48 (6) 1366-1378 doi: 10.15237/ gida.GD23107

ÖZ

Bu çalışmada, Erzurum piyasasında satılan 12 adet farklı ticari yoğurt örneğinin fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve reolojik özellikleri ile Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE)-inhibitör aktiviteleri belirlenmiştir. Yoğurtların kurumadde, yağ, protein, serum ayrılması, pH ve viskozite değerleri %11.11-18.05, %1.25-4.70, %3.28-4.66, 0.95-9.00 ml/25g, 3.79-4.61, 7913.0-30425.0 cP aralığında değişmiştir. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre yoğurtların *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayıları ise sırasıyla 5.67-8.32 ve 6.12-8.5 log kob/g aralığında bulunmuştur. Yoğurtların ADE-inhibitör aktivite % ve IC₅₀ analiz sonuçları sırasıyla %55.57-77.90 ve 0.91-1.80 mg/ml arasında değişim göstermiştir. Yoğurt örneklerinin hepsi ADE-inhibitör aktivite göstermiş ve sonuçlar arasında önemli farklar ($P < 0.05$) olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Yoğurt, ADE-inhibitör aktivite, fizikokimyasal özellikler, mikrobiyolojik özellikler, viskozite değerleri

DETERMINATION OF PHYSICOCHEMICAL, MICROBIOLOGICAL, AND ACE-INHIBITORY ACTIVITIES OF YOGURTS SOLD IN THE MARKET

ABSTRACT

In this research, physicochemical, microbiological, and rheological properties and Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitory activities of 12 different commercial yogurt samples sold in Erzurum market were determined. Dry matter, fat, protein, serum separation, pH and viscosity values of yogurts varied between 11.11-18.05%, 1.25-4.70%, 3.28-4.66%, 0.95-9.00 ml/25g, 3.79-4.61, 30425.0-7913.0 cP, respectively. According to microbiological analysis results, *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* counts of the yogurts were determined between 5.67-8.32 and 6.12-8.5 log cfu/g, respectively. The ACE-inhibitory activity analysis results of yogurts were determined as % and IC₅₀, and their values varied between 55.57-77.90% and 0.91-1.80 mg/ml, respectively. All yogurt samples

*Sorumlu yazar / Corresponding author:

✉: hendergurmeric@gmail.com

☎: (+90) 456 233 3610

☎: (+90) 456 233 1009

Zeynep Gürbüz; ORCID no: 0000-0003-4066-0241

Tuba Erkaya Kotan; ORCID no: 0000-0003-4571-3090

Hüseyin Ender Gürmeriç; ORCID no: 0000-0001-8636-1031

Mustafa Şengül; ORCID no: 0000-0001-8447-2256

showed ACE-inhibitory activity and significant differences ($P < 0.05$) were determined between the results.

Keywords: Yoğurt, ACE-inhibitory activity, physicochemical properties, microbiological properties, viscosity values

GİRİŞ

Yoğurt, her yaş grubu tarafından tüketilebilen ve insan sağlığı açısından olumlu etkileri olan fermente bir süt ürünüdür. Laktoz intoleransı gibi sindirim problemlerine sahip kişiler tarafından bile rahatlıkla tüketilebilmektedir (Akal ve Yetişemiyen, 2020). Ayrıca bağırsak florasının düzenlenmesi ve yaşlanmayı geciktirmesi gibi sağlık üzerine olumlu etkileri söz konusudur (Su vd., 2017). Yüksek besleyici özelliğe sahip olan yoğurt, protein, karbonhidrat ve yağ içeriğinin yanı sıra kalsiyum, fosfor, çinko, magnezyum gibi mineral maddeler ve B₁ (tiamin), B₂ (riboflavin), B₃ (niasin), B₉ (folat), B₁₂ gibi vitaminleri de içermektedir (Kızılaslan ve Solak, 2016; Gharehcheshmeh vd., 2021).

Yoğurdun yapısı, kazeinin hidrofobik ve disülfid bağları yoluyla birbirleriyle ve peyniraltı suyu proteinleri ile etkileşiminden kaynaklanır. Fermantasyonun ilk aşamasından itibaren, yoğurtta bulunan doğal enzimler ve mikrobiyal enzimler sayesinde oluşan proteoliz sonucunda süt proteinleri arasında etkileşimler meydana gelmektedir. Bununla birlikte, fermentasyon sırasında asitliğin gelişmesi ile pH'nın izoelektrik noktaya düşmesi söz konusudur. Bu etkileşimler ve ortamda meydana gelen değişimler sonucunda suyun hapsedilmesi ile ortaya jel kıvamında bir yapı çıkmaktadır (Özdemir ve Özcan, 2019). Yoğurdun oluşumunda önemli faktörlerden birisi kullanılan starter kültürdür ve *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* birlikte spesifik starter kültür olarak yoğurt üretiminde kullanılmaktadır (Anonim, 2022). Yoğurt üretiminde kullanılan bakterilerin proteolitik aktiviteleri sonucunda kazein ve serum proteinlerinin hidrolizi ile insan sağlığını olumlu yönde etkileyen biyoaktif peptitler oluşmaktadır. Biyoaktif peptitlerin etki mekanizmaları arasında opioid, immünomodulator, antimikrobiyal, antitrombotik, antioksidatif, mineral bağlayıcı ve antihipertansif (tansiyon düşürücü) etkileri sayılabilmektedir (Ay ve Şanlı, 2018).

Süt proteinlerinin parçalanması sonucu açığa çıkan biyoaktif peptitlerden bir kısmı antihipertansif etki göstermektedir (Wulandani vd., 2018). Bu etki mekanizması kısaca şöyle gerçekleşmektedir. Karaciğerden salgılanan Anjiyotensinojen proteini, böbreklerden salgılanan renin enzimi vasıtasıyla Anjiyotensinojen-I'e dönüştürülür. Anjiyotensinojen-I ise Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE) vasıtasıyla Anjiyotensinojen-II'ye dönüştürülmektedir. Anjiyotensinojen-II ise kallikrein-kinin gibi sistemlerin de etkisiyle damarları daraltarak tansiyonun yükselmesine neden olmaktadır. Bazı biyoaktif peptitler ADE enzimini inhibe ederek Anjiyotensinojen-II dönüşüm mekanizmasını engellemekte ve bu şekilde tansiyon düşürücü etki ortaya çıkmaktadır (Koçak ve Şanlı, 2016). Süt ve süt ürünleri antihipertansif etki gösteren biyoaktif peptitler açısından iyi bir kaynak olarak gösterilmektedir (Shori vd., 2021). Bu nedenle, fermente bir süt ürünü olan yoğurdun insan sağlığı üzerinde olumlu etkilerinin bilimsel çalışmalar ile ortaya çıkarılmasına yönelik birçok çalışma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir (Savaiano ve Hutkins, 2021).

Artan tüketici bilincine paralel olarak sağlıklı gıdalara olan talep giderek artmaktadır. Özellikle insan sağlığını ilgilendiren çalışmaların ortaya konması daha bilinçli tüketicilerin oluşması açısından fayda sağlamaktadır (Işık vd., 2022). Son yıllarda doğal ürünlere yönelim artmış olsa da sokak sütünün güvenilirliğinin düşük olması, düşük mikrobiyolojik kalitesi, hilelere açık olması ve antibiyotik içerebilmesi vb. nedenlerden dolayı endüstriyel olarak üretilen yoğurt tüketiciler tarafından daha fazla tercih edilmektedir (Ertem ve Çakmakçı, 2019). Yoğurt gibi fermente süt ürünleri ile ilgili çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmakta ve çeşitli yörelerde satışa sunulan yoğurtların gerek mikrobiyolojik, hijyenik gerekse de fizikokimyasal ve duyuşsal kalitesine yönelik araştırma sayısı da nispeten fazladır. Bununla birlikte, son yıllarda yoğurdun biyoaktif

bileşenlerinin ve tansiyon düşürücü etkilerinin araştırıldığı çalışma sayısı ise gün geçtikçe artmaktadır (Rubak vd., 2019). Ancak, piyasada tüketime sunulan yoğurtlar ile ilgili çok fazla sayıda araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, Erzurum piyasasında satılan yoğurtların fizikokimyasal, mikrobiyolojik, reolojik ve ADE-inhibitör aktivite özelliklerinin belirlenmesidir. Özellikle piyasa yoğurtlarının *in vitro* olarak ADE-inhibisyon etkisinin belirlenmesiyle literatüre katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Erzurum'daki marketlerden homojenize edilmiş tam yağlı set tipi 12 adet farklı firmaya ait 1,5 kg'lık ambalaj içerisindeki yoğurtlar satın alınmıştır. Farklı marketlerden satın alınan aynı tipteki yoğurtlar bekletilmeden Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarına getirilerek analizleri gerçekleştirilinceye kadar +4 °C'de buzdolabı koşullarında muhafaza edilmişlerdir.

Yöntem

Fizikokimyasal analizler

Yoğurt örneklerinin toplam kurumadde analizi fırında kurutularak, protein analizi Kjeldahl metoduyla Sahan vd. (2008) tarafından belirtilen yöntemle göre yapılmıştır. Her bir yoğurt numunesinin pH değeri, pH metre (Mettler Toledo Seven Compact pH/Ion S220) kullanılarak belirlenirken, yağ analizleri ise Gerber metodu kullanılarak tespit edilmiştir (Metin, 2012). Yoğurtlardan alınan 25 g örnek +4 °C'de 2 saat bekletilerek filtre kağıdından süzülüp ve ayrılan serum miktarı volümetrik olarak ölçülerek serum ayrılması tespit edilmiştir (Atamer ve Sezgin, 1986).

Mikrobiyolojik analizler

Yoğurt numunelerinin laktik asit bakteri sayımı için MRS agarda (Merck, Darmstadt, Almanya) *L. bulgaricus* sayısı, 37 °C'de 72 saat inkübasyon koşullarında anaerobik ortam sağlanarak belirlenmiştir. *S. thermophilus* sayısı ise M-17 agarda (Merck, Darmstadt, Almanya) 37°C'de 48 saat aerobik koşullarda inkübe edilerek belirlenmiştir. Bakteri sayıları paralelli ekimler yapılarak belirlenmiş olup sonuçlar log kob/g olarak ifade edilmiştir (Speck, 1976).

Viskozite analizi

Yoğurtların viskozite ölçümleri Brookfield Dijital Viskozimetre cihazı (Brookfield model RVDV-II+P, Brookfield Engineering Laboratories, ABD) kullanılarak RV 5 nolu başlık ile 20 rpm dönüş hızında ölçülmüştür. Numunelerin viskozite akış eğrisi ise rpm 0'dan 100'e kadar artırılarak ölçülen viskozite değerlerinden logaritmik olarak karakterize edilmiştir (Sahan vd., 2008, Ünal vd., 2020, Gürbüz vd., 2021). Akış davranışı, aşağıda ifade edilen 'Power Law Modeli' denkleminde (1) göre hesaplanmıştır:

$$\eta = K\dot{\gamma}^{(n-1)} \quad (1)$$

η ; görünür viskozite (Pa s)

K; kıvam indeksi

$\dot{\gamma}$; kayma hızı (rpm)

n; akış davranış indeksi

ADE-inhibitör aktivite analizi

Yoğurt örneklerinin ADE-inhibitör aktivitelerini belirlemek amacıyla yoğurtlardan 30'ar g örnek tartılmıştır. Örneklere, 5 °C sıcaklıkta ve 10000 x g'de 10 dakika süre ile santrifüj işlemleri uygulanmıştır. Santrifüj sonucu ayrılan sıvı kısım Whatman no. 40 filtre kâğıdından süzülerek suda çözünür ekstraktlar (SÇE) elde edilmiştir (Erkaya Kotan, 2020) Elde edilen ekstraktların protein içeriğini belirlemek amacıyla Folin Lowry Metodu (Lowry vd., 1951) kullanılmıştır. Bovine Serum Albumin (BSA) kullanılarak standart eğri grafiği oluşturulmuş ve bu grafik üzerinden elde edilen formül ile SÇE'lerin protein miktarları hesaplanmıştır. SÇE'lerin ADE-inhibisyon aktivitesi kolorimetrik ve spektrofotometrik analiz yöntemleri kullanılarak Erkaya ve Şengül (2015) tarafından ifade edildiği şekilde uygulanmıştır. 250 µl hippuril-histidin-lösin (HHL, Sigma Aldrich) solüsyonu (pH 8.3, HHL: 3.8 mmol/l, sodyum borat tamponu: 100 mmol/l, NaCl: 300 mmol/l) ve 35 µl SÇE karıştırılarak 37 °C'de 3 dakika süre ile inkübe edilmiştir. Daha sonra karışıma, 2 mU ADE (from rabbit lung; Sigma Aldrich) ilave edilerek 37 °C'de 30 dakika süre ile inkübe edildi. Reaksiyon 250 µL, 1 M HCl ilave edilerek durduruldu. Numunelerin deiyonize suya karşı, UV görünür spektrofotometre (Optizen Pop, Mecasys Co. Ltd., Daejeon, Korea) ile 393 nm'de absorbans değerleri ölçüldü.

ADE inhibisyon (%) değerleri aşağıdaki denkleme (2) göre hesaplanmıştır.

$$ADE - \text{inhibisyon aktivite} (\%) = 1 - \left(\frac{C-D}{A-B} \right) \times 100 \quad (2)$$

A: ADE içeren ancak örnek içermeyen numune absorbansı,

B: Hem ADE hem de örnek içermeyen numune absorbansı,

C: Hem ADE hem de Örnek içeren numune absorbansı,

D: Numune içeren ancak ADE içermeyen numune absorbansı.

%50 inhibisyon (ADE) için gerekli inhibitör (suda çözünür ekstrakt)

t) madde miktarının ifade edildiği IC₅₀ değerleri de ayrıca hesaplanmıştır. IC₅₀ değerleri yoğurtların SÇE'lerinin ADE-inhibitör aktivitesinin protein konsantrasyonuna karşı lineer regresyonu ile belirlenmiştir.

İstatistiksel Analizler

Analiz sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi SPSS 20 (IBM, New York, US)

paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel değerlendirme tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) uygulanarak yapılmıştır. Duncan çoklu karşılaştırma testi ile istatistiksel açıdan önemli çıkan farklılıklar ($P < 0.05$) harfler ile gösterilmiş ve ortalama değerlerin standart sapmaları hesaplanmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Yoğurtlara ait bazı fizikokimyasal analiz değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. Yoğurt örneklerinin kurumadde değerleri %11.11-18.05 arasında, ortalama değer ise %13.72 olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen kurumadde değerleri Demirkaya ve Ceylan (2013) tarafından belirlenen Bilecik piyasası yoğurtlarının ortalama kurumadde değeri (%13.96) ile benzerlik göstermekte olup, en düşük (%11.04) ve en yüksek (%18.55) değerleri Tavşanlı vd. (2020) tarafından yapılmış çalışmanın sonuçları ile uyumludur.

