

# GIDA

*THE JOURNAL OF FOOD*



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 49

SAYI / NUMBER : 1

YIL / YEAR : 2024

**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

<p><b>Baş Editör / Editor-in Chief</b> ERİNÇ, Hakan; Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey</p> <p><b>Editörler / Editors</b> 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</p> <p><b>Yönetim Yeri</b> <b>Adres / Address</b> Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey</p> <p><b>Tel:</b> (+90) 0534 968 5994 • <b>Faks:</b> (+90) 312 317 8711 <b>E-posta / E-mail:</b> dergi@gidadernegi.org <b>URL:</b> http://www.gidadernegi.org</p> <p><b>Yayın Türü:</b> Yaygın süreli ve hakemli</p> <p><b>Hazırlayan / Prepared</b> Sim Ajans 19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com</p> <p><b>Yayın Tarihi / Publication Date</b> 15 02 2024</p>	<p><b>Danışma Kurulu / Advisory Board</b> 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 Konuskan, 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 Muhtaba, 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</p>
--	--

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 (2024)49(1)

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Karaoğlu, M.M., Zabihollahi, N. The effect of reducing the sugar and fat content on the physical and sensory properties of cupcakes / Şeker ve yağ içeriğini azaltmanın top keklerin fiziksel ve duyu özelliklerine etkisi . . . . . 39-51

Güldane, M., Bozkır, M. Drying of cherry laurel juice using foam mat drying technique and investigating the effect of drying temperature on drying characteristics and bioactive components / Karayemiş özütünün köpük mat kurutma yöntemiyle kurutulması ve kurutma sıcaklığının kuruma karakteristikleri ve biyoaktif bileşenler üzerine etkisinin araştırılması . . . . . 88-100

Cozain Montiel, A., G., Soyocak, H., Turban, S. The effect of ultrasound pretreatment on oil absorption and quality of deep-fried chicken schnitzels / Ultrason ön işlem uygulamasının derin yağda kızartılmış tavuk şnitzellerin yağ emilimine ve kalitesine etkisi . . . . . 119-131

Aktaş, N. An improved differential scanning calorimetry study for thermal properties of pekmez samples adulterated with sugar syrup / Şeker şurubuyla tağış edilen pekmez örneklerinin termal özellikleri için geliştirilmiş bir differential scanning calorimetry çalışma . . . . . 132-141

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Atay, E., Altan, A. Zeolitik imidazolat kafes yapısının sentezi ve karakterizasyonu / Synthesis and characterization of zeolitic imidazolate framework . . . . . 52-67

Sabuncu, M., Özdemir, G., Dülger Altın, D., Şahan, Y. Civanperçemi ve karahindiba ile zenginleştirilen ekmeklerin bazı fizikokimyasal ve in-vitro biyoelenebilir özelliklerinin araştırılması / Investigation of some physiochemical and in-vitro bioaccessibility properties of bread enriched with yarrow and dandelion . . . . . 101-118

Yüksel Sarıoğlu, H., Köprüalan Aydın, Ö., Dirim, S. N., Kaymak-Ertekin, F. Ultrason destekli dondurma ve çözündürme işleminin dana nuar etinin kalite özellikleri üzerine etkisi / Effects of ultrasound-assisted freezing and thawing on beef meat quality characteristics freezing and thawing of meats with ultrasound-assisting . . . . . 142-159

Yıldız, S., Yemiş, O. Bezelye kabuk protein konsantratinin gıda bileşeni olarak sucuk üretiminde kullanımı / Utilization of pea pod protein concentrate as a food ingredient in fermented sausage production (sucuk) . . . . . 160-178

Koçak, N., Ardıç, M. Farklı illerden toplanan ekşi hamur örneklerinden Saccharomyces cerevisiae suşlarının izolasyonu, moleküler karakterizasyonu ve popülasyon analizleri / Isolation, molecular characterization, and population analysis of Saccharomyces cerevisiae from sourdough collected from different provinces . . . . . 179-192

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Çelik Atalay, E., Sağdıçoğlu Celep, A.G. Gıda katkı maddeleri ve genetik etkileri / Food additives and genetic influences . . . 1-24

Nuriler, T., Uyarcan, M. Fonksiyonel et ürünlerinin üretiminde probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotik kullanımına yönelik yeni eğilimler / New trends in the use of probiotics, prebiotics and synbiotics in the production of functional meat products . . . 25-38

Gümüş, S., Yıldız, S. Ultrases prosesinin bitkisel atık ve yan ürünlerden protein eldesinde kullanımı ve proteinlerin fonksiyonel özellikleri üzerine etkisi / Use of ultrasound process to obtain protein from plant-based waste and by-products and its effect on functional properties of proteins . . . . . 68-87



## GIDA KATKI MADDELERİ VE GENETİK ETKİLERİ

Ece Çelik Atalay\*, A. Gülçin Sağdıçoğlu Celep

1Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş /Received 04.07.2023; Kabul /Accepted: 06.11.2023; Online baskı /Published online: 20.12.2023

Çelik Atalay, E., Sağdıçoğlu Celep, A.G. (2024). Gıda katkı maddeleri ve genetik etkileri. GIDA (2024) 49 (1) 1-24 doi: 10.15237/ gida.GD23078

Çelik Atalay, E., Sağdıçoğlu Celep, A.G. (2024). Food additives and genetic influences. GIDA (2024) 49 (1) 1-24 doi: 10.15237/ gida.GD23078

### ÖZ

Gıda katkı maddeleri, gıdanın güvenliğini, tazeliğini, lezzetini, dokusunu veya görünümünü korumak veya geliştirmek amacıyla kullanılan maddelerdir. İşlenmiş gıda tüketimi arttıkça, gıda katkı maddelerinin tüketimi de artmıştır. Çalışmalar, yüksek dozlarda ve uzun süre maruz kalmanın canlı organizmalarda toksik, genotoksik, mutajenik etkilere ve üreme, gelişimsel, immünotoksisite gibi bozukluklara neden olabileceğini göstermektedir. Gıda katkı maddelerinin genotoksik etkilerine ilişkin bazı tartışmalar devam etmektedir. Önerilen dozlarda kullanımlarının genellikle güvenli olduğu kabul edilirken, bazı gıda katkı maddelerinin önerilen günlük alım miktarını aşabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Ayrıca, gıda katkı maddelerinin vücutta birikmesi olasılığına dikkat çekilmekte ve bu birikimin genetik materyal üzerinde toksik etkilere ve olumsuz sağlık sonuçlarına yol açabileceği vurgulanmaktadır. Bu derleme, özellikle yaygın kullanılan bazı gıda katkı maddelerinin genotoksik etkilerini araştıran güncel çalışmaların bir özeti sunmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Gıda katkı maddeleri, genotoksisite, gıda güvenliği

## FOOD ADDITIVES AND GENETIC INFLUENCES

### ABSTRACT

Food additives are substances used to preserve or improve the safety, freshness, flavor, texture or appearance of food. As the consumption of processed food has increased, so has the consumption of food additives. Studies show that high doses and prolonged exposure can cause toxic, genotoxic, mutagenic effects and disorders such as reproductive, developmental and immunotoxicity in living organisms. The debate on the genotoxic effects of food additives continues. While their use at recommended doses is generally considered safe, there is evidence that some food additives may exceed the recommended daily intake. Furthermore, the possibility of accumulation of food additives in the body has been highlighted, which may lead to toxic effects on genetic material and adverse health outcomes. This review provides a summary of recent studies investigating the genotoxic effects of some common food additives.