Çizelge 1. Yoğurt örneklerinin fizikokimyasal özellikleri

Table 1. Physicochemical properties of yogurt samples

Örnek Kodu Sample Code	Kurumadde (%) Dry matter (%)	Protein (%) Protein (%)	Yağ (%) Fat (%)	pH pH	Serum Ayrılması (ml/25g) Serum Separation (ml/25g)
Y1	14.86 ± 0.02 ^f	4.14 ± 0.05 ^c	3.80 ± 0.00 ^a	4.39 ± 0.01 ^{df}	0.95 ± 0.07 ^a
Y2	14.40 ± 0.06 ^c	4.45 ± 0.05 ^d	3.60 ± 0.00 ^a	4.61 ± 0.03 ^b	2.20 ± 0.21 ^b
Y3	14.29 ± 0.04 ^c	3.65 ± 0.15 ^b	3.60 ± 0.00 ^a	4.24 ± 0.03 ^c	2.10 ± 0.07 ^b
Y4	11.11 ± 0.02 ^a	3.28 ± 0.11 ^a	2.90 ± 0.00 ^c	4.35 ± 0.01 ^d	4.40 ± 0.28 ^c
Y5	13.59 ± 0.03 ^d	3.64 ± 0.04 ^b	3.80 ± 0.00 ^a	4.38 ± 0.01 ^{df}	1.80 ± 0.11 ^{ab}
Y6	14.49 ± 0.02 ^{ef}	3.55 ± 0.06 ^b	3.20 ± 0.00 ^b	4.41 ± 0.01 ^{dfg}	2.60 ± 0.17 ^b
Y7	12.77 ± 0.03 ^c	4.47 ± 0.17 ^{df}	3.15 ± 0.07 ^{bc}	4.44 ± 0.01 ^{fg}	2.40 ± 0.14 ^b
Y8	13.47 ± 0.01 ^d	4.52 ± 0.04 ^{df}	1.25 ± 0.07 ^d	4.47 ± 0.01 ^g	4.60 ± 0.24 ^{cd}
Y9	12.80 ± 0.01 ^c	4.66 ± 0.07 ^f	3.30 ± 0.14 ^b	3.79 ± 0.06 ^a	5.60 ± 0.27 ^{de}
Y10	13.24 ± 0.28 ^d	3.61 ± 0.06 ^b	2.00 ± 0.00 ^c	4.61 ± 0.06 ^h	6.30 ± 0.42 ^c
Y11	18.05 ± 0.14 ^g	3.99 ± 0.05 ^c	4.70 ± 0.14 ^f	3.97 ± 0.01 ^b	3.80 ± 0.28 ^c
Y12	11.58 ± 0.55 ^b	3.53 ± 0.01 ^b	3.20 ± 0.00 ^b	3.84 ± 0.00 ^a	9.00 ± 0.42 ^f
En Yüksek Highest	18.05	4.66	4.70	4.61	9.00
En Düşük Lowest	11.11	3.28	1.25	3.79	0.95
Ortalama Mean	13.72	3.96	3.21	4.29	3.81

Veriler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur; aynı sütunda farklı üst simge harfleri olan ortalamalar önemli ölçüde farklıdır ($P < 0.05$). Y = Yoğurt

Data are presented as mean ± standard deviation; means with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$). Y = Yogurt

Yoğurt örneklerinin ortalama protein değeri %3.96 olarak belirlenirken en yüksek ve en düşük değerler %3.28-4.66 olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Belirlenen bu değerler, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (2022) 'nde bulunan yoğurtların protein miktarının en az %3.0 olması gerektiği ibaresi ile uyum göstermektedir. Literatüre bakıldığında piyasadan alınan yoğurtların protein oranı ortalamaları, Bilecik ili piyasa araştırmasında %3.51 (Demirkaya ve Ceylan, 2013), Balıkesir ili araştırmasında %4.11 (Tavşanlı vd., 2020) ve Erzurum ili araştırmasında ise %3.43 (Bakırcı vd., 2015) olarak belirlenmiştir. Yoğurtlarda protein oranlarının farklılık göstermesinde kullanılan hammadde (süt) bileşiminin etkili olduğunu ileri sürmek mümkündür.

Piyasa yoğurt örneklerinin yağ değerleri %1.25-4.70 arasında değişmiştir ve ortalama değer %3.21 olarak bulunmuştur (Çizelge 1). Analizleri yapılan ve etiketinde tam yağlı yoğurt olduğu belirtilen yoğurtların bir kısmının tam yağlı yoğurt (Süt yağı > %3.8) standartlarına uymadığı anlaşılmıştır (Anonim, 2022). Piyasadan alınan 30 yoğurt örneği ile yapılan bir çalışmada, yağ değerleri %3.00-4.20 aralığında, ortalama %3.39 olarak bulunmuştur ve sonuçlar çalışmada bulunan değerler ile paralellik göstermektedir (Demirkaya ve Ceylan, 2013).

Yoğurt örneklerinin pH değerleri ortalama olarak 4.28 olarak belirlenirken en yüksek ve en düşük değerler 3.78 ile 4.61 arasında belirlenmiştir (Çizelge 1). Erzurum piyasası ile ilgili yapılan bir yoğurt çalışmasında ortalama pH değeri 4.95 olarak belirlenirken (Karacaoğlu ve Özdemir, 2021), yoğurda fonksiyonel polisakkarit ilave edilen başka bir çalışmada 4.23-4.44 arasında belirlenmiştir (Wang vd., 2022). Gürsoy ve Kayaardı (1999) tarafından yapılan bir çalışmada ise *Lactobacillus acidophilus* ve Bifidobakteriler ile üretilen diyet yoğurtların pH değerleri 4.00-4.29 aralığında bulunmuştur. Yoğurt bakterilerinin metabolik aktivitelerinde ve hücre canlılığında azalmaya neden olabilecek aşırı ekşimenin olmaması için yoğurdun pH'sının 4.2'den düşük olmaması gerekmektedir (Mohsin vd., 2022). Yoğurt starter kültürleri süt şekerini laktik aside metabolize ederek süt pH'sını düşürürler. Böylece

yoğurta karakteristik asidik tad ve aromanın oluşmasını sağlarlar. Kullanılan bakteri suşuna göre değişiklik göstermekle birlikte basiller laktik asit oluşumunda yüksek etkiye sahiptirler (Bakırcı vd., 2015). Bu durum, çalışmada belirlenen en düşük pH değerlerine sahip yoğurtların *L. bulgaricus* sayılarının daha yüksek bulunması ile doğrulanmaktadır.

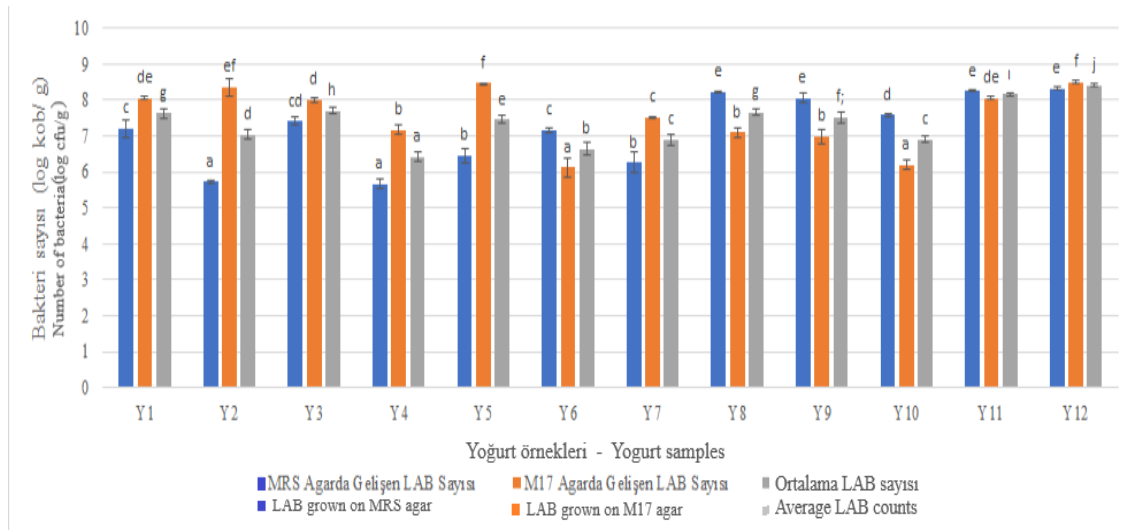
Sinerezis olarak da bilinen serum ayrılması, yoğurdun stabilitesi ve kalitesi açısından önemli bir parametredir. Serum ayrılması, yoğurt içerisinde hapsedilen suyun bu matriksin dışına çıkması olarak tarif edilebilir. Teknolojik açıdan serum ayrılması yüksek olan yoğurtlar kusurlu olarak değerlendirilmektedir (Amadarshanie vd., 2022). Bu çalışmada, yoğurtların serum ayrılması analiz sonuçları (Çizelge 1) 0.95-9 ml/25g arasında değişmektedir. Ortalama sonuç ise 3.81 ml/25g olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel değerlendirmede, yoğurt örneklerinin serum ayrılması sonuçları arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Yoğurt örnekleri arasında 6 farklı grup ortaya çıkmıştır ($P < 0,05$). Bu farklılıklar Çizelge 1'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıklar ürün bileşimi, üretim yöntemi, depolama süresi, uygun olmayan inkübasyon sıcaklığı ve hızlı asitlik gelişimi gibi faktörlere bağlı olarak ortaya çıkmış olabilir (Atasever, 2004; Hematyar vd., 2012; Arab vd., 2022). Yapılan bir çalışmada, piyasada satılan 40 adet yoğurdun serum ayrılması sonuçları 3.35-9.5 ml/25g arasında bulunmuştur (Bakırcı vd., 2015). Bu değerler bizim çalışmamızda elde ettiğimiz değerler ile benzerlik göstermektedir.

Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Yoğurt jeli oluşumu sırasında etkili olan laktik asit bakterilerinden (LAB) *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*'un yoğurdun tekstürel yapısı, tat ve aroması üzerinde önemli rolü vardır (Bakırcı vd., 2015). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde spesifik bakteri sayısının 7 log kob/g'ın üzerinde olması gerektiği ifade edilmektedir (Anonim, 2022). Yoğurtların mikrobiyolojik ekim sonuçları Şekil 1'de verilmiştir. Çalışmada elde edilen verilere göre MRS agarda gelişen *L. bulgaricus* sayısı ortalama 7.18 log kob/g olarak belirlenirken en yüksek

değer Y12 kodlu yoğurt örneğinde 8.32 log kob/g, en düşük değer ise 5.67 log kob/g ile Y4 kodlu yoğurt örneğinde belirlenmiştir. Ortalama *L. bulgaricus* değeri (7.18 log kob/g) standartlarda belirtilen değere uygunluk gösterirken örnekler ayrı ayrı incelendiğinde standarttan düşük ve yüksek değerler de tespit edilmiştir. Diğer taraftan M17 agarda gelişen *S. thermophilus* bakteri sayısı incelendiğinde ise ortalama değer 7.54 log kob/g ile standartlara uygunluk gösterdiği ancak bazı yoğurt örneklerinin toplam spesifik mikroorganizma değerinin (en az 10^7 kob/g) tebliğe uygun olmadığı belirlenmiştir (Anonim, 2022). Erzurum piyasası mahalli ve ticari yoğurtları üzerine yapılan bir araştırma sonucunda, MRS agarda gelişen LAB sayısı ortalama 4.71 log kob/g ve M17 agarda gelişen LAB sayısı ortalama 6.20 log kob/g olarak belirlenmiştir. Bu sonucun kullanılan kültürdeki bakteri oranları ve fermantasyon şartlarının

bakteri gelişimine olan etkisinden kaynaklanmış olabileceği ileri sürülmüştür (Karacaoğlu ve Özdemir, 2021). Başka bir çalışmada ise piyasa yoğurt örneklerinin LAB sayıları 5.08-7.98 log kob/g aralığında tespit edilmiştir (Demirkaya ve Ceylan, 2013). Bakırcı vd. (2015) yaptıkları çalışmada ise *S. thermophilus* bakteri sayısını ortalama olarak 8.16 log kob/g, *L. bulgaricus* sayısını ise 8.5 log kob/g olarak belirleyerek piyasa yoğurtlarının Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde belirtilen limitten yüksek olduğunu ifade etmişlerdir (Anonim, 2022). Bakteri sayıları arasında oluşan farklılıkların sebepleri arasında, üretim tekniği (inkübasyon süresi, sıcaklığı vb.), kullanılan LAB çeşidi ve oranı gibi faktörler sayılabilir (Bakırcı vd., 2015). Ayrıca fermantasyon başlangıcında *S. thermophilus*'un daha hızlı geliştiği, ilerleyen aşamalarda *L. bulgaricus* gelişiminin hızlandığı ifade edilmektedir (Karacaoğlu ve Özdemir, 2021).



Şekil üzerindeki farklı harflendirmeler örnek bakımından bakteri sayılarının $P < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak birbirlerinden farklı olduklarını ifade etmektedir. Y: Yoğurt

Different labels in the figure indicate that the bacterial counts in the sample differ statistically at the $P < 0.05$ level. Y: Yogurt

Şekil 1. Yoğurt örneklerine ait LAB sayıları

Figure 1. LAB numbers of yogurt samples

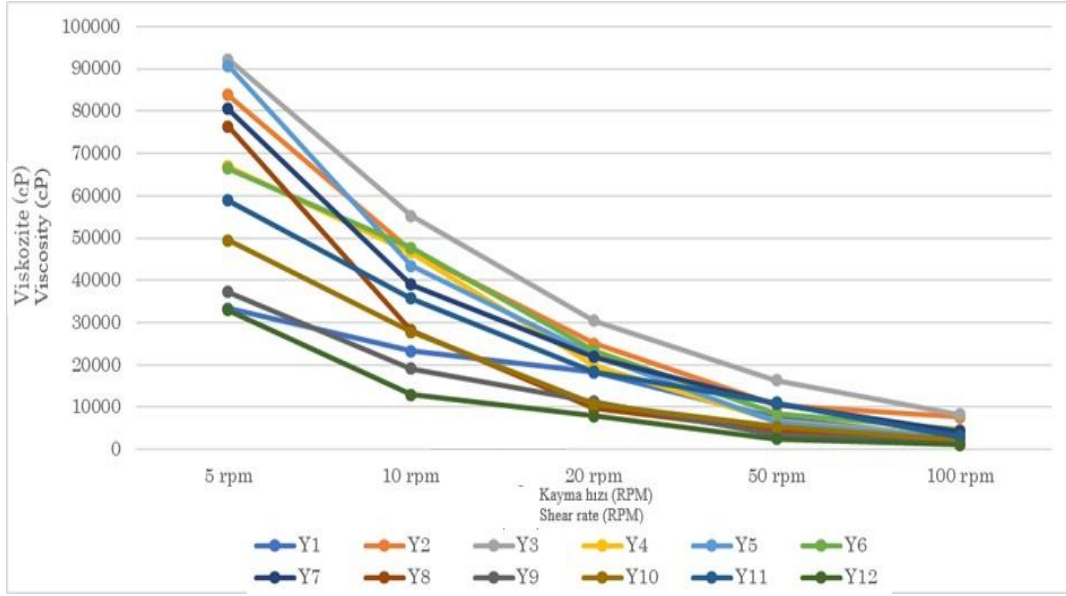
Viskozite ve Akış Özellikleri

Viskozite yoğurtta en önemli kalite parametrelerinden biridir. Yoğurt üretimi sırasında süte ön işlemlerin uygulanması, kullanılan starter kültürlerin tipi ve özelliği, üretim yöntemleri son ürünün viskozite, reoloji ve pıhtı stabilitesini önemli ölçüde etkilemektedir (Özer,

2006). Isıl işlemler, homojenizasyon, inkübasyon şartları, mekanik uygulamalar ve son ürünün depolanması gibi faktörler ise üretim parametreleri olarak viskozite üzerinde etki göstermektedir (Sodini vd., 2004). Yoğurdun tüketiciler tarafından tercih edilebilirliğini tat ve aromasının yanı sıra viskozite özellikleri

belirlenmektedir. Bu nedenle ürün kalite kontrolünde viskoelastik özelliklerin ölçümü önem arz etmektedir. Bu ölçümler ile yoğurt pıhtısının homojenliği ve yoğurt pıhtısındaki

proteinlerin bağlantı durumu hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir (Özer ve Robinson, 1999). Çalışma kapsamındaki yoğurtların viskozite değerleri Şekil 2'de gösterilmiştir.



Y: Yoğurt, Y: Yogurt
Şekil 2. Yoğurt örneklerinin viskozite değerleri
Figure 2. Viscosity values of yogurt samples

Analiz sonuçlarına göre 20 rpm de en yüksek değer 30425 cP ile Y3 kodlu yoğurt örneğinde belirlenirken en düşük değer 7913.0 cP ile Y12 kodlu yoğurt örneğinde belirlenmiştir (Şekil 2). Tüm yoğurt örneklerinde ortalama değer 18236.8 cP olarak belirlenmiştir. Çizelge 1 incelendiğinde Y12 kodlu yoğurt örneğinin kurumadde, yağ ve protein miktarlarının Y4 kodlu örnekten sonra en düşük olduğu ve en yüksek serum ayrılması değerine sahip olduğu görülmektedir. Bu durum, bu örneğin düşük viskozite değerlerini açıklamaktadır. Diğer taraftan örnekler arasında en yüksek viskoziteli yoğurtların kurumadde, yağ, protein ve pH değerlerinin daha yüksek, serum ayrılması değerlerinin ise daha düşük olduğu görülmektedir. Kurumadde ve protein oranı arttıkça yoğurt viskozitesinin artması beklenir (Atamer ve Sezgin, 1986; Pekçalışkan vd., 2023). Y2, Y3 ve Y6 yoğurt örneklerinin kurumadde ve viskozite değerleri diğer örneklere göre nispeten daha yüksektir. Y2 ve Y7 yoğurt örneklerinin protein oranları ile viskozitelerinin doğru orantılı

olduğu söylenebilir. Ancak diğer yoğurt örnekleri ile protein oranına bağlı olarak viskozitenin arttığı belirlenememiştir. Bu farklılıklar, kurumadde miktarı, uygulanan ısıl işlem sıcaklığı ve süresi, homojenizasyon, pH, kullanılan starter kültür, inkübasyon şartları, protein miktarı ve serum proteinlerinin denatürasyon oranı gibi viskoziteyi etkileyen faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermiş olabilir (Göçer vd.,2016; Akın ve Akın, 2016; Pekçalışkan vd. 2023).