**Keywords:** Food additives, genotoxicity, food safety

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ece.celik@gazi.edu.tr

☎: (+90) 312 216 2665

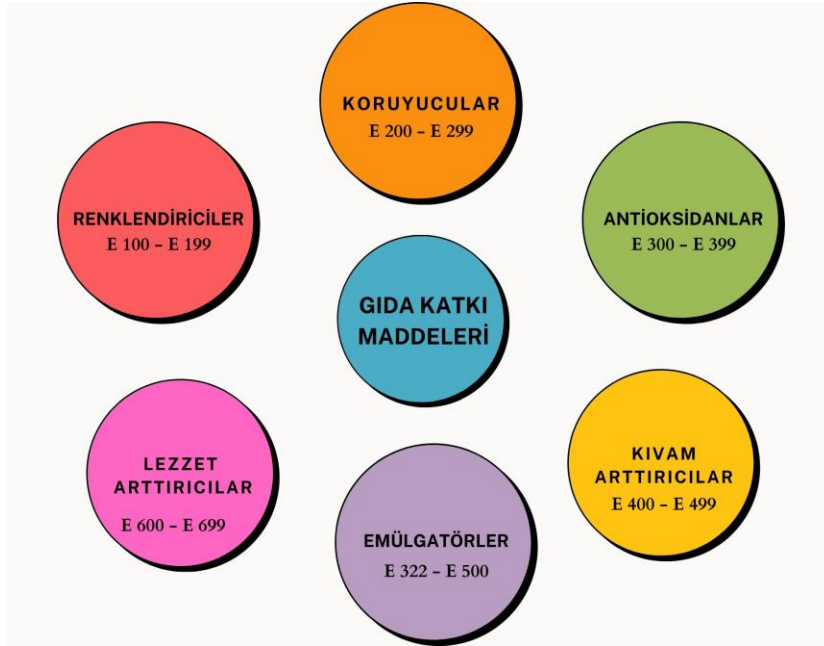
Ece Çelik Atalay; ORCID no: 0000-0002-9042-2527

Adviye Gülçin Sağdıçoğlu Celep; ORCID no: 0000-0002-4598-5814

## GİRİŞ

Gıdaların korunması veya güvenliği, raf ömrü, lezzet, doku veya görünümünün iyileştirilmesi için belirli limitler içerisinde kullanılan bileşikler gıda katkı maddesi (GKM) olarak tanımlanır. Endüstrileşmenin artması ve dünya nüfusunun büyümesi, işlenmiş gıdaların kullanımının artmasına neden olmuş ve GKM'lerin tüketimi artmıştır (Laudisi vd., 2019). GKM'ler, elde edilmiş yöntemlerine bağlı olarak yapay ve doğal olmak üzere iki ana kategoride incelenebilirler. Doğal

GKM'ler temel olarak bitkisel veya hayvansal kaynaklardan elde edilen bileşenlerin saflaştırılmasıyla üretilirken, yapay GKM'ler ise kimyasal olarak sentezlenirler (Wu vd., 2022). GKM'ler ayrıca kullandıkları amaçlara bağlı olarak koruyucular, renklendiriciler, antioksidanlar, tatlandırıcılar, kıvam arttırıcılar, emülgatörler ve lezzet arttırıcılar gibi geniş kategoriler altında sınıflandırılabilirler (Şekil 1) (Wu vd., 2022).



Şekil 1. Gıda Katkı Maddelerinin Sınıflandırılması

Koruyucular, yiyeceklerin raf ömrünü uzatmak amacıyla mikroorganizmaların, özellikle bakteriler ve mantarların neden olabileceği bozulmaları önleyen bileşiklerdir. Antioksidanlar ise sıvı ve katı yağların oksidasyonunu engelleyerek, gıdanın tat değişikliklerine, ekşime ve bozulmaya uğramasını önlerler. Tatlandırıcı GKM'ler, gıdalara tat veren bileşiklerdir ve genellikle gıdanın kalori içeriğini arttırmadan tat deneyimini zenginleştirmek amacıyla kullanılırlar. Renklendiriciler, gıdalara eklenerek onlara istenilen renk tonlarını kazandırır. Kıvam arttırıcılar, viskoziteyi artırarak gıdalara daha yoğun bir kıvam kazandıran bileşiklerdir. Emülgatörler, yağ ve su gibi normalde birbirleriyle karışmayan sıvıların karışmasını sağlayan ajanlardır. Lezzet

arttırıcılar ise yiyeceklerde lezzet ve aroma yoğunluğunu arttıran bileşiklerdir ve gıdanın tadını zenginleştirirler (Sambu vd., 2022).

“Dünya Sağlık Örgütü” (WHO) ve “Gıda ve Tarım Örgütü” (FAO) tarafından kurulan “Codex Alimentarius Komisyonu” (CAK), GKM için günlük alım limitlerini belirler. GKM'ler ile ilgili çalışmaları yıllık olarak inceleyen Uzmanlar Komitesi, GKM çalışmaları ile ilgili toplantılar düzenler ve kullanım standartları belirler. Bu çalışmalar aracılığıyla, “Kabul Edilebilir Günlük Alım” (ADI) değeri, “Gözlenmeyen Zararlı Etki Düzeyi” (NOAEL) değerinin bir güvenlik faktörüyle bölünmesiyle elde edilir (Kramer vd., 2019).

Uluslararası bir sembol olan E kodu, zararsızlık dozu belirlenmiş gıda katkı maddelerine verilir. Her üç haneli E kodu, farklı bir gıda katkı maddesi kategorisini temsil eder. Örneğin, renklendiriciler için (E100-199), koruyucular için (E200-299), antioksidanlar için (E300-321), emülsifiyerler ve stabilizatörler için (E322-500), asit-baz sağlayıcılar için (E500-578), tatlandırıcılar ve koku verenler için (E620-637), ve genel amaçlı gıda katkı maddeleri için (E900-927) farklı gruplar bulunmaktadır (Le Thanh-Blicharz vd., 2023).

GKM'ler, önerilen dozlarda kullanıldıklarında genel olarak güvenli kabul edilmektedirler. Bununla birlikte uzun süreli kullanımlarının güvenlik ve bireysel etkileri hakkında daha fazla çalışma gereklidir (Abo-EL-Sooud vd., 2018). GKM kullanımının artması, yapay GKM'lere ilişkin endişelerin artmasına neden olmuş ve katkı maddelerinin tüketiminin insan sağlığı üzerindeki etkilerini anlamaya yönelik araştırmalara olan talebi de artırmıştır (Jain, 2023). Önceki çalışmalarda GKM'ye uzun süre maruz kalmanın canlı organizmalarda toksik, genotoksik, mutajenik, immünotoksik etkilere, üreme ve gelişimsel bozukluklara, aşırı duyarlılık/alerji reaksiyonlarına neden olabileceği gösterilmiştir (Abo-EL-Sooud vd., 2018; Kumar vd., 2019). Çeşitli çalışmalar GKM'lerin mikrobiyotayı

değiştirebildiğini, ayrıca nitrit ve nitratlar gibi koruyucuların nitrozamin gibi potansiyel olarak kanserojen bileşiklere dönüşebildiğini göstermiştir (Ahmad vd., 2020; Jarmakiewicz-Czaja vd., 2022). Bazı GKM'ler astım, dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, kalp rahatsızlıkları, obezite gibi sağlık sorunları ile ilişkilendirilmektedir (Sambu vd., 2022). Ayrıca, güncel kohort çalışmaları yaygın olarak kullanılan yapay tatlandırıcıların, nitrit ve nitratların kanser riski ile ilişkilendirildiğini ileri sürmüştür (Debras vd., 2022; Chazelas vd., 2022). Farklı araştırmalarda, bazı GKM'lerin uzun süreli ve yüksek miktarlarda tüketiminin, oksidatif stresi tetikleyebileceği gösterilmiştir (Bellani vd., 2020; Meng vd., 2020a; Ko vd., 2022; Yılmaz vd., 2022; Bischoff vd., 2022). Oksidatif stres ile genotoksisite arasındaki ilişki, özellikle kanser dahil birçok sağlık sorununun gelişimiyle ilgilidir (Veltman vd., 2023). Oksidatif stres hem DNA hasarına yol açarak hem de homeostaz ve sinyal ile ilişkilendirilen dolaylı etkiler yoluyla kanser oluşumunu destekleyebilir. Kimyasal olarak oksidatif stresin kansere yol açma sürecinde, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve oksidatif DNA hasarı gibi üç anahtar olayın kritik bir rol oynadığı öne sürülmüştür (Şekil 2) (Veltman vd., 2023).



Şekil 2. Gıda Katkı Maddelerinin Oksidatif Stres, DNA Hasarı ve Sağlık Sorunları Üzerindeki Etkileri

Reaktif oksijen türlerinin artması, hücre içinde lipid peroksidasyonunun bir belirtisi olan malondialdehit (MDA) düzeylerinin yükselmesine ve oksidatif stresin artmasına neden olur. Bu durum antioksidan enzimlerin (örneğin süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT)) azalmasına, pro-apoptotik faktörlerin (BAX) artmasına yol açar. Aynı zamanda anti-apoptotik bir protein olan Bcl-2'nin seviyesi azalır. Bu, hücrede apoptozun başlamasına neden olan bir dizi olayı tetikler. BAX'ın artışı ve Bcl-2'nin azalması, mitokondri membran permeabilitesinin artmasına ve mitokondri içeriğinin sitoplazmaya sızmasına yol açar. Buna bağlı olarak Kaspaz 9 aktive olur, aktive olan Kaspaz 9, Kaspaz 3'ün aktivasyonunu indükler ve hücrenin apoptoz sürecini başlatır (Redza-Dutordoir vd., 2016).