Gıda endüstrisinde gıdaların gösterdiği akış özellikleri proses tasarımı, bileşen özellikleri, kalite ve raf ömrü kontrolü ve duyu değerlerle korelasyonunun belirlenmesi amacıyla önem arz etmektedir (Hu vd., 2022). Ürünün akış özellikleri uygulanan kayma hızına karşılık belirlenen kayma gerilimine bağlı olarak ortaya konulan reogram adı verilen akış eğrileri ile belirlenmeye çalışılır (Steffe, 1996; Koçak, 2004). Akışkan gıdaların akış özellikleri 'Power Law Modeli' kullanılarak belirlenmektedir. Bu modele göre artan kayma

hızıyla azalan viskozite değerlerine sahip gıdalar non-Newtonian gıda olarak değerlendirilmektedir. Dolayısıyla, çalışmamız kapsamında yoğurt örneklerinin non-Newtonian akış davranış özelliği gösterdiği sonucuna varılmıştır. Bahsi geçen matematiksel modellemeye göre kıvam indeksini ifade eden K değeri ve akış davranış indeksini ifade eden n

değeri akışkan gıdaları karakterize etmede kullanılan önemli parametreler olarak değerlendirilmektedir. Yoğurt örneklerinin akış davranış değerleri ise Çizelge 2’de verilmiştir. Akış davranış indeksini ifade eden n değeri 1’den büyük ise dilatant, küçük ise psödoplastik akış davranışı sergilediği söylenebilir.

Çizelge 2. Yoğurt örneklerinin viskozite değerleri ve akış davranış özellikleri

Table 2. Viscosity values and flow behavior properties of yogurt samples

Örnek Kodu Sample Code	Viskozite (cP) Viscosity (cP)	n	K (Pa.S ⁿ)	R ²
Y1	18220.0	0.1958	148895.5	0.9398
Y2	24987.5	0.1709	308970.2	0.9909
Y3	30425.0	0.2051	338067.2	0.9971
Y4	19700.0	0.0902	472125.4	0.9867
Y5	22351.3	0.1793	655399.3	0.9958
Y6	23375.0	0.0722	344896.6	0.9878
Y7	21850.0	0.0587	363305.7	0.9916
Y8	9700.0	-0.133	391601.5	0.9790
Y9	11350.0	-0.050	218163.5	0.9927
Y10	10650.0	0.0309	268874.5	0.9915
Y11	18319.8	0.0660	297152.3	0.9566
Y12	7913.0	-0.107	190232.1	0.9945
En Yüksek Highest	30425.0	0.2051	655399.3	0.9971
En Düşük Lowest	7913.0	-0.133	148895.5	0.9398
Ortalama Mean	18236.8	0.0645	333140.3	0.9837

Y: Yoğurt, Y: Yogurt

Araştırma sonuçlarına göre n değerleri 0.050 ile 0.2051 arasında belirlendiği için Erzurum piyasası yoğurt örneklerinin Newtonian olmayan psödoplastik akış davranışı sergilediği görülmektedir. Çizelge 2’ye göre kıvam indeksi değeri (K) en yüksek Y5 kodlu yoğurt örneğinde 655399.3 olarak belirlenirken en düşük değer Y1 kodlu yoğurt örneğinde 148895.5 olarak belirlenmiştir. Akış davranış indeksi (n) en yüksek 0.2051 değeri ile Y3 kodlu yoğurt örnekte belirlenirken en düşük -1.333 ile Y8 kodlu yoğurt örneğinde belirlenmiştir. Kalyas ve Ürkek (2020)’in siyah üzüm çekirdeği tozunun yoğurda etkisini inceledikleri çalışmada, K değerlerini 2970-7064 arasında belirlerken örneklerde psödoplastik akış davranışı tespit etmişlerdir.

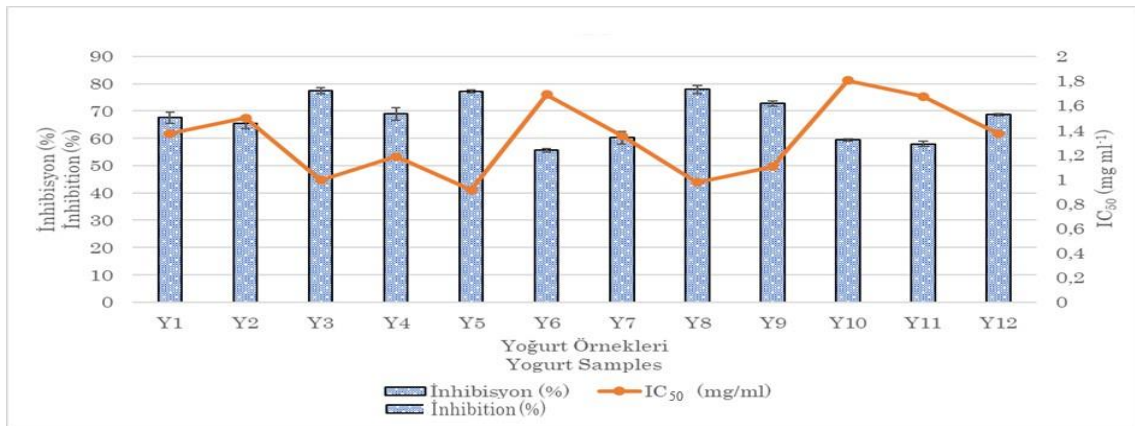
Düşünen (2018) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise inek sütü ikameli manda yoğurdunun kıvam indeksi değeri 13.5-25.1 Pa.sⁿ olarak belirlenirken n değerleri 0.061 ile 0.143 arasında belirlenerek psödoplastik davranış sergilediği ifade edilmiştir. Benzer şekilde, Gürbüz vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada doğal stabilizör ilaveli yoğurt örneklerinde n değeri 1’den küçük bulunmuş ve kayma hızıyla azalan viskozite değeri belirlenmesi ile Newtonian olmayan psödoplastik akış özelliği belirlenmiştir.

ADE-İnhibitör Aktivite Sonuçları

Yoğurtların IC₅₀ ve % ADE inhibisyon değerleri Şekil 3’te gösterilmiştir. Tüm yoğurtlar ADE inhibisyon aktivitesi göstermiş ve sonuçlar

arasında önemli farklar ($P < 0.05$) olduğu tespit edilmiştir. IC_{50} değerleri 0.91-1.80 mg/ml arasında, % inhibisyon değerleri ise %55.57-77.90 arasında değişim göstermektedir. IC_{50} değeri yükselirken, % inhibisyon değerinin ters orantılı olarak düşmesi beklenir. Bu durum, Şekil 3'te ayrıntılı olarak görülebilmektedir. Sonuçlar incelendiğinde Y3, Y5 ve Y8 kodlu yoğurtlar en yüksek % inhibisyon değerlerine (%77.46, 77.14 ve 77.90) sahipken, IC_{50} (1.00, 0.91 ve 0.98 mg/ml) sonuçlarının ise ters orantılı olarak en düşük değerlere sahip olduğu görülmektedir. Ancak bu örneklerin kendi aralarında istatistiksel olarak önemli farklar ($P > 0.05$) göstermediği belirlenmiştir. Diğer taraftan, Y6, Y10 ve Y11 kodlu yoğurtların en düşük % inhibisyon değerleri (%55.57, 59.40 ve 57.97) ile en yüksek IC_{50} değerlerine ise (1.69, 1.80 ve 1.67 mg/ml) sahip olduğu görülmektedir (Şekil 5). Benzer şekilde bu değerler arasındaki farklılıkların da önemli ($P > 0.05$) olmadığı bulunmuştur. İstatistiksel açıdan yoğurtların % inhibisyon değerleri arasında 5 farklı grup oluşurken, IC_{50} değerleri arasında ise 6 farklı grup ($P < 0.05$) oluşmuştur. En yüksek ADE-inhibitör aktiviteye sahip Y3, Y5 ve Y8 kodlu yoğurt örneklerinin LAB sayılarının da benzer şekilde yüksek olması biyoaktif peptitlerin de bu yoğurtlarda daha fazla üretilmiş olabileceğini göstermektedir. Diğer taraftan Y12 örneğinde LAB sayısının diğer örneklerle göre en yüksek olmasına karşın ADE-inhibitör aktivitenin bu yoğurt örneğinde en yüksek değerde olmadığı görülmektedir. Bu durum, bu örneğin tüm

örneklerle kıyasla en düşük protein içeriğine sahip olmasıyla açıklanabilir. Benzer şekilde LAB sayısı yüksek olmasına karşın ADE-inhibitör aktivite değeri düşük olan Y11 kodlu yoğurt örneğinin de oldukça düşük protein içeriğine sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 1). Biyoaktif peptitlerin fermente süt ürünlerinde LAB'ların proteolitik aktivitesine bağlı olarak oluştuğu düşünüldüğünde bu sonuçlar oldukça tutarlıdır. Ancak pazardan alınan bu yoğurtların içerdiği yoğurt bakterilerinin suşlarının ve proteolitik özelliklerinin bilinmemesi nedeniyle yoğurtların protein konsantrasyonu ve LAB sayıları ile ADE-inhibitör aktiviteleri arasında tam bir paralellik söz konusu değildir. Bununla birlikte; sonuçlar arasındaki farklılıklar sütün bileşimine (yağ, protein vb.), depolama süresi (Habibi vd., 2019), proteoliz (Silva vd., 2017) kullanılan starter kültürün özellikleri (Korhonen, 2009) ve üretim koşulları (Silva vd., 2018) gibi birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermiş olabilir. Bu çalışmada elde edilen ADE-inhibitör aktivite değerlerine benzer olarak Shakerian vd. (2015) probiyotik yoğurt ürettikleri çalışmada kontrol grubu yoğurtların % inhibisyon değerlerini %77.5-81.5 arasında bulurken, IC_{50} değerlerini ise 0.98-1.52 mg ml⁻¹ aralığında bulmuştur. Literatür incelemesinde yoğurtlarda ADE-inhibisyon aktivitesi ve IC_{50} sonuçları açısından sırasıyla %50-90 ve 0.5-2.0 mg/ml arasında değişkenlik gösteren başka araştırmalara da rastlanmıştır (Unal ve Akalın, 2012; Shori vd., 2013; Rutella vd., 2016; Abd El-Fattah vd., 2018; Abdel-Hamid vd., 2020; Shori vd., 2021).



Y: Yoğurt, Y: Yogurt

Şekil 3. Yoğurt örneklerinin ADE % inhibisyon ve IC_{50} (mg/ml) değerleri
Figure 3. ACE % inhibition and IC_{50} (mg/ml) values of yogurt sample

SONUÇ

Bu çalışmada, Erzurum piyasasında satışa sunulan yoğurtların fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve reolojik özelliklerine ait güncel bilgiler sunulmuştur ve ADE-inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışma kapsamında, yoğurt örneklerinde yapılan analizlerin ortalama değerleri arasında önemli farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak incelendiğinde, tüm yoğurtların protein oranlarının Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Ancak, 12 adet yoğurttan 3'ünün yağ oranlarının etikette belirtilen değerle uyumlu olmadığı görülmüştür. Yoğurtların serum ayrılması değerleri arasında da önemli farklılıklar gözlenmiştir. Reolojik özellikleri incelenen örneklerin beklendiği gibi Newtonian olmayan psödoplastik akış davranışı sergilediği belirlenmiştir. Ayrıca, 8 adet yoğurdun *L. bulgaricus* sayıları *S. thermophilus* sayılarına kıyasla daha yüksek bulunmuş olup iki bakteri arasındaki oranın tüm yoğurtlarda 1:1 olmadığı anlaşılmıştır. Diğer taraftan, yoğurt örneklerinin ADE-inhibisyon değerleri %55.57-77.90 arasında değişim göstermiş olup bu durum piyasada satılan yoğurtların tansiyon düşürücü etkilerinin yüksek olabileceğini ortaya koymuştur. *In vitro* şartlarda gerçekleştirilen ADE-inhibitör aktivite analiz sonuçları piyasada satışa sunulan yoğurtlar açısından bir fikir vermiş olmasına rağmen bu konuda daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZAR KATKILARI

Çalışmada Zeynep GÜRBÜZ, hammadde temini ve laboratuvar çalışmaları, sonuçların düzenlenerek yorumlanması ve makalenin yazımı, Hüseyin Ender GÜRMERİÇ laboratuvar çalışmaları, sonuçların düzenlenerek yorumlanması ve makalenin yazımı, Tuba ERKAYA KOTAN çalışmanın kurgulanması, makalenin incelenmesi ve sonuçların yorumlanmasında ve Mustafa ŞENGÜL çalışmanın yürütülme süreci ile sonuçların değerlendirilmesine katkıda bulunmuşlardır.

KAYNAKLAR

- Abd El-Fattah, A., Sakr, S., El-Dieb, S., Elkashef, H. (2018). Developing functional yogurt rich in bioactive peptides and gamma-aminobutyric acid related to cardiovascular health. *LWT*, 98: 390–397.
- Abdel-Hamid, M., Romeih, E., Huang, Z., Enomoto, T., Huang, L., Li, L. (2020). Bioactive properties of probiotic set-yogurt supplemented with *Siraitia grosvenorii* fruit extract. *Food Chemistry*, 303: 125400.
- Akal, C., Yetişemiyen, A. (2020). Probiyotik ve prebiyotik tüketiminin laktoz intoleransı üzerine etkileri. *Gıda / The Journal of Food*, 45(2): 380–389.
- Akın, M.S., Akın, M.B. (2016). Elma lifi ile zenginleştirilen set tipi yoğurtların bazı özelliklerine etkisi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 20(2): 94-104.
- Amadarshanie, D.B.T., Gunathilaka, T.L., Silva, R.M., Navaratne, S.B., Peiris, L.D.C. (2022). Functional and antiglycation properties of cow milk set yogurt enriched with *Nyctanthes arbor-tristis* L. flower extract. *LWT*, 154: 112910.
- Anonim, (2022). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2022/44). Resmi Gazete, Sayı: 32029. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2022/11/20221130-5.htm>.
- Arab, M., Yousefi, M., Khanniri, E., Azari, M., Ghasemzadeh-Mohammadi, V., Mollakhalili-Meybodi, N. (2022). A comprehensive review on yogurt syneresis: effect of processing conditions and added additives. *Journal of Food Science and Technology*, 60: 1656–1665.
- Atamer, M., Sezgin, E. (1986). Yoğurtlarda kurumadde arttırımının pıhtının fiziksel özellikleri üzerine etkisi. *Gıda*, 11(6): 327–331.
- Atasever, M. (2004). Yoğurt üretiminde bazı stabilizörlerin kullanımı. *YYÜ Vet Fak Derg*, 15(1–2): 1–4.
- Ay, C., Şanlı, T. (2018). Süt ürünlerinde biyoaktif peptitlerin oluşumu ve fonksiyonel özellikleri. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15(1): 115–120.