GKM'lerin sağlık üzerine etkileri tüketim miktarına, maruz kalma süresine, tüketen kişinin yaşına, cinsiyetine, sağlık durumuna ve kalıtsal faktörlere bağlı olarak değişebilir (Abo-EL-Sooud vd., 2018). Ancak, GKM'lerin potansiyel genotoksik etkilerini değerlendiren çalışmaların sonuçları hala karışıktır. Bazı çalışmalar genotoksik etkilerin olmadığını öne sürerken, diğerleri bu etkilerin mevcut olabileceğini belirtmektedir.

GKM'lerin genotoksik etkilerini değerlendiren çalışmalar incelenirken, bazı çalışmaların sınırlı metodolojiye sahip olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu durum, GKM genotoksitesiyile ilgili kapsamlı bir değerlendirme yapmayı zorlaştırmaktadır. GKM'lerin genotoksik potansiyelini netleştirmek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Bu derleme, yaygın kullanılan bazı GKM'lerin genotoksik etkilerini araştırarak güncel çalışmaların bir özetini sunmaktadır. PubMed veri tabanı kullanılarak gerçekleştirilen bu derlemede, "gıda katkı maddeleri" ve "genotoksitesite" gibi anahtar kelimelerle ilgili güncel makaleler araştırılmış ve genotoksik etkilerin olumsuz sağlık etkileriyle ilişkisine yönelik yayınlar incelenmiştir.

## GIDA KATKI MADDELERİNİN GENOTOKSİK ETKİLERİNİ DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

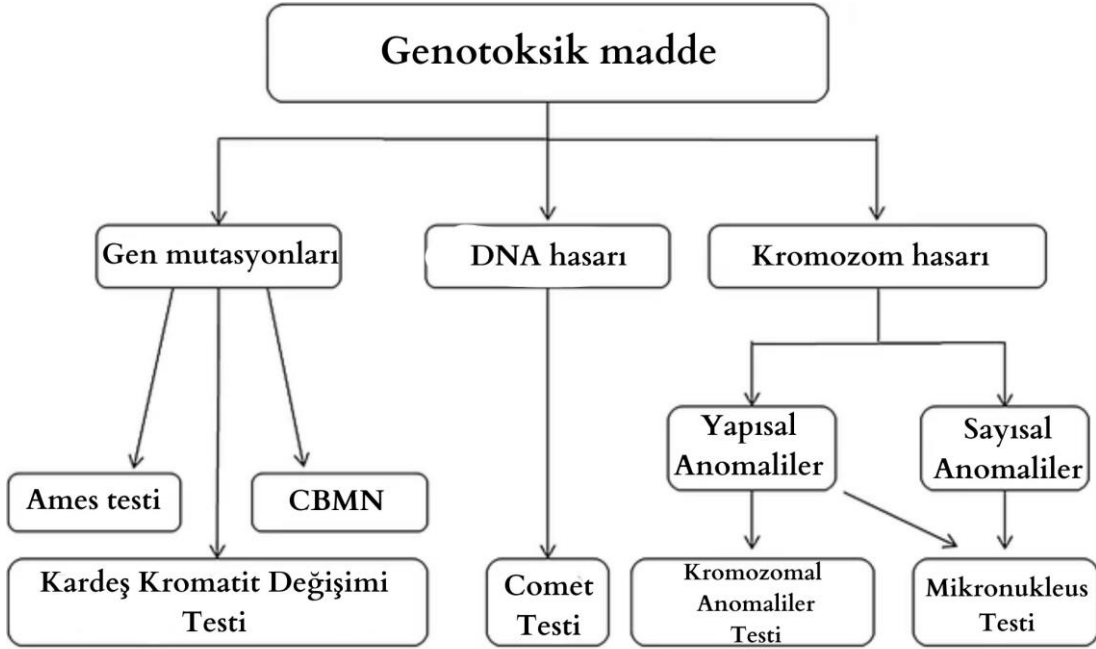
İnsan somatik ve germ hücrelerinde kimyasal maruziyetin potansiyel genetik etkilerini değerlendirmek için çeşitli testler geliştirilmiştir. Bu önerilen testler, nokta mutasyonlarından kromozomal anomalliklere kadar genotoksik etkilerin çeşitli moleküler mekanizmalar aracılığıyla tespit edebilir (Dusinska vd., 2019).

GKM'lerin genotoksik etkilerini değerlendirmek için Ames testi, kromozomal anomaliler (CA) testi, mikronukleus (MN) testi, kardeş kromatit değişimi testi (SCE), kuyuklu yıldız (comet) testi, *Allium cepa* L. testi ve Sitokinezi Engelli Mikronukleus (CBMN) tekniği gibi yöntemler kullanılmaktadır (Şekil 3) (Du vd., 2019; Algarni, 2021).

Bu testlerin her biri, genotoksik etkilerin belirlenmesinde farklı yaklaşımlar sunmaktadır. Örneğin, Ames testi, gen mutasyonlarını değerlendirmek amacıyla kullanılırken, mikronukleus testi kromozomal hasarı izlemek için tercih edilmektedir. Aynı şekilde, SCE genetik değişimleri araştırmak için kullanılmaktadır.

Ames testi (*Salmonella Typhimurium* ters mutasyon deneyi), kanserojenlerin tespiti için kullanılan kısa bir bakteriyel deneydir ve bakterilerin mutajenitesini değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu test, histidin gereksinimi olan bir bakteri türünün genlerinde meydana gelen mutasyonları inceleyerek histidinden bağımsız bir türün üretilmesini sağlamaktadır. Ames testi, toksikoloji alanında kullanılmaktadır (Zeiger, 2019).

Kromozom analizi veya karyotipleme olarak adlandırılan kromozomal anomallikler testi, vücuttan alınan bir hücre örneğindeki kromozomların sayısını, boyutunu ve yapısını inceleyen bir genetik test yöntemidir. Bu test, bir bireyin doğuştan normal sayıda kromozoma sahip olup olmadığını veya kromozomlarda herhangi bir sayısal veya yapısal değişikliğin olup olmadığını belirleyebilmektedir (Anonymous, 2020).



### CBMN: Sitokinezi Engelli Mikronükleus Tekniği

Şekil 3. Genotoksik maddelerin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan test yöntemleri

MN testi, genotoksisite değerlendirmesi için kullanılan bir testtir. Bu test, hücre bölünmesi sırasında kromozomların veya kromozom parçalarının normal hücre çekirdeğine dahil edilmediği durumlarda ortaya çıkan mikronükleus adı verilen küçük ek çekirdeklerin varlığını tespit etmek amacıyla hücreleri incelemeyi içermektedir. MN testi, in vitro veya in vivo koşullarda uygulanabilmektedir ve kimyasal maddeler, radyasyon, nanopartiküller gibi çeşitli ajanların genetik materyale olan etkilerini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Bu test, sağlık risklerini belirlemek ve çevresel faktörlerin genetik yapıya olan potansiyel etkilerini anlamak için önemli bir araştırma aracı olarak kabul edilmektedir (Canedo vd., 2021).

CBMN testi, hücrelerin bölünmesi sırasında sitokinezin engellendiği mikronükleus testinin bir modifikasyonudur. Bu test, mikronükleusların yanı sıra, hücrenin bölünme yeteneğini değerlendirmek için de kullanılmaktadır. CBMN testi, hücrelerin kromozomal anormalliklerini ve sitotoksik etkileri değerlendirmek amacıyla genotoksik maddelerin etkilerini daha ayrıntılı bir

şekilde incelemek için kullanılmaktadır (Franzke vd., 2020).

*Allium cepa* L. testi, bitkilerin özellikle soğanların köklerini kullanarak, hücrelerde kromozomal anormalliklerin ve DNA hasarının varlığını değerlendirmek için kullanılan bir genotoksisite testidir. Bu test, bitki hücrelerinin maruz kaldığı çevresel etkileri incelemek ve genetik hasarın izlerini tespit etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Salazar Mercado vd., 2020).