- Bakırcı, İ., Tohma, G.Ş., Yüksel, A.K. (2015). Erzurum piyasasında satışa sunulan yoğurtların fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özelliklerinin incelenmesi. *Akademik Gıda*, 13(2): 127–134.
- Demirkaya, A.K., Ceylan, Z.G. (2013). Bilecik'te tüketime sunulan yoğurtların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8(3): 202–209.
- Düşünen, Ö. (2018). İnek Sütü İlavesinin Manda Yoğurdunun Reolojik Özelliklerine Etkisi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 84 s.
- Erkaya, T., Şengül, M. (2015). Bioactivity of water soluble extracts and some characteristics of white cheese during the ripening period as effected by packaging type and probiotic adjunct cultures. *Journal of Dairy Research*, 82(1): 47–55.
- Erkaya Kotan, T. (2020). In vitro angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibitory and antioxidant activity of probiotic yogurt incorporated with orange fibre during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 57(6): 2343–2353.
- Ertem, H., Çakmakçı, S. (2019). Erzurum'da açık olarak satışa sunulan çiğ sütlerin bazı hileler ve kalite özellikleri yönünden araştırılması - ilgili tebliğ ile karşılaştırılması. *Atatürk üniv. Ziraat fak. Derg.*, 50 (3): 255-262.
- Gharehcheshmeh, M.H., Arianfar, A., Mahdian, E., Naji-Tabasi, S. (2021) Production and evaluation of sweet almond and sesame oil nanoemulsion and their effects on physico-chemical, rheological and microbial characteristics of enriched yogurt. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15: 1270–1280.
- Göçer, E.M.Ç., Ergin, F., Arslan, A.A., Küçükçetin, A. (2016). Farklı inkübasyon sıcaklığı ile inkübasyon sonlandırma pH'sının probiyotik yoğurdun fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisi. *Akademik Gıda* 14(4): 341-350.
- Gürbüz, Z., Erkaya Kotan, T., Şengül, M. (2021). Evaluation of physicochemical, microbiological, texture and microstructure characteristics of set-style yoghurt supplemented with quince seed mucilage powder as a novel natural stabiliser. *International Dairy Journal*, 114: 104938.
- Gürsoy, O., Kayaardı, S. (1999). Diyet acidophilus bifidus yoğurdu ve diyet yoğurdun kalite niteliklerinin incelenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 5(2–3): 1109–1114.
- Habibi Najafi, M.B., Fatemizadeh, S.S., Tavakoli, M. (2019). Release of Proteolysis Products with ACE-Inhibitory and Antioxidant Activities in Probiotic Yogurt Containing Different Levels of Fat and Prebiotics. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 25(1): 367–377.
- Hematyar, N., Samarin, A.M., Poorazarang, H., Elhamirad, A.H. (2012). Effect of gums on yogurt characteristics. *World Applied Sciences Journal*, 20(5): 661–665.
- Hu, L., Ding, F., Liu, W. (2022). Effect of enzymatic-ultrasonic hydrolyzed chitoooligosaccharide on rheology of gelatin incorporated yogurt and 3D printing. *Food Hydrocolloids*, 132(2): 107851.
- Işık, S., Işık H., Aytemiş, Z., Güner, S., Aksoy, A., Çetin, B., Topalcengiz, Z. (2022). Mikroyeşillikler: besinsel içeriği, sağlık üzerine etkisi, üretimi ve gıda güvenliği. *Gıda / The Journal of Food*, 47(4): 630-649, doi: 10.15237/gıda.GD22041
- Kalyas, A., Ürkek, B. (2020). Siyah üzüm çekirdeği tozunun yoğurtların bazı fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri üzerine etkisi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 9(2): 353–362.
- Karacaoğlu, Ş., Özdemir, S. (2021). Mahalli ve ulusal düzeyde üretilerek erzurum piyasasında tüketime sunulan yoğurtların bazı mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal açısından karşılaştırılması. *European Journal of Science and Technology*, (22): 381–392.
- Kızılaslan, N., Solak, İ. (2016). Yoğurt ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gaziosmanpaşa Journal of Scientific Research*, 12: 52–59.
- Koçak, A., Şanlı, T. (2016). Süt proteini kaynaklı ACE-inhibitör peptitleri: Oluşumu, etki mekanizması ve biyoyararlılıkları. *Gıda / The Journal of Food*, 41(4): 275–282.

- Koçak, E. (2004). Katı-su karışımlarının reolojik davranışlarının incelenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 141 s.
- Korhonen, H. (2009). Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Functional Foods*, 1(2): 177–187.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265–275.
- Metin, M. (2012). *Süt ve Mamülleri Analiz Yöntemleri*. Ege Üniversitesi Yayınları, Altıncı baskı, Bornova-İzmir, Türkiye, 439 s. ISBN: 9789759784102.
- Mohsin, A.Z., Marzlan, A.A., Muhiaddin, B.J., Wai, L.K., Mohammed, N.K., Meor Hussin, A.S. (2022). Physicochemical characteristics, GABA content, antimicrobial and antioxidant capacities of yogurt from Murrah buffalo milk with different fat contents. *Food Bioscience*, 49(August): 101949.
- Özdemir, T., Özcan, T. (2019) .Süt ürünlerinin mikro yapısının oluşumunda süt proteinlerinin önemi. *Journal of Agricultural Faculty of Bursa Uludağ University*, 33(2): 355–374.
- Özer, B. (2006). *Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi*. SIDAS, İzmir, Türkiye, 495 s. ISBN: 9759944566004.
- Özer, B.H., Robinson, R.K. (1999). The Behaviour of Starter Cultures in Concentrated Yoghurt (Labneh) Produced by Different Techniques. *Lwt*, 32(7): 391–395.
- Pekçalışkan E.Y., İnal, C., Yerlikaya, O., Kesenkaş, E., Uysal, H.R. (2023). İnülin ve *Bifidobacterium* spp. kullanılarak üretilen sinbiyotik yoğurtların bazı özellikleri. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 60(2): 303-316
- Rubak, Y.T., Nuraida, L., Iswantini, D., Prangdimurti, E. (2019). Production of antihypertensive bioactive peptides in fermented food by lactic acid bacteria – a review *Carpathian Journal of Food Science and Technology, Special issue*, 11(4): 29-44, <https://doi.org/10.34302/2019.11.4.3>.
- Rutella, G.S., Tagliazucchi, D., Solieri, L. (2016). Survival and bioactivities of selected probiotic lactobacilli in yogurt fermentation and cold storage: New insights for developing a bi-functional dairy food. *Food Microbiology*, 60: 54–61.
- Sahan, N., Yasar, K., Hayaloglu, A.A. (2008). Physical, chemical and flavour quality of non-fat yogurt as affected by a β -glucan hydrocolloidal composite during storage. *Food Hydrocolloids*, 22(7): 1291–1297.
- Savaiano, D.A., Hutkins, R.W. (2021). Yogurt, cultured fermented milk, and health: a systematic review. *Nutrition Reviews*, 79(5): 599–614, doi: 10.1093/nutrit/nuaa013.
- Shakerian, M., Razavi, S.H., Ziai, S.A., Khodaiyan, F., Yarmand, M.S., Moayedi, A. (2015). Proteolytic and ACE-inhibitory activities of probiotic yogurt containing non-viable bacteria as affected by different levels of fat, inulin and starter culture. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4): 2428–2433.
- Shori, A.B., Baba, A.S., Chuah, P.F. (2013). The effects of fish collagen on the proteolysis of milk proteins, ACE inhibitory activity and sensory evaluation of plain- and Allium sativum-yogurt. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 44(5): 701–706.
- Shori, A.B., Ling, Y.H., Baba, A.S. (2021). Effects of Lycium barbarum and fish collagen in cheese on the proteolytic degradation profile with anti-ACE activity. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3): e15239.
- Shori, A.B., Ming, K.S., Baba, A.S. (2021). The effects of Lycium barbarum water extract and fish collagen on milk proteolysis and in vitro angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of yogurt. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 68(2): 221–229.
- Silva, H.L.A., Balthazar, C.F., Esmerino, E.A. ... (2017). Effect of sodium reduction and flavor enhancer addition on probiotic Prato cheese processing. *Food Research International*, 99(May): 247–255.
- Silva, H.L.A., Balthazar, C.F., Esmerino, E.A., ... (2018). Partial substitution of NaCl by KCl and

- addition of flavor enhancers on probiotic Prato cheese: A study covering manufacturing, ripening and storage time. *Food Chemistry*, 248: 192–200
- Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, C., Corrieu, G. (2004). The Relative Effect of Milk Base, Starter, and Process on Yogurt Texture: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(2): 113–137.
- Speck, M.L. (1976). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. American Public Health Association, New York, USA, 750 s. ISBN: 978-0-87553-022-2.
- Steffe, J.F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. Freeman Press, East Lansing, MI, USA, 418 s. ISBN: 0-9632036-1-4.
- Su, N., Ren, L., Ye, H., Sui, Y., Li, J., Ye, M. (2017). Antioxidant activity and flavor compounds of hickory yogurt. *International Journal of Food Properties*, 20(8): 1894–1903.
- Tavşanlı, H., Gökmen, M., Önen, A. (2020). Balıkesir ilinde semt pazarlarında satışı sunulan yoğurtların fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(1): 318–326.
- Unal, G., Akalın, A.S. (2012). Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of yoghurt fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *Dairy Science and Technology*, 92(6): 627–639.
- Ünal, F.N., Kalyas, A., Gürbüz-Kaçan, Z., Şengül, M., Ürkek, B. (2020). Ticari Kefirlerin Bazı Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi. *Gıda / The Journal of Food*, 45(3): 555–563.
- Wang, J., Liu, B., Qi, Y., ... (2022). Impact of *Auricularia cornea* var. *Li* polysaccharides on the physicochemical, textural, flavor, and antioxidant properties of set yogurt. *International Journal of Biological Macromolecules*, 206: 148–158.
- Wulandani, B.R.D., Marsono, Y., Utami, T., Rahayu, E.S. (2018). Potency of yogurt as angiotensin converting enzyme inhibitor with addition of *Ficus glomerata* Roxb fruit extract. *International Food Research Journal*, 25(3): 1153–1158.



RAMAN SPEKTROSKOPİSİNİN ET KALİTESİ VE GÜVENLİĞİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANIMI

Hilal Soyocak^a, Fatih Öz^b, Sadettin Turhan^{a*}

^aOndokuz Mayıs Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Samsun, Türkiye

^bAtatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

Geliş /Received: 25.09.2023; Kabul /Accepted: 08.12.2023; Online baskı /Published online: 12.12.2023

Soyocak, H., Öz, F., Turhan, S. (2023). Raman spektroskopisinin et kalitesi ve güvenliğinin belirlenmesinde kullanımı. GIDA (2023) 48 (6) 1379-1393 doi: 10.15237/ gida.GD23116

Soyocak, H., Öz, F., Turhan, S. (2023). Use of Raman spectroscopy in determining the quality and safety of meat. GIDA (2023) 48 (6) 1379-1393 doi: 10.15237/ gida.GD23116

ÖZ

Et ve ürünlerinin güvenliği ve kalitesi, insan beslenmesi, sağlığı ve yaşam kalitesi açısından oldukça önemlidir. Son yıllarda et endüstrisinin hızlı büyümesi ayrıca beslenme ve gıda güvenliğine olan ilginin artması, gıdaların işleme ve depolama sırasında hızlı bir şekilde analiz edilmesi zorunluluğunu ortaya koymaktadır. Geleneksel analiz tekniklerinin, zaman alıcı, pahalı, örnekler zarar veren ve profesyonel operatörlere ihtiyaç duyan bazı dezavantajları bulunmaktadır. Günümüzde Raman spektroskopisi (RS), parmak izi potansiyeli, özgülüğü, hızı, tahribatsız ve taşınabilir olması nedeniyle et ve ürünlerinin analizinde giderek daha fazla ilgi görmektedir. Bu derleme çalışması, RS tekniğinin prensibini ve tarihsel gelişimini, çeşitli RS tekniklerinin özelliklerini ve RS'nin et kalitesi ve güvenlik analizindeki son gelişmelere ve uygulamalara genel bir bakışını özetlemektedir. Ayrıca RS'nin et endüstrisindeki mevcut zorlukları ile gelecekteki eğilimler hakkında da bilgi sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Raman spektroskopisi, et kalitesi, gıda güvenliği, hızlı analiz

USE OF RAMAN SPECTROSCOPY IN DETERMINING THE QUALITY AND SAFETY OF MEAT

ABSTRACT

The safety and quality of meat and its products are very important regarding people's nutrition, health, and quality of life. In recent years, the rapid growth of the meat industry and the increasing interest in nutrition and food safety revealed the necessity of analyzing foods quickly during processing and storage. Traditional analysis techniques have some disadvantages, including time-consuming, expensive, damage to samples, and the need for professional operators. Nowadays, Raman spectroscopy (RS) is drawing more and more attention in the analysis of meat and its products due to its potential in fingerprint, specificity, speed, non-destructive, and portable. This review summarizes the principle and development history of the RS technique, the characteristics of the various RS techniques, and an overview of the recent advances and applications of RS in meat quality and safety analysis. It also provides insight into the current challenges and future trends of RS in the meat industry.

Keywords: Raman spectroscopy, meat quality, food safety, rapid analysis

*Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author

✉: sturhan@omu.edu.tr

☎: (+90) 362 312 1919/1503

☎: (+90) 362 457 6034

Hilal Soyocak; ORCID no: 0000-0002-9754-3962

Fatih Öz; ORCID no: 0000-0002-5300-7519

Sadettin Turhan; ORCID no: 0000-0002-3510-4382

GİRİŞ

Et ve et ürünleri, proteinler, doymamış yağ asitleri, vitaminler, mineraller ve diğer temel besin öğeleri bakımından zengin kaynaklar olup, bunların tüketilmesi insan vücudunun normal aktivite ve metabolizmasını sürdürmesi için oldukça önemlidir. Küreselleşme ile hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde et ve ürünlerine yönelik küresel talep son yıllarda önemli düzeyde artmış ve 2019 yılında dünyada üretilen et miktarı 337 milyon tona ulaşmıştır. Et endüstrisinin hızlı büyümesi, özellikle et tedarik zincirinde çeşitlendirilmiş et işleme ve depolama yöntemleri için kalite kontrolünde bazı yeni sorunların ortaya çıkmasına yol açmıştır. Ayrıca, son yıllarda sağlıklı beslenme ve gıda güvenliği bilincinin artması, tüketicilerin daha kaliteli ve güvenilir gıda maddelerini talep etmesine neden olmuştur. Bu durum, et ve ürünlerinin elde edildikleri canlı hayvandan son ürüne kadar tüm aşamalarda kontrol edilmesi için sistematik yöntemlere ihtiyaç olduğunu göstermektedir (Teixeira ve Rodrigues, 2021; Qu vd., 2022).

Gıda maddelerinin kontrolünde bileşen analizi ve kalifikasyonu için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ve gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) gibi geleneksel yöntemler ve diğer analitik yöntemler yaygın olarak uygulanmaktadır. Ayrıca mikrobiyolojik analizlerde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve enzime bağlı immünosorbent (ELISA) testi geleneksel olarak kullanılan önemli yöntemler arasındadır. Bu yöntemler objektif ve güvenilir olmasına karşın zaman alıcı, pahalı, düşük verimli ve örneklerle doğrudan temas gerektirmektedir (Xu vd., 2021; Qu vd., 2022). Aynı zamanda bu yöntemler, karmaşık işlem aşamalarına sahip olduğundan ve örneklerin ön işleme tabi tutulmasını gerektirdiğinden çevrimiçi değerlendirme için endüstriyel ölçekte uygulamada zorluk oluştururlar. Bu nedenle gıda maddelerinin kontrol ve analizinde bu yöntemlere alternatif olarak kullanılabilecek yeni, hızlı ve tahribatsız analitik tekniklerin geliştirilmesi oldukça önemli ve acildir (Hassoun vd., 2020; Xu vd., 2021; Qu vd., 2022; Wu vd., 2022).

Geleneksel yöntemlerin dezavantajlarını ortadan kaldırmak ve endüstriyel ölçekte kullanılabilen teknikler geliştirmek için farklı spektroskopik ve görüntüleme teknikleri araştırılmıştır. Bunlardan kızılötesi spektroskopisi (IR), nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR), hiperspektral görüntüleme tekniği (HSI) ve Raman spektroskopisi (RS) teknikleri gıda bileşim analizlerinde kullanılmaya başlanmıştır (Hassoun vd., 2020; Orlando vd., 2021; Xu vd., 2021; Qu vd., 2022). Bu teknikler arasında RS, araştırmacıların artan şekilde ilgisini çekmiş ve hız, basit kullanım, ön işlem olmama veya basit bir ön işlem uygulama, suyla daha az karışma, kimyasal bileşenlerin parmak izi yapısal bilgilerini sağlama ve çevrimiçi algılama gibi benzersiz avantajları nedeniyle yeni, hızlı ve tahribatsız analiz tekniği olma potansiyeli sergilemiştir. Günümüzde RS, et ürünlerinin bileşimini belirlemek ve üründe oluşan veya hile amaçlı katılan zararlı maddeleri saptamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. RS'nin et biliminde uygulanması, özellikle son on yılda önemli ölçüde artmıştır (Qu vd., 2022).

Bu derleme çalışması, RS tekniğinin prensibini, tarihsel gelişimini, çeşitli RS tekniklerinin özelliklerini, RS'nin et kalitesi ve güvenlik analizindeki son gelişmelere ve uygulamalara genel bir bakışını özetlemektedir. Ayrıca RS'nin et endüstrisindeki sınırlamaları ve zorlukları ile gelecekteki perspektifleri hakkında da bilgi sunmaktadır.

RAMAN SPEKTROSKOPİ TEKNİĞİNİN PRENSİBİ VE TARİHSEL GELİŞİMİ

Raman spektroskopisinin prensibi

RS; ışık kaynağı, monokromatör, örnek hücresi, filtre ve dedektörden oluşan bir cihaz olup (Bērziņš vd., 2021), temel çalışma prensibi dışarıdan gönderilen fotonlar ile uyarılan molekülde meydana gelen etkileşimlerin belirlenmesine dayanmaktadır (Qu vd., 2022). RS'de ölçülen değer saçılan fotonun enerjisinde meydana gelen değişimdir. Ölçülen bu değer Raman ile kızılötesi spektroskopisinin farkını göstermektedir (He vd., 2019; Orlando vd., 2021).

Bir ışık kaynağından gönderilen fonda molekül ile etkileşim sonrası meydana gelen durumlar üç farklı şekilde olmaktadır. Bunlar;

i) Foton ile molekül etkileşimi meydana gelmekte ancak net enerji değişimi sıfır olmaktadır. Bu durumda gelen ışığın şiddeti ile saçılan ışığın şiddeti aynı olmaktadır. Bu saçılma tipi Rayleigh Saçılması (Elastik Saçılma) olarak isimlendirilmektedir.

ii) Molekül ile foton etkileşimi sonrası foton enerji kazanarak saçılabilir. Bu durumda gelen ışık ile saçılan ışık arasında pozitif yönde frekans artışı meydana gelmektedir. Bu saçılma Anti-Stokes Saçılması olarak adlandırılmaktadır.

iii) Molekül ile foton etkileşimi sonrası molekül enerji kazanırsa gelen fotonun frekansında azalma meydana gelmektedir. Bu saçılma tipi ise Stokes Saçılması olarak isimlendirilmektedir. Hem Stokes hem de Anti-Stokes saçılmalar elastik olmayan saçılma olarak tanımlanmaktadır (Wang vd., 2021; Mishra, 2022; Qu vd., 2022).

RS'de molekül yapıları, her bir bileşiğin farklı vibrasyon ve rotasyon modeli sergilemeleri ile belirlenmektedir. Yapılan ölçümler ile RS'den Raman pikleri, Raman kaymaları ve Raman yoğunlukları elde edilmektedir. Elde edilen bu

veriler ile bileşikte hem kantitatif hem de kalitatif analiz sonuçları elde edilebilmektedir. RS'den elde edilen spektranın X-ekseninde Raman kayması bulunurken, Y-ekseninde Raman yoğunluğu değeri yer almaktadır. Bileşiğe ait elde edilen piklerin yüksekliğinden bileşiğin konsantrasyonuna, pik genişliğinden kristalitesine ve pik kaymasından da bileşiğin stresine ulaşılabilmektedir. Bir bileşiğin 532 nm dalga boylu lazer kullanımında 547.14 nm'de görülen sinyalinin Raman kayması aşağıdaki gibi hesaplanmaktadır (Hadziç, 2022; He vd., 2019).

$$Raman\ kayması = 1/(532\ nm) - 1/(547.14\ nm) \quad (1)$$

Çizelge 1'de RS ile diğer spektroskopik tekniklerin karşılaştırılması verilmiştir. RS tekniği diğer spektroskopik teknikler ile karşılaştırıldığında bileşiklerin yapısal ve niteliksel bilgilerini sağlama yeteneğine sahip olması ve suya karşı düşük hassasiyet göstermesi gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca normal çevre koşullarında ve örnek hazırlama aşaması gerektirmeden analiz edilebilmektedir. RS, bir gıda örneği içerisindeki karbonhidrat, yağ ve protein gibi bileşiklerin belirlenmesinde oldukça başarılı bir yöntem olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, heterojen gıdaların kimyasal kompozisyonunu belirlemek için mikroskop ile kombine edilebilmektedir (Mishra, 2022).

Çizelge 1. Spektrofotometrik yöntemlerin karşılaştırılması (Hassoun vd., 2020; Mishra, 2022)

Spektroskopik Yöntem	Işık Kaynağı	Dalga Boyu Aralığı (nm)	Moleküler Kaynak	Sinyal Kaynağı	Avantajları	Dezavantajları
Floresans	Lazer	250-750	Elektronların bağlanması	Emisyon	Hız, hassasiyet, doğruluk, düşük maliyet	Floresans ışına yapan örneklerde kullanım, örnek yüzey tekniği
UV-Vis	Döteryum/tungsten halojen	190-750	Elektronların bağlanması	Absorpsiyon	Keskinlik, hassasiyet, renk ölçümünde kullanılabilirlik	Saçılma ve yol uzunluğu etkisi
NIR	Tungsten	750-2500	Temel bağların kombinasyonu ve titreşimsel overtone	Absorpsiyon	Düşük örnek hazırlama gereksinimi, fiziksel yapı ve suyun varlığı için yüksek hassasiyet	Referans metot gereksinimi, düşük spesifiklik, karışık spektrum, kuru örnek kullanma zorunluluğu
Raman	Lazer	750-1064	Titreşimsel geçişler	Saçılma	Yapısal ve niteliksel bilgi sağlama, suya karşı düşük hassasiyet	Floresanstan kaynaklanan gürtültü, zayıf saçılma nedeni ile düşük hassasiyet
MIR	Tungsten	2500-25000	Temel bükme, dönme ve germe enerjisi	Absorpsiyon	Kimyasal bileşenlere karşı yüksek hassasiyet, belirgin pik tepe noktası	Su girişimi ve düşük ışık penetrasyonu

IR tekniğinde, elektriksel dipol moment değişikliklerinden kaynaklanan titreşimler tespit edilmektedir. RS'de ise polarizasyondan kaynaklanan titreşimler belirlenmektedir. Bir molekülün iki özdeş yapısını veya benzer parçasını birbirine bağlayan bağların (C=C) zayıf polarize olan bağlardan (OH) daha aktif olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle IR'de baskın olarak gözlenen su molekülleri, RS'de zayıf pikler oluşturmaktadır. Böylece su içeriği yüksek veya sulu örneklerde RS kullanımı avantaj sağlamaktadır (Taylor ve Donnelly, 2020; Orlando vd., 2021).

RS, beş temel bileşenden oluşmaktadır. Bunlar lazer lamba kaynağı, örnek hücresi, filtre, monokromatör ve dedektördür (Bērziņš vd., 2021).

i) Lazer lamba kaynağı: Analiz edilecek örneğe uygun lazer lamba kaynağı seçimi oldukça önemlidir. Çalışma esnasında kullanılacak dalga boyu seçiminde floresans ışımadan kaçınılması önemlidir. Yakın kızılötesi veya ultraviyole dalga boyları seçildiğinde floresans ışımadan kaçınılmaktadır. Eğer analiz edilecek örnek için belirtilen dalga boyları uygunsa seçim ona göre yapılmalıdır (Butler vd., 2016).

Gıda örneklerinde sıklıkla kullanılan lazer kaynakları; argon (Ar) lazer (488-514.5 nm), kripton (Kr) lazer (530.9-647.1 nm), helyum/neon (He/Ne) lazer (632.8), diyot lazer (630-785 nm) ve neodyum/yttrium alüminyumoksit garnet (Nd:YAG) (532-1064 nm) lazerdir. Kullanılan ışık kaynakları arasında diyot lazerler katı ve yarı katı teknolojileri sayesinde daha yüksek enerji verimliliğine sahiptir. Yüksek dalga boylu lazer kaynakları tercih edildiğinde Fourier Transform RS olarak tanımlanan yöntem kullanılmaktadır. Görünür dalga boylarına sahip lazer kaynakları kullanıldığında RS'ye mikroskop bağlanır. Bu yöntem mikro-RS olarak isimlendirilir ve analitik teknikler ile heterojen gıdaların kimyasal bileşimlerinin araştırılmasını kolaylaştırır (Orlando vd., 2021; He vd., 2022; Qu vd., 2022).

ii) Filtre ve monokromatörler: RS'de kullanılan filtrenin rolü dedektöre girmeden önce saçılan ışığı filtrelemektir. Ayrıca dış radyasyon kaynaklarından örneğin zarar görmesini engellemek için de kullanılmaktadır (He vd., 2022). Analiz sırasında meydana gelen Rayleigh saçılmaları Raman saçılmasından daha fazla olmaktadır. Bu nedenle özel olarak tasarlanmış Rayleigh filtreleri veya çok kademeli monokromatörler sıklıkla tercih edilmektedir. Kullanılan filtrelerin, analizde tercih edilen lazer dalga boyuna göre seçilmesi gerekmektedir (Butler vd., 2016).

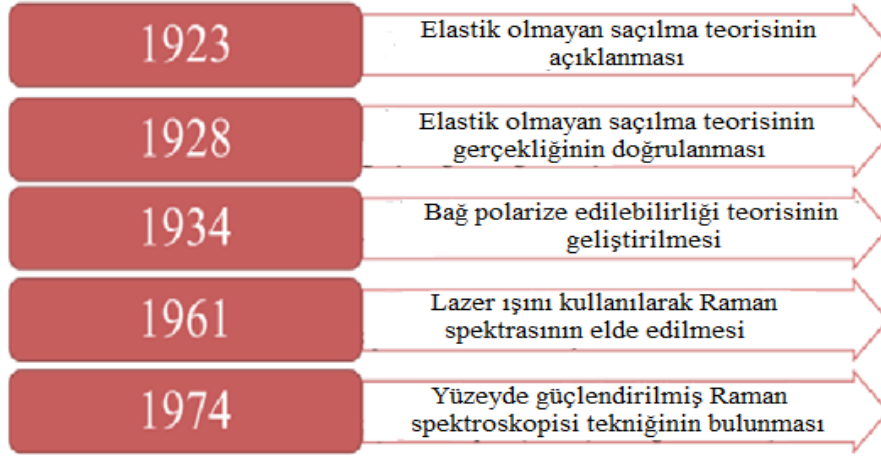
iii) Dedektör: Spektroskopide kullanılan dedektörlerin çok düşük Raman sinyallerini bile belirleyecek hassasiyete sahip olması istenir. RS'de sıklıkla kullanılanlar; i) şarj bağlantılı cihazlar (charge coupled devices), ii) fotoçoğaltıcı tüpler (photomultiplier tubes) ve iii) fotodiyot array (photodiode array) dedektörlerdir (Butler vd., 2016). Bunlar arasında RS'de sıklıkla kullanılan dedektör şarj bağlantılı cihazlardır (CCD). Bu dedektörler yüksek kuantum etkinliğine ve düşük sinyal/gürültü oranına sahiptir. Elektron çoğaltıcı CCD'ler geleneksel CCD'ler ile karşılaştırıldığında saçılmalara karşı oldukça yüksek hassasiyete sahiptir. Genel olarak dedektörlerde gürültüden kaynaklı ısınma meydana gelebilmektedir. Bu durum olduğunda analizlerin ölçümünde yanlışlıklar meydana gelebilir. Bunu önlemek için dedektörlerin soğutulması gerekmektedir. Dedektörlerin soğutulmasında sıklıkla kullanılanlar, sıvı nitrojen kriyojenik ve termoelektrik peltier soğutuculardır. -80 ile -100 °C arasına soğutulan dedektörlerde gürültü engellenmesi başarılı şekilde sağlanabilmektedir (Butler vd., 2016; He vd., 2022; Qu vd., 2022).

Raman spektroskopisinin tarihsel gelişimi

RS tekniğinin gelişimi, teorisinin oluşturulması ve ekipmanın yenilenmesi de dahil olmak üzere uzun bir dönemden geçmiştir (Şekil 1). RS'nin keşfedilmesi 1923 yılına dayanmaktadır. 1923 yılında, Avusturyalı fizikçi Adolf Gustav Stephan Smekal, fotonlardaki elastik olmayan saçılma teorisini açıklamış ve ardından 1928 yılında Hintli fizikçi Venkata Raman ve çalışma arkadaşları bu

teorinin gerçekliğini doğrulamışlardır. 1934 yılında G. Placzek, Raman saçılmasının bağ polarize edilebilirliği teorisini geliştirmiş ve Placzek'in bu teorisi, fizikçiler ve kimyagerler

tarafından saçılma yoğunluğunun ölçülmesinde kullanılmıştır (Smith ve Dent, 2019; Qu vd., 2022).



Şekil 1. Raman spektroskopisinin tarihsel gelişimi

Teorik olarak açıklanan RS, bu tarihten sonra ışık kaynaklarındaki yetersizlikler nedeniyle ekipmanlar ile yeterince kombine edilememiş ve 1930'lardan 1960'lara kadar Raman saçılması üzerine yapılan çalışmalar düşük seviyelerde kalmıştır. 1961 yılında Raman spektrumları için uyarıcı olarak lazer ışını ilk kez başarılı bir şekilde kullanan Porto ve Wood isimli iki fizikçi tarafından bu durum bozulmuş ve bu tarihten sonra RS alanında çalışmalar hızlanmıştır. RS'nin uyarma ışık kaynağı olan görünür ışığın, yakın kızılötesi dalga boyundaki lazerle değiştirilmesiyle görünür ışık altında flüoresan girişimi etkili bir şekilde önlenmiş, ayrıca zayıf Raman spektrum sinyalinin üstesinden gelinmiş ve algılama hassasiyeti geliştirilmiştir. Bu gelişmeler RS tekniğinin yeni bir aşamaya girmesini sağlamıştır. O tarihten sonra dağılımlı RS, mikro-RS, konfokal Raman mikroskobu, Fourier dönüşümü RS (FT-RS) ve uzamsal ofset RS (SORS) gibi farklı Raman teknikleri değişik amaçlı analiz ve ölçümlerde yaygın olarak uygulanmaya başlanmıştır (Akçe ve Kadioğlu, 2020; Qu vd., 2022).

RAMAN SPEKTROSKOPİSİ TEKNİKLERİ

Gıda maddelerinin analizinde hedeflenen amaçlar doğrultusunda farklı RS tekniklerinden yararlanılmaktadır. Aşağıda yaygın olarak

kullanılan bu teknikler hakkında kısa bilgiler verilmiştir.

Raman mikroskopisi

Raman mikroskopisi, RS ve optik mikroskopinin kombinasyonundan oluşmaktadır (Urashima vd., 2023). Örnek yüzeyi hakkında bilgi edinilmesini sağlar ve sınıflandırma analizlerinde sıklıkla kullanılır. Örnek hazırlamaya gerek duyulmayan bir yöntemdir. Ancak analizlerin yavaş gerçekleşmesi dezavantajına sahiptir (Shipp vd., 2017; Ilchenko vd., 2019).

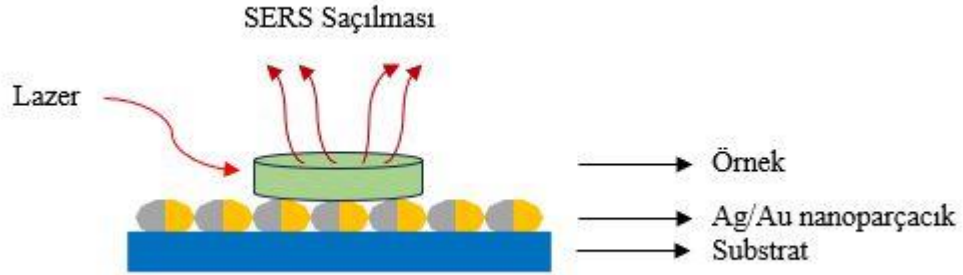
Rezonans Raman spektroskopisi

Spesifik olarak hedeflenen bir bileşik olduğunda kullanılan bir yöntem olup özellikle biyolojik örneklerde tercih edilmektedir. Saçılan titreşimlerden sadece bir kısmına odaklanmayı sağlar ve güçlü sinyaller elde edilebilir. Ancak sadece bazı moleküllerin ölçümünde kullanılabilir ve genel tanımlama yapılmasına uygun değildir (Shipp vd., 2017; Buhrke ve Hildebrandt, 2019).