Comet testi, diğer in vivo genotoksisite test modellerine kıyasla avantajlar sunmaktadır. Bu test, DNA migrasyonuna dayalı elektroforez koşullarında gerçekleştirilmektedir ve çeşitli doku tiplerinde uygulanabilmektedir (Abo-EL-Sooud vd., 2018). Comet testi, fiziksel ve kimyasal etkenler veya DNA hasarının onarım süreci sırasında meydana gelen DNA kırıklarının veya AP bölgelerinin tespit etmek amacıyla kullanılan çok yönlü bir genotoksisite testidir (Cordelli vd., 2021). Hem in vitro hem de in vivo genotoksisite testlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Bajpayee vd., 2019). In vivo Comet testi, canlı



organizmalardan elde edilen hücrelerdeki DNA tek-sarmal kırıklarının tespit ederek maddelerin genotoksik potansiyelini değerlendirmek için kullanılmaktadır (Jiang vd., 2023). Comet testi, in vitro olarak oluşturulan DNA hasarını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan tek hücreli jel elektroforezi (SCGE) testi olarak da bilinmektedir (Hozayen vd., 2020).

### **BAZI GIDA KATKI MADDELERİNİN GENOTOKSİTESİ ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR**

GKM'lerin insan sağlığına olan etkileri üzerine yapılan araştırmalar, tüketici sağlığının korunması açısından büyük bir öneme sahiptir. GKM'lerin güvenliğini değerlendirilmesine ilişkin araştırmalar, bu maddelerin GKM olarak kullanımı onaylanmadan önce başlar ve GKM olarak kullanıldığı sürece devam eden bir süreklilik gösterir.

Bu çalışmada, GKM'lerin potansiyel genotoksik etkileri üzerine odaklanılmış ve son beş yılda literatürde daha fazla yer bulan ve yaygın olarak kullanılan GKM'ler incelenmiştir.

Monosodyum glutamat (MSG), aspartam, benzoatlar, terbütil hidrokinon (THBQ) ve bazı renklendiriciler gibi bu çalışmada ele alınan GKM, genotoksik etkileri açısından hem in vivo hem de in vitro çalışmalarla ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmiştir.

#### **Lezzet Arttırıcılar**

Lezzet arttırıcılar, yiyeceklerin aromasını ve lezzetini arttırmak için kullanılan katkı maddeleridir, ancak besin değerine katkı sağlamazlar (Nixon vd., 2023). Lezzet arttırıcılar doğal, doğaya uygun veya yapay olarak kategorilere ayrılabilir. Yapay lezzet arttırıcılar, istenen tatları ve aromaları sağlar, ancak sağlık profesyonelleri arasında kullanım dozları açısından tartışmalı bir konudur. Bazı araştırmacılar, yapay lezzet arttırıcıların potansiyel olarak alerjik reaksiyonlara ve sindirim bozuklukları gibi sağlık sorunlarına yol açabileceğini belirtmişlerdir (Valluzzi vd., 2019; Czarnecka vd., 2021).

MSG (E 621), en sık kullanılan lezzet arttırıcı özellikteki bir GKM'dir. Yüzyıllardır bir lezzet arttırıcı olarak kullanılan MSG, esansiyel olmayan bir amino asit olan glutamatın sodyum tuzudur (Zanfirescu vd., 2019). MSG, insan vücudu tarafından doğal glutamatla benzer şekilde işlenir. Gün içinde yaklaşık olarak 10-12 g glutamat tüketilirken, bu miktarın 0.5-1.0 g'ı MSG veya diğer glutamat içeren lezzet arttırıcılarla alınmaktadır (Tomé, 2018).

MSG'nin sağlık üzerine etkileri hala tartışmalıdır. Önerilen dozlarda kullanıldığında genel olarak güvenli kabul edilmektedir, bununla birlikte bazı çalışmalarda özellikle uzun süre maruziyetin güvenliği sorgulanmıştır (Chakraborty, 2019; Abu-Elfotuh vd., 2022). Çeşitli çalışmalar, MSG'nin fetal gelişimden yetişkinliğe kadar bir dizi yaş grubunda potansiyel toksik etkilere neden olabileceğini ileri sürmektedir (Chakraborty, 2019). MSG'nin potansiyel komplikasyonları arasında hipertansiyon, obezite, sindirim sorunları, sinir sistemi bozuklukları, dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu (DEHB), üreme sorunları ve endokrin sistem fonksiyonlarında bozulmalar bulunmaktadır (Chakraborty, 2019; Abu-Elfotuh vd., 2022).

Ayrıca, bir çalışmada MSG'nin hücre canlılığı üzerindeki etkisi incelenmiş ve sonuçlar, farklı konsantrasyonlarda (0.5, 1.0, 10, 50 ve 100 mM) MSG ile 24 saatlik tedaviden sonra canlı hücre sayısında önemli bir artış olduğunu göstermiştir. MSG'nin kolon kanseri hücreleri üzerinde proliferatif bir etki sağladığı ileri sürülmüştür (Hargan vd., 2021). Ek olarak MSG ile birlikte yüksek yağlı bir diyetin tüketimi dislipidemi ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı gelişimi ve metabolik değişiklikler ve sistemik anomaliler ile ilişkilendirilmiştir (Banerjee vd., 2021). MSG'nin etkisi, kullanılan doz miktarına, uygulama yoluna ve maruz kalma süresine bağlı olarak değişebilir (Chakraborty, 2019).

MSG'nin genotoksik etkilere neden olup olmadığına dair araştırmalar karışık sonuçlar vermektedir. Bu konuda daha fazla açıklık sağlamak için, 2016 yılında, Uluslararası Glutamat Teknik Komitesi (IGTC), MSG ile ilgili çalışma

sonuçlarının WHO Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi (JECFA) tarafından değerlendirildiğini ve genotoksisite yerine bir metabolik yanıt olarak kabul edildiğini belirtmiştir. MSG'nin in vivo genotoksik etkisinin olmamasının nedeni, vücut tarafından metabolize edilmesi ve bağırsak duvarında etkisiz hale getirilmesi olabileceği şeklinde belirtilmiştir (Rogers, 2016).

MSG güvenliği konusunda birçok ülkenin gıda düzenleyici kuruluşları ve bilimsel kurulları, belirli günlük alım limitlerini belirlemiştir. MSG için vücut ağırlığı başına 3200 mg "gözlenen herhangi bir olumsuz etki düzeyi" (NOAEL) belirlenmiştir. Belirsizlik faktörü (100) dikkate alınarak, günlük vücut ağırlığı başına 30 mg glutamik asit ve glutamatlar için ADI olarak belirlenmiştir (Anonymous, 2017).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi'nin "Gıda Katkı Maddeleri ve Gıda Kaynakları Paneli" (EFSA) glutamik asit-glutamatların (E 620-625) güvenliğini 2017 yılında yeniden değerlendirmiştir. Panel, bu maddelerin herhangi bir genotoksisite endişesi oluşturmadığı sonucuna varmıştır (Anonymous, 2017).

Ancak, panel aynı zamanda bazı nüfus gruplarının önerilen günlük alım limitlerini aşabileceğini belirtmiştir. Glutamik asit-glutamat için tüm diyet kaynaklarını dikkate alarak maruziyet tahminlerini değerlendirmiştir. Etiketlenmemiş bir rafine maruziyet senaryosunda, yüksek (95. persentil) ve ortalama seviyelerde (yaşlılar hariç) tüm nüfus gruplarında önerilen ADI'yı önemli ölçüde aşan dozların olduğunu tespit etmiş ve özellikle bebeklerde bu konuda daha fazla araştırma gerekliliğini vurgulamıştır (Anonymous, 2017).

Bununla birlikte, sonraki bir çalışma MSG'nin genotoksik etkilerini değerlendirmiş, MSG'nin herhangi bir bakteri türünde mutajeniteye yol açmadığını, hücrelerde kromozomal anormalliklere neden olmadığını, fare lenfoma hücrelerinde gen mutasyonlarına neden olmadığını, insan lenfositlerinde klastojenik veya anöjenik etkilere sahip olmadığını ve sıçan eritrositlerinde mikronükleus oluşumuna yol açmadığını göstermiştir (Takumi vd., 2019).

Buna karşın çeşitli çalışmalar, yüksek dozlarda MSG tüketiminin genotoksik etkilere yol açabileceğini belirtmektedir (El-Alfy vd., 2020; Mahmoud vd., 2020). Ancak, bu dozlar normal gıda ürünlerinden bulunan MSG düzeylerinin oldukça üstündedir. Bu çalışmalarda genotoksik etkiler, kromozom sapmaları, comet testi, mikronükleus ve kardeş kromatit değişimleri aracılığıyla doğrulanmıştır. MSG tedavisi sonucunda hücre ölümünün arttığı ve antioksidan savunma sisteminin bozulduğu gözlenmiştir (El-Alfy vd., 2020; Mahmoud vd., 2020). Benzer şekilde diğer lezzet arttırıcı GKM olan Monopotasyum glutamat (E 622) ve Magnezyum di glutamat (E 625), özellikle yüksek konsantrasyonlarda (500 ve 1000 µg/mL) insan lenfositlerinde genotoksik olabileceği öne sürülmüştür (Avuloglu-Yılmaz vd., 2020).