Yüzeyde güçlendirilmiş Raman spektroskopisi

Yüzeyde güçlendirilmiş RS (SERS), Raman saçılma sinyallerinde büyük bir artış sağlayan pürüzlü metal yüzeylerde adsorban moleküllerinin

tespiti için en hassas tekniklerden biridir (Şekil 2) (Bell vd., 2020; Zhang vd., 2021).



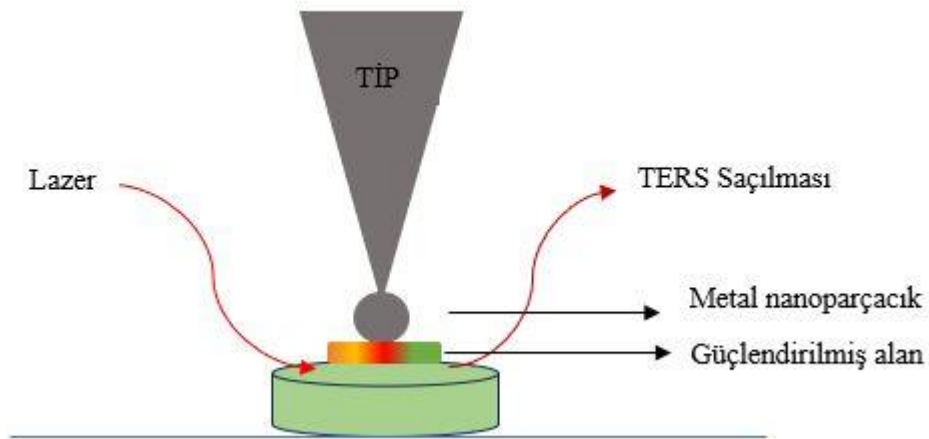
Şekil 2. Yüzeyde güçlendirilmiş Raman spektroskopisi tekniğinin şematik görüntüsü

Hem iz miktardaki bileşikleri belirlemek hem de sinyal gücünü artırmak için sıklıkla tercih edilmektedir. Sinyallerin güçlendirilmesinde iki yöntem kullanılmaktadır. Bunlar; (i) pürüzlü metal yüzey ile elektromanyetik güçlendirme ve (ii) pürüzlü metal yüzeylerde adsorbe edilen moleküllerin elektronik eşlenmesinden dolayı kimyasal güçlendirme. Özel olarak hazırlanmış gümüş, altın ve bakır gibi metal yüzeyler Raman sinyal yoğunluğunu 10⁴-10⁶ seviye artırabilirler. Floresansı baskılayarak Raman sinyallerinin güçlenmesini ve algılama sınırının düşmesini sağlarlar. Örnek hazırlama aşaması gerektirmeyen

bu teknikte nanopartikül hazırlama aşaması bulunmaktadır (Shipp vd., 2017; Bell vd., 2020; He vd., 2022; Yılmaz vd., 2022).

Uçta Güçlendirilmiş Raman spektroskopisi

Uçta güçlendirilmiş RS (TERS) yöntemi, taramalı prop mikroskobu ile yüzeyde güçlendirilmiş RS tekniğinin birleşiminden meydana gelmiştir (Şekil 3). Hem yüzey morfolojisi hakkında bilgi edinilmesini sağlar hem de Raman sinyallerini ölçerek kimyasal analiz gerçekleştirilir (Malard vd., 2021; Cao ve Sun, 2022).



Şekil 3. Uçta güçlendirilmiş Raman spektroskopisi tekniğinin şematik görüntüsü. TIP: Tarama probu mikroskobu

Bu yöntem günümüzde biyotıp, tıbbi görüntüleme ve yarı iletkenlerin ölçümü gibi çeşitli alanlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Uçta güçlendirilmiş RS ile yüzeyde güçlendirilmiş RS, aktivitesi olmayan pürüzsüz yüzeyli malzemelerin incelenmesini sağlar ve optik kırınım limiti ile sınırlanan çözünürlüğü düşük örneklerde kullanım potansiyeli verir (Shao ve Zenobi, 2019; Cao ve Sun, 2022).

İletim (Transmisyon) Raman spektroskopisi
Dağınık saçılma sahip örneklerin yığın içeriğinin araştırılmasında kullanılan bir yöntem olup RS'nin özel bir uygulamasıdır. Bu yöntemde, lazer ışınının ve Raman sinyallerinin toplandığı bölge örneğin iki zıt tarafında bulunmaktadır. Örnek hazırlama aşaması gerektirmeyen bu yöntemde örneğin tam spektrumu elde edilebilmektedir. Eczacılıkta ilaç analizlerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Shipp vd., 2017; Nicolson vd., 2021).

RAMAN SPEKTROSKOPİSİNİN KULLANIM ALANLARI

RS, bilimsel disiplinlerde gün geçtikçe önemli hale gelen bir yöntem olup geniş bir uygulama alanına sahiptir. Günümüzde adli bilimler, biyoloji, materyal bilimleri, eczacılık, nanoteknoloji ve gıda teknolojisi alanlarında kullanılmaktadır (Silge vd., 2022). RS ile örnek analizinde yüksek doğruluk elde edilse de bazı bileşikler arasında çok küçük farklılıklar meydana gelebilmektedir. Bu nedenle araştırmacılar bu küçük farklılıkları belirleyebilmek için çeşitli veri analiz metodları kullanılmaktadır. Örneğin kimyasal kompozisyonu belirlemek, bakteri türlerini tespit

etmek veya doku tipini belirlemek için kullanılan yöntemlerden en sık tercih edilenlere; direkt pik analizi, temel komponent analizi (PCA), küme analizi, kısmi en küçük kareler (PLS) ve yapay sinir ağı analizi örnek olarak verilebilir (Orlando vd., 2021; Shipp vd., 2017).

RAMAN SPEKTROSKOPİSİNİN ET VE ÜRÜNLERİNDE KULLANIM ALANLARI Temel bileşenlerin belirlenmesi

Doku ve hücrelerde bulunan lipid, protein, nükleik asit gibi bileşikler RS'de 600-1800 cm^{-1} bölgesinde belirlenmekte ve bu bölge örneğin parmak izi olarak adlandırılmaktadır (Shipp vd., 2017; Pchelkina vd., 2022).

Proteinler

Hücrelerde yapısal ve fonksiyonel özelliklere sahip olan proteinlerin ikincil yapısının temeli α -heliks ve β -tabakadan oluşmaktadır. Proteinler genel olarak benzer amino asitlerden meydana geldiklerinden bu temel yapı amid bandı olarak isimlendirilmektedir. Proteinlerin ikincil yapılarının belirlenmesinde kullanılan Amid I ve Amid III bantları sırasıyla 1650-1690 cm^{-1} ve 1250-1270 cm^{-1} aralığında band oluşturmaktadırlar. Amid I bandı genellikle C=O (karbonil) gerilmesini ifade ederken, Amid III bandı N-H bağı ifade etmektedir. Proteinlerin yan zincirleri de ayrı bantlar oluşturmaktadır. Örneğin fenil halkası 1000-1005 cm^{-1} aralığında bant oluşturmaktadır (Shipp vd., 2017; Qu vd., 2022). Proteinler ile ilişkilendirilen bantlar değişik araştırmacılar tarafından belirlenmiş ve Çizelge 2'de sunulmuştur.

Çizelge 2. Protein ve lipitler ile ilişkili bantlar

Bant (cm^{-1})	İfade	Kaynaklar
500-550	Disülfit bağı (S-S)	Kuhar vd., 2021; Stone vd., 2002
755-830	Triptofan	Krimm ve Bandekar, 1986; Stone vd., 2002
911	Kısa zincirli lipitler	Notingher vd., 2003
935-937	C-C iskelet yapısı (α -heliks)	Gremlich ve Yan, 2000
1066;1080-1083; 1125-1128	C-N bağı	Gremlich ve Yan, 2000; Stone vd., 2002
1155-1158	C-C/C-N bağı	Gremlich ve Yan, 2000; Notingher vd., 2003
1225-1280	Amid III	Kuhar vd., 2021
1295-1305	CH ₂	Notingher vd., 2003; Bitar vd., 2006
1446-1449	C-H ₂ bağı	Gremlich ve Yan, 2000; Stone vd., 2002
1645-1660	C=C cis gerilme	Notingher vd., 2003; Bitar vd., 2006
1645-1680	Amid I	Kuhar vd., 2021; Herrero, 2017
1720-1750	C=O esterleri	Notingher vd., 2003; Bitar vd., 2006

Domuz etine uygulanan farklı sıcaklık ve sürenin proteinlere etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, 50-70 °C sıcaklık aralığında 2-4 saat pişirilen örnekler RS'de analiz edilmiş ve 4 saatlik pişirme işleminde sıcaklık arttıkça S-S bağlarında azalma meydana gelmiştir. Ayrıca Amid I ve C-C bağlarının pik yoğunluğunda da azalma görülmüştür. Elde edilen sonuçlardan etlere uygulanan termal işlem ile proteinlerin ikincil yapılarında meydana gelen değişimlerin belirlenebileceği rapor edilmiştir (Berhe vd., 2014).

Domuz miyofibriler proteinlerinin jel kalitesi üzerine düşük frekanslı manyetik alan (3.8 mT) ve pH'nın (5-7) kombine etkisini araştıran Yang vd. (2020), jel kalitesinde meydana gelen değişimleri belirlemek için RS'de ölçümler yapmışlardır. Artan pH ve düşük manyetik alan uygulamasının sinerjist etki gösterdiği ve pH 5.5-7.0 aralığında düşük manyetik alan uygulamasında başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Artan triptofan ve tirozin kalıntılarının hidrojen bağlarına katıldığı, artan alifatik kalıntıların ise hidrofobik etkileşimleri artırdığı ve sonuç olarak proteinlerin su tutma kapasitesini artırarak jelleşme özelliğini iyileştirdiği bildirilmiştir.

Monago-Maraña vd. (2021), etlerin kolajen miktarının belirlenmesinde farklı spektroskopik tekniklerinin kullanım potansiyeli üzerine yaptıkları çalışmada, NIR, floresans ve RS tekniklerini kullanmışlardır. Araştırma sonucunda floresans spektroskopisinden elde edilen piklerin çok belirgin olmadığı ve örnekteki diğer proteinlerden etkilendiği gözlemlenmiştir. NIR sonuçlarında daha belirgin pikler elde edilmiş, ancak et türleri arasındaki farklılıkların belirlenmesinde sınırlamalar olduğu görülmüştür. RS pikleri incelendiğinde ise düzgün ve belirgin pikler elde edilmiş ve elde edilen piklerin kolajen ile ilişkilendirilmesi daha kolay olmuştur. Sığır eti ve kümes hayvanı yan ürünlerinin kolajen miktarları ile ilgili en yüksek R² (belirleme katsayısı) ve en düşük tahmin hatası değeri RS'de elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlardan RS'nin etteki kolajen miktarının belirlenmesi için potansiyel bir araç olduğu rapor edilmiştir.

Lipitler

Et ve et ürünlerinde lipit miktarını ve yapısını belirlemek için kullanılan solvent ekstraksiyonu ve gaz kromatografisi gibi teknikler zaman alma, düşük verim, kompleks adımlar ve örnek hazırlama zorunluluğu gibi dezavantajlara sahiptir. Bu nedenle lipit yapısını belirlemek için RS'nin kullanımı önem kazanmıştır. Raman'ın lipitler hakkında bilgi sağlama özelliği yağ asitlerinin yoğunluğu, konumu ve doygunluk derecesinden etkilenen Raman bantları sayesinde gerçekleşmektedir. 1650 cm⁻¹ bandı hem Amid I protein piki hem de lipitlerin hidrokarbon yapılarındaki C=C bağlarını temsil etmektedir (Çizelge 2). Ancak lipitlerden dolayı oluşan pik zirvesi oldukça dardır ve böylece proteinlerden ayırt edilebilir (Shipp vd., 2017; Qu vd., 2022).

Shao vd. (2011) farklı lipitler (soya yağı, domuz yağı, tereyağı) ile hazırladıkları et hamurlarında ısıtma işlemi uygulamadan ve uygulandıktan sonra RS ile ölçüm yaparak yapısal değişiklikleri incelemişlerdir. Raman piklerinde gözlemlenen değişikliklerin kullanılan yağlardan ve protein-yağ etkileşiminden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Çalışma sonunda ürüne farklı lipit ilavesi ile ısıtma işlemi uygulamasının proteinlerin yapısını, hamurun akışkanlığını ve tekstürel özelliklerini etkilediğini rapor etmişlerdir.

Gao vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada, farklı hayvan türlerine ait unlarda tür ayrımının belirlenmesinde FT-IR ve RS tekniklerinin kullanılabilirliği araştırılmıştır. Çalışmada 18'i domuzdan, 20'si kümes hayvanlarından, 16'sı sığırdan, 14'ü ise koyundan oluşan toplam 68 et ve kemik unu örneği kullanılmıştır. Çalışma sonunda elde edilen sonuçlar doğrultusunda Raman spektrumlarının farklı hayvan türlerinde farklı şekilde elde edildiği belirlenmiştir. Yağ asidi miktarının tür ayrımını gerçekleştirmede temel faktör olarak yüksek korelasyona sahip olduğu bildirilmiştir. Özellikle 1742, 1654, 1438, 1298 ve 1264 cm⁻¹'deki pik yoğunluklarında et ve kemik unları için önemli farklılıklar meydana geldiği gözlemlenmiştir (Gao vd., 2021).

Fizikokimyasal karakteristik

RS, et ve ürünlerinde önemli kalite parametreleri olan pH, su tutma kapasitesi, pişirme kaybı, dilimleme kuvveti, sarkomer boyu gibi fizikokimyasal özelliklerin belirlenmesinde kullanım potansiyeline sahiptir. pH, etlerde post-mortem değişikliklerin bir göstergesidir. Eterde meydana gelen kesim sonrası değişiklikler uygun koşullarda gerçekleşmez ise gıda endüstrisi için sorun olan koyu, sert, kuru (DFD) ve soluk, yumuşak, sulu (PSE) etlerin oluşmasına neden olur. RS ile üründe meydana gelen laktik asit birikimi ve pH düşmesi belirlenebilmektedir. Et ürünleri için önemli olan diğer bir parametre su tutma kapasitesidir. Ürünün depolanması ve işlenmesi sırasında meydana gelen damlama, ürünlerde sorunlara neden olmaktadır. Ayrıca ısı işlem görmüş ürünlerde pişirme kaybı et endüstrisi için önemli bir faktördür ve su tutma kapasitesi ile ilişkilidir. RS, bu parametreler dışında ısı işlem ve dondurma işlemlerinde son nokta sıcaklığının ve myoglobin yapısı değişikliğinin belirlenmesi gibi birçok faktörün analizinde kullanılabilir (Jankowiak vd., 2021; Robert vd., 2021; Qu vd., 2022).

RS kullanılarak domuz etinde kesim sonrası erken dönemde pH ve pH'ya bağlı değişikliklerin belirlenmesinin amaçlandığı bir çalışmada, 96 adet domuz etinde kesimden sonra 45. dakika ve 24. saatte Raman ölçümleri alınmıştır. Ölçümler karınca koloni optimizasyon (ant colony optimization) algoritması ile incelenmiştir. RS'den elde edilen spektrumlar incelendiğinde 45. dakika ve 24. saate özel pikler elde edilmiştir. Böylece elde edilen piklerden pH tahmininde bulunulabileceği ve kesim sonrası etin hangi aşamada olduğunun belirlenebileceği bildirilmiştir. RS'nin bu alanda hızlı ve örneğe zarar vermeden analiz yapılmasında kullanılabilir bir yöntem olduğu rapor edilmiştir (Nache vd., 2016).