Oksidatif stresin, MSG'nin toksisitesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Ko vd., 2022). Bazı çalışmalar MSG'nin çeşitli dokularda oksidatif stresi artırarak, hücre zarı geçirgenliğini bozduğunu ve protein modifikasyonlarına yol açabileceğini öne sürmüştür (Bellani vd., 2020). Ayrıca, MSG'nin erkek üreme sistemi üzerinde çeşitli olumsuz etkilere yol açabileceği ileri sürülmüştür, bunlar histomorfolojik değişiklikler, hormonal işlev bozukluğu ve sperm kalitesinde azalmayı içerebilir (Şekil 2) (Kayode vd., 2020).

Bir çalışmada, MSG'nin bildirilen olumsuz sağlık etkilerinin çoğunun, genellikle normal gıda ürünlerinde bulunan düzeylerle uyumsuz aşırı dozlara dayandığı ve kronik insan maruziyetiyle sınırlı bir ilişkisi olduğu belirtilmiş, mevcut bilgilerin sağlam bir temele dayanmadığı sonucu vurgulanmıştır (Zanfirescu vd., 2019).

Buna ek olarak, bazı araştırmalar kitosan, karabiber, kimyon, acı biber, zencefil gibi besinlerin MSG kaynaklı genotoksisiteye karşı koruyucu bir etkiye sahip olabileceğini öne sürmektedir. Bu doğal besin maddelerinin, MSG'nin olumsuz etkilerini azaltmada potansiyel bir koruyucu rol oynayabileceği belirtilmektedir.

Sonuç olarak, MSG tüketimi ile ilişkili riskleri ve besinlerin ya da doğal katkı maddelerinin

potansiyel koruyucu etkilerini daha iyi değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (El-Alfy vd., 2020).

### Tatlandırıcılar

Tatlandırıcılar (E 950-969), yiyecek ürünlerine tatlı bir lezzet katmak amacıyla kullanılırlar (Masithoh vd., 2020). Özellikle diyabetik ürünlerde, şeker yerine düşük kalorili tatlandırıcılar tercih edilmektedir. Yapay tatlandırıcılar, tat değişikliği sağlamak için küçük miktarlarda kullanılır, düşük kalorili ya da kalorisiz olabilirler (Ahmad vd., 2020). Düşük kalorili yiyecek ve içecekler, şeker içermeyen ürünler, sakızlar ve fırıncılık ürünlerinde sıkça kullanılırlar (Masithoh vd., 2020). Ancak, yapay tatlandırıcıların uzun süreli kullanımının sağlık üzerindeki etkileri hala tartışmalıdır (Walbolt vd., 2020). İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan klinik çalışmalar, yapay tatlandırıcıların iştahı, bağırsak hormonlarını, böbrek fonksiyonunu, glikoz metabolizmasını, adipogenez ve bağırsak mikrobiyotasını etkileyebileceğini göstermektedir (Pepino, 2015; Wang vd., 2018; Bridge-Comer vd., 2022).

Aspartam (E 951), yaygın olarak kullanılan bir tatlandırıcıdır ve genotoksik etkileri mikrobiyal, hücre kültürü ve hayvan modellerinde kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir (Otabe vd., 2019). Ayrıca bu tatlandırıcı birçok kanserojenlik çalışmasının odak noktası olmuştur (Borghoff vd., 2022). Ancak, mevcut kanıtlar aspartam tüketiminin insanlarda kanserojen olmadığını göstermektedir. Kanserijenite çalışmalarının kapsamlı bir incelemesi sonucunda, çalışmaların tutarsız bulgularının, çalışma tasarımı ve yürütülmesindeki kusurlarla açıklanabileceği ve aspartamın güvenli olduğu sonucuna varılmıştır (Haighton vd., 2019; Borghoff vd., 2022).

Güncel bir çalışma, aspartamın yanı sıra asesülfam k, advantam, siklamatlar, sakkarin, steviol glikozitler ve sükraloz için genotoksisite ve karsinojenisite verilerini değerlendirmiş, yapay tatlandırıcıların tüketimi ile ilişkili kanser riskine dair herhangi bir kanıt olmadığı sonucuna varılabileceğini ifade etmiştir (Pavanello vd., 2023).

Buna karşın, bazı çalışmalar aspartamın genotoksik etkilere sahip olabileceğini ileri sürmüştür. Bir çalışma, aspartamın hepatositlerde genotoksik etkilere yol açabileceğini ileri sürmüştür (Hamza vd., 2019). Benzer şekilde, aspartamın insan kan hücresi kültürlerinde genotoksik potansiyele ve doza bağlı sitotoksik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Çadirci vd., 2020). Aspartamın sıklıkla birlikte kullanıldığı asesülfam potasyum ile kombinasyon halinde doza bağlı genotoksik etkiler sergilediği gösterilmiştir (Czarnecka vd., 2021). Öte yandan, aspartamın mutajenik etkileri üzerine yapılan derlemelerde, aspartamın genotoksik etkilere sahip olmadığı rapor edilmiştir (Otabe vd., 2019; Lea vd., 2021).

Aspartam çalışmalarındaki tutarsızlık nedenleri arasında farklı test yöntemleri ve protokollerinin kullanılması, zayıf çalışma tasarımları, eksik raporlama kalitesi ve doğal onarım mekanizmalarının göz ardı edilmesi gibi faktörler yer almaktadır (Lea vd., 2021).

EFSA Paneli, 2013 yılındaki raporunda aspartamın mevcut maruziyet tahminlerine ve günde 40 mg/kg vücut ağırlığı ADI değerine dayanarak bir güvenlik endişesi oluşturmadığı sonucuna varmıştır. Bu nedenle, raporda aspartam için ADI'nın değiştirilmesine gerek olmadığı belirtilmiştir (Anonymous, 2013).

Diğer bir yapay tatlandırıcı olan sükraloz (E 955), sükrözdan 600 kat daha tatlıdır ve birçok gıda, içecek ve ilaç ürününde şekerin yerine kullanılmaktadır (Schiffman vd., 2023).

Ancak sükralozun kimyasal bir analogu ve üretiminde bir ara madde olan sükraloz-6-asetat adlı bileşiğin MN testi ile değerlendirilmesi sonucunda, bu bileşiğin genotoksik etkilere yol açtığı ve DNA hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Schiffman vd., 2023). Ayrıca bu bileşiğin bağırsaklarda sükralozla asetilleştiği tespit edilmiş ve günlük alımının toksikolojik endişe eşiğini aşabileceği belirlenmiştir (Schiffman vd., 2023). Bu durumun, insan bağırsak epitelinde gen ekspresyonu değişikliklerine neden olarak bağırsak bariyerini bozabileceği ve sitokrom P450 ailesini inhibe edebileceği öne sürülmüştür.

(Schiffman vd., 2023). Ayrıca sükralozun ısıtıldığında DNA ile etkileşime girebilen toksik ürünlerin oluşumuna neden olabileceğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır (Pasqualli vd., 2020a). Bir çalışma sükralozun ısıtılmamış koşullar altında ve normal tüketim konsantrasyonlarında insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceğini, lenfosit kültürlerinde DNA hasarında artışa ve lenfosit kromozomal setlerinde yapısal değişikliklere yol açabileceğini ifade etmiştir (Pasqualli vd., 2020a). Bununla birlikte sükraloz gıda ve içeceklerde kullanımı küresel olarak onaylanmış bir yapay tatlandırıcıdır. Sükraloz ile ilgili çalışmalar incelendiğinde sükraloz tüketiminin ADI değerinin oldukça altında olduğu bulunmuştur (Magnuson vd., 2017).

Asesülfam-K (E 950), aspartam ve siklamat gibi yapay tatlandırıcıların toksik potansiyellerini ve nutrasötik özelliklerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada, *Drosophila melanogaster* organizması üzerinde in vivo deneyler ve HL-60 hücre hattı kullanılarak in vitro deneyler gerçekleştirilmiştir (Mateo Fernández vd., 2022). Yapılan testler sonucunda, test edilen yapay tatlandırıcıların, kullanılan konsantrasyonlarda genellikle toksik veya genotoksik etkilere yol açmadığı tespit edilmiştir. Ancak, bu bileşiklerin sitotoksik ve antijenotoksik maddelerle etkileşime girdiği ve *Drosophila melanogaster* organizmasının yaşam kalitesini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Asesülfam-K ve siklamat'ın HL-60 hücre hattında DNA hasarını artırdığı ve asesülfam-K'nın metilasyon durumunu artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca, DNA fragmantasyonu ve kuyruklu yıldız analizleri, asesülfam-K ve aspartam kullanımının hücre ölümünün nekrotik bir yol izleyebileceğini göstermektedir (Mateo Fernández vd., 2022).

Sonuç olarak, test edilen yapay tatlandırıcıların, kullanılan konsantrasyonlarda genellikle güvenli olduğu ve toksisite veya genotoksisiteye yol açmadığı ortaya konulmuştur (Mateo Fernández vd., 2022). Ancak, bu bileşiklerin hücre ölüm mekanizmalarını etkileyebileceği ve bazı gen ekspresyonlarını modüle edebileceği ve kemopreventif potansiyellere sahip olabileceği vurgulanmıştır (Mateo Fernández vd., 2022).

Stevia tatlandırıcısı (E 960), günümüzde tüketilen fazla şekerin sağlık üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle popülerlik kazanan bir alternatif tatlandırıcıdır. Stevia'nın genotoksik etkilere sahip olup olmadığını değerlendirmek amacıyla bir dizi araştırma yapılmıştır. Örneğin, *Drosophila melanogaster* organizması üzerinde gerçekleştirilen bir çalışma, stevia'nın fruktoz gibi şekerlerle karşılaştırıldığında genetik rekombinasyonu tetiklemediğini göstermiştir. Bu sonuçlar, stevia tatlandırıcısının fruktozun neden olduğu anormallikleri azaltmak için güvenli bir alternatif olabileceğini öne sürmektedir (Tagorti vd., 2023).

Ancak, stevia'nın genotoksik etkilere sahip olabileceğini belirten çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin, *Stevia urticifolia* Thunb. bitkisinden elde edilen etil asetat ekstraktının DNA hasarına neden olabileceğini gösteren bir çalışma mevcuttur. Bu çalışma, *Artemia salina*, eritrositler, *Allium cepa* ve sarkoma 180 hücreleri ve fibroblastlar üzerinde yapılmıştır. Araştırma, etil asetat ekstraktının bazı koşullarda toksik etkilere yol açabileceğini, ancak bu etkilerin düşük konsantrasyonlarda belirgin olmadığını vurgulamıştır (Ferreira vd., 2022).

Stevia tatlandırıcısının insan sağlığına etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan başka bir çalışma ise steviol glikozitlerin oral alımının fareler üzerindeki etkilerini incelemiştir. Farklı dozlar kullanılarak 4 hafta boyunca farelere steviol glikozitleri verilen çalışmada steviol glikozitlerin kan lipid parametrelerini etkilemediği ancak oksidatif hasarı ve kromozomal hasarı artırabileceği bildirilmiştir. Bu bulgular, steviol glikozitlerinin potansiyel olarak genotoksik etkilere yol açabileceğini ve daha fazla araştırma gerektiğini öne sürmektedir (Yılmaz vd., 2022). Ek olarak, insan lenfosit hücre kültürlerinde stevia tatlandırıcısının sitotoksitesisi, genotoksitesisi ve immünotoksitesisini inceleyen bir başka çalışma, steviol glikozitlerinin lenfosit sayısını azalttığını, DNA hasarı ile kromozom setlerinde yapısal değişikliklere yol açtığını ifade etmiştir (Pasqualli vd., 2020b).

Steviol glikozitlerinin güvenliği üzerine daha önceki değerlendirmelerin yanı sıra, karsinojenlerin temel özellikleri ve mekanistik

verileri temel alan kapsamlı bir inceleme gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamlı inceleme, canlı organizmalardan ve laboratuvar testlerinden elde edilen verilere dayanarak, steviol glikozitlerinin genotoksik ve karsinojenik etkilerinin düşük olduğunu ortaya koymaktadır (Chappell vd., 2021). Bulgulara göre, steviol glikozitleri genellikle anti-inflamatuar, antioksidan ve anti-proliferatif etkiler içermekte ve insanlar için karsinojenik olma olasılığının düşük olduğunu göstermektedir (Chappell vd., 2021). Bu çalışmanın sonuçları, stevia ile ilgili daha önce alınan düzenleyici kararları desteklemekte ve iki yıllık kemirgen kanser biyo-testlerinde tümör cevabının olmaması ile uyumludur (Chappell vd., 2021). Sonuç olarak, stevia tatlandırıcısının genotoksik etkileri konusundaki veriler karmaşıktır. Bazı çalışmalar genotoksik potansiyel bulamamışken, diğerleri bu potansiyeli işaret etmektedir. Dolayısıyla, stevia tatlandırıcısının insan sağlığına etkilerini daha iyi anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

### **Koruyucular**

Koruyucu GKM'ler, gıdaların mikroorganizmalardan ve oksidasyondan korunması, renk ve lezzet kaybının önlenmesi ve gıda ürünlerinin raf ömrünün uzatılması amacıyla eklenen kimyasal bileşenlerdir (Pandey vd., 2021).

Bu koruyucu GKM'ler, gıdalardaki kullanım amaçlarına bağlı olarak iki ana kategoriye ayrılabilir: antioksidanlar ve antimikrobiyal ajanlar. Antimikrobiyal koruyucular arasında benzoatlar, sorbatlar, nitritler, sodyum veya potasyum nitratlar, sülfidler gibi farklı bileşenler bulunmaktadır. Antioksidan koruyucular arasında ise askorbik asit, bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), sitrik asit, sülfidler, TBHQ ve tokoferoller gibi çeşitli bileşenler yer almaktadır (García-García vd., 2016).

Benzoatlar (E 210-213), benzoik asit tuzlarından oluşan bir grup kimyasal bileşiktir. Sodyum benzoat, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bir benzoat türüdür ve gıdalardaki bozulmayı engellemek amacıyla zararlı bakterilerin, mayaların ve küflerin etkisini durdurarak koruyucu bir işlev üstlenir (Sambu vd.,

2022). Ayrıca, gıdalardaki tazeliği korumak amacıyla renk, lezzet, pH ve doku değişikliklerini yavaşlatarak veya önleyerek tazeliğin korunmasına yardımcı olur. Bu koruyucu aynı zamanda bazı ilaçlar, kozmetik ürünler, kişisel bakım ürünleri ve endüstriyel ürünlerde de kullanılmaktadır (Walczak-Nowicka Ł vd., 2022).

Benzoatlar üzerine yapılan çeşitli çalışmalar, benzoik asidin genotoksitesinin yüksek konsantrasyonlarda arttığını ve hayatta kalma süresinde azalmaya neden olduğunu göstermektedir (Stevenson vd., 2010; Abo-EL-Sooud vd., 2018; Chatterjee vd., 2021).

Ancak, insan hepatoselüler karsinom kanser hücre hattı (HepG2) üzerinde yapılan bir çalışmada, benzoik asit ile tedavi edilen hücrelerde Bcl-2 proteininin artan seviyelerde ifade edildiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, benzoik asidin bu hücrelerde anti-apoptotik bir etki sergilediğini göstermektedir (El-Hefny vd., 2020).

Bazı çalışmalarda potasyum sorbat, sodyum benzoat ve potasyum nitratın düşük konsantrasyonlarda genotoksite sergilediği gösterilmiştir. Özellikle sodyum benzoat, lenfositlerde mikronükleus oluşumu ve kromozom kırıkları gibi mutajenik ve sitotoksik etkilerle ilişkilendirilmiştir (Mpountoukas vd., 2010; Pongsavee, 2015; Oladele vd., 2020).

Dişi sıçanlarda yapılan bir in vivo çalışmada, sodyum benzoat ve sunset yellow'un (günbatımı sarısı) (E 110) genotoksik etkileri araştırılmıştır. Sıçanlara 12 hafta boyunca değişen dozlarda sodyum benzoat (10 ila 750 mg/kg) ve sunset yellow (5-200 mg/kg) verilmiştir. Çalışmanın sonunda DNA hasarı gözlenmiş ve sodyum benzoat ve sunset yellow'un genotoksik potansiyele sahip olabileceği bildirilmiştir (Ali vd., 2020).