Katemala vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada, farklı yetiştirme dönemlerinde tavuk etlerinin Raman karakteristikleri incelenmiştir. Yetiştirme dönemlerinin 8, 10, 12, 16 ve 20. haftalarında kesim yapılmış ve hem çığ (göğüs ve but) hem de haşlanmış örneklerin Raman ölçümleri alınmıştır.

Ölçümler sonucunda tavuk göğüs eti proteinlerinin α -heliks yapısında olgunlaşma süresince azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca tavuk but etinde göğüs etine göre daha yüksek α -heliks piki elde edilmiştir. S-S bağlarının yoğunluğu 20 haftalık tavukların but kısmında en yüksek değerde bulunmuştur. Kesme kuvveti değeri ve Raman spektrusunda 1670, 1612, 1558 ve 1277 cm^{-1} bantları, yaşlı tavukların göğüs eti ile ilişkilendirilmiştir. Su ile ilişkilendirilen 3207 cm^{-1} bandı haşlanmış tavuk etinde yüksek bulunmuş ve yüksek nem içeriği olarak belirlenmiştir. Çalışmanın farklı yaşlarda tavuk etinin karakteristiklerinin belirlenmesinde RS'nin kullanıldığı ilk makale olduğu bildirilmiştir.

Transglutaminaz enzimi ilave edilen Frankfurter sosilerinin protein yapılarında ve proteinlerin su tutma kapasitesinde meydana gelen değişikliği belirlemek için RS'nin kullanıldığı bir çalışmada, farklı oranlarda (%0.33, 0.67 ve 1) transglutaminaz ilave edilmiş sosis örnekleri hazırlanmıştır. RS'de yapılan ölçümler sonucunda enzim miktarı arttıkça Amid I bandında değişiklikler meydana gelmiştir. Raman bantlarının frekans ve yoğunluklarında meydana gelen bu değişiklikler proteinlerin ikincil yapıları ile proteinlerin su yapılarında meydana gelen değişiklikler ile ilişkilendirilmiştir. -OH gerilme titreşimlerinin belirlendiği Raman bandının yoğunluğunda enzim ilavesi ile artış meydana gelmiş ve hidrojen bağları güçlenmiştir. Bunun sonucu olarak su-protein interaksiyonlarının arttığı bildirilmiştir. Böylece sosis üretiminde su tutma kapasitesinin enzim ilavesi ile artırılabilirliği belirlenmiştir (Kang vd., 2017).

Mikrobiyel bozulma

Gıda kaynaklı mikroorganizmalar hem insan sağlığını olumsuz etkiler hem de gıdanın bozulmasına neden olurlar. Bu nedenle gıdalara bulaşan mikroorganizmalarının tespitinin en hızlı şekilde yapılması gerekmektedir (Odeyemi vd., 2020). Geleneksel besiyeri sayım yöntemleri oldukça uzun zaman almaktadır. Mikroorganizmaların hızlı tespiti için RS'nin kullanım potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar yapılmaktadır (Ma vd., 2018; Breuch vd., 2020; Qu vd., 2022).

Ma vd. (2018) tarafından önemli bir gıda patojeni olan *Salmonella* Typhimurium'un tespit edilmesinde SERS tekniğinin kullanılabilirliği araştırılmış ve farklı oranlarda bakteri içeren solüsyonların Raman ölçümleri alınmıştır. Ardından domuz eti örnekleri farklı konsantrasyonlarda bakteri ile kontamine edilmiş ve kontamine domuz eti örneklerinden ölçümler alınmıştır. İlave edilen miktar ile Raman ölçümü sonucu hesaplanan konsantrasyonlar arasındaki farklar incelendiğinde plaka sayım yöntemi (geleneksel yöntem) ile SERS tekniği kullanılarak elde edilen sonuçlar arasında önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.

RS ile kümes hayvanları etlerinde bulunan mikroorganizmaların tespiti için bir çalışma yapılmış ve çalışma sonunda bu mikroorganizmaların ayrımı ve sınıflandırılması başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada *Micrococcus luteus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* DSM 4358, *Pseudomonas fluorescens* DSM 50090, *Escherichia coli* K12 ve *Escherichia coli* HB10 mikroorganizmaları kullanılmıştır. İki farklı Raman yöntemi (mikroskop ve taşınabilir fiber optik) ile ölçümler alınmış ve her mikroorganizma için Raman bantlarının frekans ve yoğunlukları başarılı bir şekilde ölçülmüştür (Jaafreh vd., 2019).

Zararlı bileşenler

Et ve et ürünlerinde üretim prosesi sırasında ürüne eklenen veya ürünün depolanması sırasında meydana gelen zararlı bileşenler hem ürünün besleyici değerini azaltmakta hem de insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiye neden olmaktadır. Bu nedenle bu bileşiklerin hızlı ve doğru tespiti oldukça önemlidir. RS, hızlı ve güvenilir sonuç vermesi nedeni ile bileşenlerin tespitinde kullanım potansiyeline sahiptir. Et endüstrisinde sıklıkla karşılaşılan önemli zararlı bileşenler, antibiyotikler ve gıda boyaları gibi dışarıdan ilave edilenler ile histamin gibi kimyasal reaksiyonlar sonucu meydana gelenlerdir (Karwowska vd., 2021; Qu vd., 2022).

Zhao vd. (2016) ördeklere hastalıkların önlenmesi için kullanılan tetrasiklin antibiyotiklerinin ördek etinde ne kadar kalıntı

bıraktığını belirlemek için bir çalışma yapmışlardır. Tetrasiklinin ördeklere kullanım miktarı ve ette kalıntı miktarı ile ilgili yasal sınırlamalar bulunmaktadır. Çünkü bu antibiyotik insan vücudunda karaciğerde birikerek toksik etki göstermektedir. Bu nedenle fazla ve gereksiz tetrasiklin kullanımını engellemek için analizler yapılmaktadır. Çalışmada önce standart tetrasiklin örneği SERS ile analiz edilmiş ve ardından tetrasiklin içeren ördek eti ekstraktları ölçülmüştür. Standart çözelti ile antibiyotik 520 cm^{-1} , 1058 cm^{-1} ve 1274 cm^{-1} bantları ile karakterize edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda tetrasiklin çözeltileri ile bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiş ve böylece ördek etlerinde bulunan tetrasiklinin miktarı belirlenebilmiştir. Çalışma sonunda SERS kullanımının hızlı bir belirleyici yöntem olduğu bildirilmiştir.

Deniz ürünlerinde histamin miktarını belirlemek için yapılan bir çalışmada, ince tabaka kromatografisi ile SERS kullanılmıştır. Histamin deniz ürünlerinde meydana gelen ve önemli bozulma sebebi olan bir bileşiktir. Bu nedenle hızlı ve güvenilir bir şekilde belirlenmesi önem kazanmaktadır. Çalışmanın ilk aşamasında farklı konsantrasyonlardaki histamin çözeltileri ve belirli konsantrasyonlardaki histamin ile muamele edilen balık örneklerinin Raman ölçümleri alınmıştır. Standart çözeltilerden elde edilen pikler ile histaminle muamele edilmiş balıklardan elde edilen pikler karşılaştırılmış ve 1302 cm^{-1} ve 1571 cm^{-1} bantlarının histamin ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında balık örneklerinden 0-48 saat aralığında Raman ölçümleri alınmıştır. Direkt balık örneklerinde yapılan ölçümler dışında balık örneklerine ince tabaka kromatografisi uygulanmış ve elde edilen histamin direkt olarak ölçülmüştür. Her iki yöntemde de histamin miktarı belirlenebilmiş, ancak ince tabaka kromatografisi ile yapılan ölçümlerde bantlar daha net gözlemlenmiştir (Tan vd., 2019).

Taklit ve taşıyış

Et endüstrisinde taklit ve taşıyış önemli bir sorun olarak değerlendirilmektedir. Bu durum taze etlerde kas yapısı korunduğu için çok sık karşılaşılsa da özellikler et ürünleri üretiminde

farklı et orijinleri kullanımı, ilave edilen bileşenlerdeki farklılıklar ve et dışı bileşen ilavesi meydana gelebilmektedir. Bunun önüne geçmek için çeşitli analiz yöntemleri (PCR, kromatografi, elektroforez, ELISA, vb.) kullanılmaktadır. RS'de bu yöntemlerden biridir (Li vd., 2020; Qu vd., 2022).

Et türünü belirlemek için yapılan bir çalışmada RS, lazer etkileşimli plazma spektroskopisi (LIPS) ile kombine edilmiştir. LIPS, Raman ve Raman-LIPS kullanılarak üç farklı et türünün (sığır, domuz, koyun) belirlenmesi için analizler yapılmış ve üç yöntem birbiri ile karşılaştırılmıştır. Analizler sonucu elde edilen spektraller incelendiğinden her üç et türü için de benzer pikler elde edilmiş ancak elde edilen piklerin yoğunluklarında farklılıklar belirlenmiştir. Kalsiyumu ifade eden pik domuz etinde diğerlerine göre daha fazla miktarda bulunmuştur. Sığır ve domuz etine göre de azot piki koyun etinde daha yüksek olmuştur. Bu spesifik piklerden tür ayırımının yapılabileceği ve LIPS-Raman kombinasyonundan en başarılı sonucun elde edildiği bildirilmiştir (Sun vd., 2022).

Nunes vd. (2019) su tutma kapasitesini artırmak için sığır etine katılan bileşenleri belirlemede RS kullanmışlardır. Çalışmada sığır etine tuz (NaCl), karragenan ve sodyum trifosfat (STPP) ilave etmişler ve Raman ölçümlerini almışlardır. Katkısız örnek ile karşılaştırıldığında sığır etinde herhangi bir tağşişin yapıp yapılmadığının belirlenmesinin mümkün olduğunu ve bu amaçla RS kullanımının başarılı sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

SONUÇ

Et ürünlerine küresel talebin artması, tüketicilerde bazı kalite ve güvenlik sorunlarına neden olmuştur. Bu nedenle et ve ürünlerinin hammaddeden tüketime kadar geçen tüm aşamalarda kalitelerinin izlenmesi için sistematik ve küresel gıda güvenliği kontrol sistemleri gerekmektedir. Hammaddenin kalitesinin tespiti, istenilen et türünün belirlenmesi, ürüne ilave edilen bileşenlerin saptanması ve depolama süresince kimyasal ve mikrobiyal bozulmaların belirlenmesi için çeşitli tekniklerden

yararlanılmaktadır. Bu geleneksel teknikler nesnel ve güvenilirdir ancak yerinde, doğru ve yüksek verimli analizlerin yapılmasına uygun değildir. Buna karşılık, spektral analiz teknikleri, et kalitesi ve güvenlik analizi için hızlı ve ekonomiktir. Diğer spektral tekniklerle karşılaştırıldığında, RS'nin et ve ürünlerinin analizinde hız, basit kullanım, ön işlemsiz veya basit bir ön işlem uygulama, suyla daha az karışma, kimyasal bileşenlerin parmak izi yapısal bilgilerini sağlama ve çevrimiçi algılama gibi benzersiz avantajları bulunmaktadır. Et ve ürünlerinin analizinde RS'i kullanılan bir dizi çalışma, RS'nin diğer bazı alanlarda olduğu gibi et bilimi alanında da belirli ilerlemeler kaydettiğini, et kalitesi ve güvenlik analizinde önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Doğruluk, hassasiyet, stabilite, form ve hız gibi tespit kabiliyeti yönünden gelişmiş RS tekniklerinin ortaya çıkması hem et kaynağının tespitinde hem de hassas, derin tarama ve görsel et analizinde önemli gelişmeler sağlamıştır. Kemometrinin farklı RS teknikleriyle birleştirilmesi, parmak izlerinin incelenmesinde gerçekleştirilebilir, hızlı ve kullanımı kolay yeni bir yol sağlamış, ayrıca örtüşen analitik sinyallerin çözümünde de alternatif yaklaşımlar göstermiş ve etteki karmaşık analitik sistemlerin nitel ve nicel analizlerinde önemli değişikliklere neden olmuştur. Diğer taraftan, örtüşen sinyaller ve Raman sistemlerinin yüksek fiyatları gibi faktörler, RS tekniklerinin ticarileşmesini engellemektedir. Bu nedenle, gelecekte et endüstrisinde uygulanacak RS tekniği üzerine yapılacak çalışmalar, düşük maliyet, yüksek performans, iyi pratik, gerçek zamanlı ve yerinde tespit ekipman sistemleri geliştirilmesinin yanı sıra doğruluk, tekrarlanabilirlik ve seçiciliğin geliştirilmesine odaklanmalıdır.

YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar literatürlerin taranmasında, derlenmesinde, makalenin yazımında ve yayımlanmasında eşit oranda katkı sağlamışlardır.

ÇIKAR İLİŞKİSİ

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- Akçe, M. A., Kadioğlu, Y. K. (2020). Raman spektroskopisinin ilkeleri ve mineral tanımlamalarında kullanılması. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 9(2), 99-115, doi: 10.17100/nevbittek.778678.
- Bell, S. E., Charron, G., Cortés, E., Kneipp, J., de la Chapelle, M. L., Langer, J., Procházka, M., Tran, V., Schlücker, S. (2020). Towards reliable and quantitative surface-enhanced Raman scattering (SERS): From key parameters to good analytical practice. *Angewandte Chemie International Edition*, 59(14), 5454-5462, doi: 10.1002/anie.201908154.
- Berhe, D. T., Engelsen, S. B., Hviid, M. S., Lametsch, R. (2014). Raman spectroscopic study of effect of the cooking temperature and time on meat proteins. *Food Research International*, 66, 123-131, doi: 10.1016/j.foodres.2014.09.010.
- Bērziņš, K., Fraser-Miller, S. J., Gordon, K. C. (2021). Recent advances in low-frequency Raman spectroscopy for pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 592, 120034, doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.120034.
- Bitar, R. A., Martinho, H. D. S., Tierra-Criollo, C. J., Zambelli Ramalho, L. N., Netto, M. M., Martin, A. A. (2006). Biochemical analysis of human breast tissues using Fourier-transform Raman spectroscopy. *Journal of Biomedical Optics*, 11(5), 054001-1-054001-8, doi: 10.1117/1.2363362.
- Breuch, R., Klein, D., Siefke, E., Hebel, M., Herbert, U., Wickleder, C., Kaul, P. (2020). Differentiation of meat-related microorganisms using paper-based surface-enhanced Raman spectroscopy combined with multivariate statistical analysis. *Talanta*, 219, 121315, doi: 10.1016/j.talanta.2020.121315.
- Buhrke, D., Hildebrandt, P. (2019). Probing structure and reaction dynamics of proteins using time-resolved resonance Raman spectroscopy. *Chemical Reviews*, 120(7), 3577-3630, doi: 10.1021/acs.chemrev.9b00429.
- Butler, H. J., Ashton, L., Bird, B., Cinque, G., Curtis, K., Dorney, J., Esmonde-White, K., Fullwood, N. J., Gardner, B., Martin-Hirsch, P. L., Walsh, M. J., McAinsh, M. R., Stone, N., Martin, F. L. (2016). Using Raman spectroscopy to characterize biological materials. *Nature Protocols*, 11(4), 664-687, doi: 10.1038/nprot.2016.036.
- Cao, Y., Sun, M. (2022). Tip-enhanced Raman spectroscopy. *Reviews in Physics*, 8, 100067, doi: 10.1016/j.revip.2022.100067.
- Das, R. S., Agrawal, Y. K. (2011). Raman spectroscopy: Recent advancements, techniques and applications. *Vibrational Spectroscopy*, 57(2), 163-176, doi: 10.1016/j.vibspec.2011.08.003.
- Gao, F., Ben-Amotz, D., Yang, Z., Han, L., Liu, X. (2021). Complementarity of FT-IR and Raman spectroscopies for the species discrimination of meat and bone meals related to lipid molecular profiles. *Food Chemistry*, 345, 128754, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128754.
- Gremlich, H. U., Yan, B. (2000). *Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials*. 1st Edition, CRC press, Boca Raton, USA, 600 p.
- Hadziç, M. (2022). Raman ve X-Ray flüoresans spektroskopilerin fizik ve arkeoloji uygulamaları. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalı Doktora Tezi, Edirne. Türkiye, 113 s.
- Hassoun, A., Carpena, M., Prieto, M. A., Simal-Gandara, J., Özogul, F., Özogul, Y., Emir Çoban, Ö., Guðjónsdóttir, M., Barba, F. J., Marti-Quijal, F. J., Jambrak, A. R., Maltar-Strmecki, N., Kljusuric, J. G., Regenstein, J. M. (2020). Use of spectroscopic techniques to monitor changes in food quality during application of natural preservatives: A review. *Antioxidants*, 9(9), 882, doi: 10.3390/antiox9090882.
- He, H., Sun, D. W., Pu, H., Chen, L., Lin, L. (2019). Applications of Raman spectroscopic techniques for quality and safety evaluation of milk: A review of recent developments. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(5), 770-793, doi: 10.1080/10408398.2018.1528436.
- He, Y., Xu, W., Qu, M., Zhang, C., Wang, W., Cheng, F. (2022). Recent advances in the application of Raman spectroscopy for fish quality and safety analysis. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(4), 3647-3672, doi: 10.1111/1541-4337.12968.