Benzoik asit, sodyum benzoat, potasyum benzoat ve kalsiyum benzoatın yeniden değerlendirilmesine ilişkin EFSA raporuna göre, kısa süreli ve subkronik çalışmalar bu maddelerin düşük toksisiteye sahip olduğunu göstermektedir. Panel, benzoatların genotoksitesini ve

karsinojenik potansiyeli hakkında herhangi bir endişe olmadığını belirtmiştir. ADI değeri günde 5 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir. Ancak, bazı gıda kategorilerinde, özellikle küçük çocuklar ve sıkça aromalı içecek tüketen bireyler arasında, benzoik asit ve tuzlarının ADI değerini aştığı kaydedilmiştir (Anonymous, 2016a).

Sorbat, benzoat ve nitrat gibi gıda koruyucuları, genellikle güvenli kabul edilirler, ancak bazı endişeler gündeme gelebilir. Örneğin, benzoat alerjik reaksiyonlara neden olabilir ve bağışıklık sistemini baskılayabilir. Ayrıca, nitritler kanserojen nitrozaminlerin oluşumu ile ilişkilendirilmiştir ve sorbat, midede nitrit ile reaksiyona girebilir, bu da potansiyel olarak genotoksik bileşiklerin oluşumuna yol açabilir (Javanmardi vd., 2019). Bu nedenle, bu tür GKM'lerin daha yakından incelenmesi ve güvenlikleri konusunda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Benzoik asidin fenolik bir türevi olan parabenler, antimikrobiyal etkileri nedeniyle gıda koruyucuları olarak kullanılmaktadırlar (Güzel Bayülken vd., 2019). Parabenlerin kullanımı sadece gıda endüstrisiyle sınırlı değildir; aynı zamanda kozmetik ve ilaç sektörlerinde de geniş bir kullanım alanına sahiptir (Martins vd., 2023). Parabenlerin yaygın kullanımına rağmen, bu kimyasalların endokrin sistem üzerinde etkili olabileceği, kanser oluşumu, üreme bozuklukları ve sperm üretiminde bozukluklara yol açma olasılığına dair endişeler bulunmaktadır (Martins vd., 2023). Parabenlerin toksik etkileri, alkil zincirlerinin uzunluğuna bağlı olarak değişebilir, bu bağlamda metil parabenin, butil paraben ve izobütil parabenlere göre daha düşük toksisiteye sahip olduğu çeşitli in vitro ve hayvan testlerinde gösterilmiştir (Kizhedath vd., 2019).

Bir çalışma, insan lenfosit kültürlerine farklı paraben dozları uygulayarak CBMN, CA, kardeş kromatit değişimi ve Comet testleri gerçekleştirmiştir. Sonuçlar, yüksek doz paraben maruziyetinin (250-500 µg/mL), 24 saatlik bir süre içinde kromozomal anormallikleri artırdığını gösterirken, 100, 250 ve 500 µg/mL dozlarının 48 saatlik maruziyeti hücrelerde sitokinezin

engellenmesine ve proliferasyon indeksinde anlamlı bir azalmaya yol açtığını belirlemiştir. Ayrıca, Comet testi sadece en yüksek doz paraben maruziyetinin DNA hasarına neden olduğunu göstermiştir (Güzel Bayülken vd., 2019).

Öte yandan, metil ve butil parabenlerin sıçanlara subkutan olarak 100-200 mg/kg vücut ağırlığı dozlarında uygulandığı ve in vivo etkilerinin değerlendirildiği bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, testislerin ve seminal veziküllerin ağırlığının azaldığı, SOD düzeylerinin ve katalaz aktivitesinin arttığı ve bu nedenle antioksidan sisteminin etkilendiği gözlemlenmiştir. Dolayısıyla, bu çalışma parabenlerin sıçan erkek üreme organlarında genotoksisiteye neden olabileceği iddiasını desteklemektedir (Martins vd., 2023).

Elde edilen sonuçlar, parabenlerin genotoksik etkileri üzerine yapılan çalışmalarda antioksidan sistemi etkileyebileceğini göstermektedir. Benzer bir çalışma, 500 mM konsantrasyonda uygulanan parabenin *Allium cepa* L. soğanlarında kromozomal aberasyonların sıklığında artışa neden olduğunu ve yüksek bir genotoksik etki gösterdiğini ifade etmiştir. Ayrıca, hücre içi antioksidan/oksidan dengesini bozarak malondialdehit seviyelerini artırmış, glutatyon seviyelerini düşürmüştü ve SOD ile CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde anormalliklere yol açmıştır (Kurt vd., 2023). Benzer bir çalışmada metil veya butil parabenin (5-1000 µM) hepatokarsinoma hücre hattında (HepG2) ve yenidoğan insan dermal fibroblastlarında (HDFn) hücre canlılığını azalttığı, yüksek konsantrasyonlarda glutatyon düzeylerinin düştüğü bildirilmiştir (Kizhedath vd., 2019).

TBHQ (E 319) gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan bir koruyucu GKM'dir (Khezerlou vd., 2022). Ancak, yüksek dozlarda TBHQ'ya maruz kalmanın apoptozu ve karsinojeniteyi tetikleyebileceği rapor edilmiştir (Ousji vd., 2020). Özellikle uzun süre yüksek dozlarda (0.7 mg/kg) TBHQ'ya maruz kalmak bir dizi sağlık sorununa yol açabilir. Bu sorunlar arasında sitotoksik, genotoksik,

karsinogenik ve mutajenik etkiler yer almaktadır (Khezerlou vd., 2022). Ayrıca, TBHQ'nun metaboliti, lipid peroksidasyonunu artırırken P53 seviyelerini yükseltebilir ve SOD seviyelerini azaltabilir (Meng vd., 2020b). Bununla birlikte, TBHQ'nun antioksidatif ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu ve bazı çalışmalarda terapötik etkileri olduğu bulunmuştur. Ancak, uzun süreli kullanımı, oksidatif stresi artırabileceği ve potansiyel sağlık sorunlarına yol açabileceği için gıdalarda yalnızca yasal olarak izin verilen düzeylerde kullanılması önerilmektedir (Meng vd., 2020b; Khezerlou vd., 2022).

BHA (E 320) ve BHT (E 321) tahıllar, sakız, patates cipleri ve bitkisel yağlar gibi gıdalarda sıklıkla kullanılan koruyucu GKM'lerdir. Bu koruyucuların *Allium cepa* bitkisinin somatik hücreleri üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışma, farklı konsantrasyonlara maruz bırakılan bitkilerin kök uçlarında büyüme geriliği, kök dokusunda değişiklikler ve kromozomal aberasyonların sıklığında artış tespit etmiştir. Genotoksisite açısından değerlendirildiğinde, en yüksek konsantrasyonun (2500 ppm), kontrol grubuna göre genetik olarak belirgin bir farklılık gösterdiği bulunmuştur (Pandey vd., 2021).

Kısa zincirli bir yağ asidi olan propiyonik asit (E 280) ve propiyonatlar gıdalarda koruyucu olarak eklenmektedir. *Drosophila melanogaster* hemositleri üzerindeki bazı etkilerini inceleyen güncel bir çalışma, farklı konsantrasyonlarda (0.1 ila 10 mM) propiyonik asidin genotoksik etkilerini Comet testi kullanarak değerlendirmiştir. Bulgular, 5 ve 10 mM konsantrasyonlarında belirgin genotoksik etkilerin gözlemlendiğini ortaya koymuştur (Turna Demir vd., 2023). Bununla birlikte propiyonik asit ile ilgili çalışmalar sınırlıdır, potansiyel genotoksik etkilerini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

EFSA, propiyonik asit ve propiyonatların güvenliğinin değerlendirildiği 2014 yılındaki raporunda, izin verilen kullanım miktarları için herhangi bir güvenlik endişesinin olmadığını bildirmiştir (Anonymous, 2014).

Sonuç olarak, özellikle benzoatlar, nitritler, parabenler ve bazı antioksidanlar gibi koruyucu maddelerin potansiyel genotoksik etkileri konusunda endişeler bulunmaktadır. Bazı çalışmalar, bu maddelerin yüksek konsantrasyonlarda genetik hasara neden olabileceğini ileri sürmüştür. Bununla birlikte, koruyucu maddelerin düşük konsantrasyonlarda ve yasal olarak izin verilen sınırlar içinde kullanılmasının güvenli olduğu kabul edilmektedir. Ancak, koruyucu GKM'lerin kullanımı ve güvenliği konusunda daha fazla araştırma ve düzenlemeler gerekebilir. Gıda endüstrisinde bu tür maddelerin kontrollü ve bilinçli bir şekilde kullanılması hem gıdaların kalitesini koruma hem de tüketici sağlığını güvence altına alma açısından büyük önem taşımaktadır.