- Ilchenko, O., Pilgun, Y., Kutsyk, A., Bachmann, F., Slipets, R., Todeschini, M., Okeyo, P. O., Poulsen, H. F., Boisen, A. (2019). Fast and quantitative 2D and 3D orientation mapping using Raman microscopy. *Nature Communications*, 10(1), 5555, doi: 10.1038/s41467-019-13504-8.
- Jaafreh, S., Valler, O., Kreyenschmidt, J., Günther, K., Kaul, P. (2019). In vitro discrimination and classification of microbial flora of poultry using two dispersive Raman spectrometers (microscope and Portable Fiber-Optic systems) in tandem with chemometric analysis. *Talanta*, 202, 411-425, doi: 10.1016/j.talanta.2019.04.082.
- Jankowiak, H., Cebulska, A., Bocian, M. (2021). The relationship between acidification (pH) and meat quality traits of polish white breed pigs. *European Food Research and Technology*, 247(11), 2813-2820, doi: 10.1007/s00217-021-03837-4.
- Kang, Z. L., Li, X., Ma, H. J. (2017). Effect of the levels of transglutaminase in frankfurters: A physical-chemical and Raman spectroscopy study. *CyTA - Journal of Food*, 15(1), 75-80, doi: 10.1080/19476337.2016.1214928.
- Karwowska, M., Stadnik, J., Stasiak, D. M., Wójciak, K., Lorenzo, J. M. (2021). Strategies to improve the nutritional value of meat products: Incorporation of bioactive compounds, reduction or elimination of harmful components and alternative technologies. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(12), 6142-6156, doi: 10.1111/ijfs.15060.
- Katemala, S., Molee, A., Thumanu, K., Yongsawatdigul, J. (2021). Meat quality and Raman spectroscopic characterization of Korat hybrid chicken obtained from various rearing periods. *Poultry Science*, 100(2), 1248-1261, doi: 10.1016/j.psj.2020.10.027.
- Kuhar, N., Sil, S., Umapathy, S. (2021). Potential of Raman spectroscopic techniques to study proteins. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 258, 119712, doi: 10.1016/j.saa.2021.119712.
- Li, Y. C., Liu, S. Y., Meng, F. B., Liu, D. Y., Zhang, Y., Wang, W., Zhang, J. M. (2020). Comparative review and the recent progress in detection technologies of meat product adulteration. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 2256-2296, doi: 10.1111/1541-4337.12579.
- Ma, X., Xu, X., Xia, Y., Wang, Z. (2018). SERS aptasensor for *Salmonella typhimurium* detection based on spiny gold nanoparticles. *Food Control*, 84, 232-237, doi: 10.1016/j.foodcont.2017.07.016.
- Malard, L. M., Lafeta, L., Cunha, R. S., Nadas, R., Gadelha, A., Cançado, L. G., Jorio, A. (2021). Studying 2D materials with advanced Raman spectroscopy: CARS, SRS and TERS. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 23(41), 23428-23444, doi: 10.1039/d1cp03240b.
- Mishra, M. (2022). Spectroscopic techniques for the analysis of food quality, chemistry, and function. In: *Advanced Spectroscopic Techniques for Food Quality*, Shukla, A. K. (ed.), Royal Society of Chemistry, the UK, pp. 1-22.
- Monago-Maraña, O., Wold, J. P., Rødbotten, R., Dankel, K. R., Afseth, N. K. (2021). Raman, near-infrared and fluorescence determination of collagen content in ground spectroscopy for meat and poultry by-products. *LWT-Food Science and Technology*, 140, 110592, doi: 10.1016/j.lwt.2020.110592.
- Nache, M., Hinrichs, J., Scheier, R., Schmidt, H., Hitzmann, B. (2016). Prediction of the pH as indicator of porcine meat quality using Raman spectroscopy and metaheuristics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 154, 45-51, doi: 10.1016/j.chemolab.2016.03.011.
- Nicolson, F., Kircher, M. F., Stone, N., Matousek, P. (2021). Spatially offset Raman spectroscopy for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 50(1), 556-568, doi: 10.1039/d0cs00855a.
- Nottingham, I., Verrier, S., Haque, S., Polak, J. M., Hench, L. L. (2003). Spectroscopic study of human lung epithelial cells (A549) in culture: living cells versus dead cells. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 72(4), 230-240, doi: 10.1002/bip.10378.
- Nunes, K. M., Andrade, M. V. O., Almeida, M. R., Fantini, C., Sena, M. M. (2019). Raman

- spectroscopy and discriminant analysis applied to the detection of frauds in bovine meat by the addition of salts and carrageenan. *Microchemical Journal*, 147, 582-589, doi: 10.1016/j.microc.2019.03.076.
- Odeyemi, O. A., Alegbeleye, O. O., Strateva, M., Stratev, D. (2020). Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), 311-331, doi: 10.1111/1541-4337.12526.
- Orlando, A., Franceschini, F., Muscas, C., Pidkova, S., Bartoli, M., Rovere, M., Tagliaferro, A. (2021). A comprehensive review on Raman spectroscopy applications. *Chemosensors*, 9(9), 262, doi: 10.3390/chemosensors9090262.
- Pchelkina, V. A., Chernukha, I. M., Fedulova, L. V., Ilyin, N. A. (2022). Raman spectroscopic techniques for meat analysis: A review. *Theory and Practice of Meat Processing*, 7(2), 97-111, doi: 10.21323/2414-438X-2022-7-2-97-111.
- Qu, C., Li, Y., Du, S., Geng, Y., Su, M., Liu, H. (2022). Raman spectroscopy for rapid fingerprint analysis of meat quality and security: Principles, progress and prospects. *Food Research International*, 161, 111805, doi: 10.1016/j.foodres.2022.111805.
- Robert, B. (2009). Resonance Raman spectroscopy. *Photosynthesis Research*, 101, 147-155, doi: 10.1007/s11120-009-9440-4.
- Shao, J. H., Zou, Y. F., Xu, X. L., Wu, J. Q., Zhou, G. H. (2011). Evaluation of structural changes in raw and heated meat batters prepared with different lipids using Raman spectroscopy. *Food Research International*, 44(9), 2955-2961, doi: 10.1016/j.foodres.2011.07.003.
- Shao, F., Zenobi, R. (2019). Tip-enhanced Raman spectroscopy: principles, practice, and applications to nanospectroscopic imaging of 2D materials. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411, 37-61, doi: 10.1007/s00216-018-1392-0.
- Shipp, D. W., Sinjab, F., Notingher, I. (2017). Raman spectroscopy: techniques and applications in the life sciences. *Advances in Optics and Photonics*, 9(2), 315-428, doi: 10.1364/AOP.9.000315.
- Silge, A., Weber, K., Cialla-May, D., Müller-Böttcher, L., Fischer, D., Popp, J. (2022). Trends in pharmaceutical analysis and quality control by modern Raman spectroscopic techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 153, 116623, doi: 10.1016/j.trac.2022.116623.
- Smith, E., Dent, G. (2019). *Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach*. 1st Edition, John Wiley & Sons Ltd, the UK, 240 p.
- Stone, N., Kendall, C., Shepherd, N., Crow, P., Barr, H. (2002). Near-infrared Raman spectroscopy for the classification of epithelial pre-cancers and cancers. *Journal of Raman Spectroscopy*, 33(7), 564-573, doi: 10.1002/jrs.882.
- Sun, H., Song, C., Lin, X., Gao, X. (2022). Identification of meat species by combined laser-induced breakdown and Raman spectroscopies. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 194, 106456, doi: 10.1016/j.sab.2022.106456.
- Tan, A., Zhao, Y., Sivashanmugan, K., Squire, K., Wang, A. X. (2019). Quantitative TLC-SERS detection of histamine in seafood with support vector machine analysis. *Food Control*, 103, 111-118, doi: 10.1016/j.foodcont.2019.03.032.
- Taylor, E. A., Donnelly, E. (2020). Raman and Fourier transform infrared imaging for characterization of bone material properties. *Bone*, 139, 115490, Doi: 2020. 10.1016/j.bone 115490.
- Teixeira, A., Rodrigues, S. (2021). Consumer perceptions towards healthier meat products. *Current Opinion in Food Science*, 38, 147-154, doi: 10.1016/j.cofs.2020.12.004.
- Urashima, S. H., Morita, M., Komatani, S., Yui, H. (2023). Non-destructive estimation of the cation composition of natural carbonates by micro-Raman spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 1242, 340798, doi: 10.1016/j.aca.2023.340798.
- Wang, K., Li, Z., Li, J., Lin, H. (2021). Raman spectroscopic techniques for nondestructive analysis of agri-foods: A state-of-the-art review. *Trends in Food Science & Technology*, 118, 490-504, doi: 10.1016/j.tifs.2021.10.01.
- Wu, X., Liang, X., Wang, Y., Wu, B., Sun, J. (2022). Non-destructive techniques for the analysis and evaluation of meat quality and safety:

- A review. *Foods*, 11(22), 3713, doi: 10.3390/foods11223713.
- Xu, Y., Zhong, P., Jiang, A., Shen, X., Li, X., Xu, Z., Shen, Y., Sun, Y., Lei, H. (2020). Raman spectroscopy coupled with chemometrics for food authentication: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 131, 116017, doi: 10.1016/j.trac.2020.116017.
- Yang, K., Zhou, Y., Guo, J., Feng, X., Wang, X., Wang, L., Ma, J., Sun, W. (2020). Low frequency magnetic field plus high pH promote the quality of pork myofibrillar protein gel: A novel study combined with low field NMR and Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 326, 126896, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126896.
- Yilmaz, H., Yilmaz, D., Taskin, I. C., Culha, M. (2022). Pharmaceutical applications of a nanospectroscopic technique: Surface-enhanced Raman spectroscopy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 184, 114184, doi: 10.1016/j.addr.2022.114184.
- Zhang, D., Pu, H., Huang, L., Sun, D. W. (2021). Advances in flexible surface-enhanced Raman scattering (SERS) substrates for nondestructive food detection: Fundamentals and recent applications. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 690-701, doi: 10.1016/j.tifs.2021.01.058.
- Zhao, J., Liu, P., Yuan, H., Peng, Y., Hong, Q., Liu, M. (2016). Rapid detection of tetracycline residues in duck meat using surface enhanced raman spectroscopy. *Journal of Spectroscopy*, 2016, 1845237, doi: 10.1155/2016/1845237.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Taşkın, O., Pan, Z. *A comparative study between fresh and dried walnut based on industrial processing / Endüstriyel işleme esaslı taze ve kuru cevizin karşılaştırılması* ...1132-1142
- Özbeke, C., Güzgel, N. *Implications of stabilizers used in brine of soft White cheese on the aroma profile of cheeses / Yumuşak beyaz peynir salamurasında kullanılan stabilizörlerin peynirlerin aroma profili üzerine etkileri*.....1199-1215
- Göktaş, H. *Effect of different drying techniques on the bioactive, color, antibacterial and sensory features of date plum fruits (Diospyros lotus L.) / Farklı kurutma tekniklerinin hurma eriği meyvelerinin (Diospyros lotus L.) biyoaktif, renk, antibakteriyel ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi*1254-1263
- Eyiler Kaya, E., Öztürk, N. *Mushroom consumption habits in Türkiye /Türkiye'deki mantar tüketim alışkanlıkları*.....1264-1275
- Yazar, G. *Impact of wet gluten content on non-linear viscoelastic properties of wheat flour doughs / Yaş gluten miktarının buğday unu hamurunun doğrusal olmayan viskoelastik özellikleri üzerindeki etkisi*1276-1291
- Zorlu Ünlü, T., Topuz, S., Bayram, M., Balkan, T., Kaya, C. (2023). *Determination of pesticide residues in pickled vine (Vitis vinifera L.) leaves by a validated LC-MS/MS method / Valide edilmiş bir LC-MS/MS metoduyla asma yapraklarında pestisit kalıntılarının belirlenmesi*1335-1350

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Şen, C., Doğan, M. A., Karagül Yüceer, Y. *Teneke Tulum Peynirlerinin bazı fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi / Determination of some physicochemical and sensory properties of Tulum Cheese*.....1160-1171
- Özcan, K., Coşkun, H. *Katkı Keşi üretimi için en uygun kurumadde ve yağ oranının belirlenmesi / Determination of the most suitable dry matter and fat ratios for "Katkı Keş" production*..... 1172-1184
- Cankurtaran Kömürçü, T. *Potansiyel bir fonksiyonel gıda olarak farklı turp (Raphanus sativus) çeşitlerine ait tozların kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin değerlendirilmesi / Evaluation of the chemical and functional properties of powders of different radish (Raphanus sativus) cultivars as a potential functional food* 1185-1198
- Erdağ Akca, E., Çağında, Ö., Köse, E. *Kurutulmuş et ile zenginleştirilmiş tam buğday unlu galetelerde in vitro demir bioerişilebilirliğinin saptanması / In vitro iron bioaccessibility of whole wheat flour breadsticks fortified with dried meat powder* 1216-1229
- Erol, S., Erinc, H. *Bitkisel lif-bütirik asit esterlerinin üretimi ve kek formülasyonunda emülgatör olarak kullanımı / Production of plant-based fiber-butyric acid esters and their use as emulsifier in cake formulation* 1244-1253
- Mutlu, C. (2023). *Vakum kurutma yöntemi ile propolis tozu üretimi ve tozun bazı özellikleri / Production of propolis powder by vacuum drying and some properties of the powder*.....1292-1303
- Var, I., Tekin, A. *Piyasada tüketime sunulan ayçiçek ve mısırözü yağlarında aflatoksin varlığının araştırılması / Investigation of the presence of aflatoxin in sunflower and corn oils offered for consumption in the market*1304-1317
- Yüzer, M.O. *Soya proteini izolatı-fruktoz glikasyon konjugatlarının yapısı ve bazı teknofonksiyonel özellikleri üzerine ultrason işleminin etkisi / Effect of ultrasound process on the structure and some techno functional properties of soy protein isolate-fructose glycation conjugates*.....1351-1365
- Gürbüz, Z., Erkaya Kotan, T., Gürmeriç, H. E., Şengül, M. *Piyasada satılan yoğurtların fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve ADE- inhibitör aktivitelerinin belirlenmesi / Determination of physicochemical, microbiological, and ACE-inhibitor activities of yogurts on the market*1366-1378

Derlemeler / Reviews

- Özdal, H.R., Nakilcioğlu, E., Ötleş, S. *Propolisin biyoaktif bileşenleri üzerine ekstraksiyon yöntemlerinin ve ekstraksiyon değişkenlerinin etkileri / Effects of extraction methods and extraction variables on bioactive compounds of propolis*.....1123-1131
- Kalfazade, M., Özdemir, K.S. *Probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan yöntemler ve gıda teknolojisinde uygulamaları / Microencapsulation techniques for probiotics and applications in food technology*1143-1159
- Aktepe, Y., Çakır, İ. *Gıda mikrobiyolojisinde metagenomik yaklaşımlar / Metagenomic approaches in food microbiology*.....1230-1243
- Altınay, C., Şanlı, T. *Vegan beslenmede alternatif süt ürünleri: Teknolojik ve beslenme yönü / Some alternative dairy products in vegan nutrition: Technological and nutritional aspect*1318-1334
- Soyocak, H., Öz, F., Turhan, S. *Raman spektroskopisinin et kalitesi ve güvenliğinin belirlenmesinde kullanımı / Use of Raman spectroscopy in determining the quality and safety of meat*1379-1393