### Renklendiriciler

Azo boyalar, maliyetlerinin düşük olması nedeniyle gıda endüstrisinde sıkça kullanılmalarına rağmen, alerjik reaksiyonlar, kanserojenik etkiler, genotoksisite, sitotoksisite gibi birçok sağlık sorunuyla ilişkilendirilmektedir (Kaya vd., 2021). Bu çalışmada yaygın olarak kullanılan ve son beş yılda genotoksik etkileri araştırılan, sağlık üzerine etkileri daha sıklıkla tartışılan yapay renklendiriciler ele alınmıştır.

Tartrazin (E 102), birçok içecek, cips, reçel, kozmetik ve farmasötik üründe bulunan ve yaygın olarak kullanılan, sarı bir gıda boyasıdır (Hobbs vd., 2012). Bazı çalışmalar, tartrazinin sağlık üzerinde potansiyel zararlı genotoksik etkilerine işaret ederek, uzun süreli kullanımının karsinogeneze katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Proquin vd., 2018). Bir çalışma, tartrazinin lökositlerde DNA hasarına yol açarak genotoksisiteye neden olabileceğini ortaya koymuştur (Hobbs vd., 2012). Ayrıca, tartrazin, amarant (E 123) ve eritrosin (E 127) gibi yapay renklendiricilerin, insan periferik kan hücrelerine karşı in vitro toksik potansiyele sahip olduğu ve DNA'ya doğrudan bağlanabildiği gösterilmiştir (Gičević vd., 2020).

Tartrazin'in değerlendirilmesi sırasında EFSA, kılavuzlara uygun olmayan bir genotoksisite

çalışmasının potansiyel genotoksisite endişelerini artırması nedeniyle bu konuda endişelerini dile getirmiştir. Bu endişelerin üzerine, EFSA ilgili çalışmanın yanı sıra hayvanlar üzerinde yapılan bir in vivo genotoksisite çalışmasının da talep edilmesine karar vermiştir. Yapılan in vivo çalışmanın bulguları, tartrazin için kemik iliği mikronükleus testi ve karaciğer, mide ve kolon gibi dokuları içeren comet testi ile yapılan testlerde belirgin bir genotoksik aktivite olmadığını göstermiştir. JECFA da 2016 yılında bu verileri gözden geçirmiş ve tartrazin ile ilişkili herhangi bir genotoksisite endişesi olmadığı sonucuna varmıştır. Benzer şekilde, allura red AC (E 129) ve ponceau 4R (E 124) gibi diğer azo boyalarıyla yapılan paralel çalışmalarda da genotoksisite bulunmaması, gıda renklendiricisi olarak kullanılan azo boyalarının genotoksik olmadığına dair anlayışla uyumludur (Anonymous, 2009a).

Güncel bir çalışmada in vivo mikronükleus testinde tartrazinin genotoksisitesi değerlendirilmiş, incelenen tüm dozlar için tartrazinin genetik hasara veya mikronükleasyon oluşumuna neden olmadığı sonucuna varılmıştır (Akhal'tseva vd., 2022). Benzer şekilde bir in vitro çalışmada, kısa süreli tartrazin maruziyetinin genotoksik etkisi olmadığı bildirilmiştir (Nasri vd., 2021). Bununla birlikte, bazı güncel çalışmalar tartrazinin DNA hasarına neden olabileceğini öne sürmektedir (Floriano vd., 2018; El-Desoky vd., 2020; Vega-Cabanillas vd., 2021; Dos Santos vd., 2022). Tartrazinin genotoksik ve mutajenik etkilerini değerlendirmek için ek çalışmalara ihtiyaç vardır (Dos Santos vd., 2022).

Allura red ve sunset yellow gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan yapay renklendiricilerdir (Khayyat vd., 2018). Bir çalışmada allura red ve sunset yellow'un beyaz kan hücreleri üzerindeki genotoksik etkileri incelenmiş ve sunset yellow'un genotoksik potansiyeline sahip olduğu ileri sürülmüştür. Ancak allura red'in genotoksik etkilere sahip olmadığı bildirilmiştir (Khayyat vd., 2018). Benzer şekilde, bir diğer çalışmada sunset yellow'un insan lenfositlerinde genotoksik etkisi olduğu rapor edilmiştir (Haveric vd., 2018). Sunset yellow'un genotoksisitesi canlı mikronükleus testinde incelenmiş ve en yüksek

dozda kullanıldığında, mikronükleasyonlu polikromato-filik eritrositlerin sıklığında anlamlı bir artışın olduğu tespit edilmiştir. Bu etkinin dozla birlikte arttığı gözlenmiştir (Akhal'tseva vd., 2022).

Fareler üzerinde yapılan bir çalışma ise, allura red'e önerilen maksimum dozda maruz kalmanın genotoksik etkilere neden olmadığını göstermiştir (Honma, 2015). Ayrıca, yapılan çalışmalar doğal bir renklendirici olan kurkuminin genotoksik olmadığını göstermiştir (Haveric vd., 2018; Phipps vd., 2023).

Titanyum dioksit TiO<sub>2</sub> (E 171) gıda, kozmetik ve ilaçlarda yaygın olarak kullanılan bir renklendiricidir (Rolo vd., 2022). Ancak, son çalışmalar, bu maddenin ağız yoluyla alınmasının potansiyel sağlık sorunlarına yol açabileceğini göstermektedir (Bellani vd., 2020). Hayvan çalışmaları, TiO<sub>2</sub> maruziyetinin belirli bakteri türlerindeki popülasyon değişikliklerine yol açarak, bağırsak işlev bozukluklarına neden olabileceğini göstermiştir (Rinninella vd., 2021). Ayrıca, TiO<sub>2</sub>'nin kolon tümörlerinin büyümesini teşvik edebileceği ve hücrel DNA'da oksidatif hasara neden olabileceği bulunmuştur (Bischoff vd., 2022; Maddah vd., 2023). TiO<sub>2</sub>'nin DNA üzerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmalar, kolorektal kanserle ilişkili gen ifadesinde değişikliklere işaret etmektedir (Rencüzoğulları vd., 2001; Dorier vd., 2017; Proquin vd., 2017). Bu nedenle, TiO<sub>2</sub>'nin oksidatif stres ve DNA hasarı oluşturma potansiyeli, gıda ürünlerindeki kullanımıyla ilgili endişeleri artırmıştır (Proquin vd., 2017; Fadoju vd., 2019; Chen vd., 2022).

İnsan Caco-2 ve HCT116 hücre hatları kullanılarak yapılan bir in vitro çalışma, TiO<sub>2</sub>'ye maruziyetin ROS oluşumu ve DNA hasarı üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Çalışma, TiO<sub>2</sub>'nin ROS oluşumunu uyardığını ve hücrel bir sistemde genotoksik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (Proquin vd., 2017). Bununla birlikte, 2016 yılında yayınlanan bir raporla TiO<sub>2</sub>'nin genotoksik etkileri değerlendirilmiş ve herhangi bir endişe bulunmadığı sonucuna varılmıştır. Bu panel değerlendirmesi, kapsamlı bir çalışmanın



olmaması nedeniyle sonuçsuz kalmıştır. Sonuç olarak, TiO<sub>2</sub> için herhangi bir ADI belirlenmemiştir (Anonymous, 2016b). TiO<sub>2</sub> ile ilgili olarak EFSA'nın son güvenlik değerlendirmesinde, TiO<sub>2</sub> partiküllerinin gastrointestinal sistemde düşük bir emilim oranına sahip olmalarına rağmen vücutta birikebileceği sonucuna varmıştır. Üreme ve gelişimsel toksisite üzerinde herhangi bir etki gözlenmemiş olsa da TiO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin kullanımı ile ilişkili potansiyel immünotoksisite, inflamasyon ve potansiyel nörotoksisite gibi olumsuz etkiler rapor edilmiştir. Genotoksisite ile ilgili endişeler ve belirsizlikler göz önüne alındığında, uzman paneli TiO<sub>2</sub>'nin güvenli bir GKM olarak kabul edilemeyeceği sonucuna varmıştır. Türkiye'de 13.10.2023 tarihinde yayınlanan 32338 sayılı resmî gazeteyle TiO<sub>2</sub> kullanımı yasaklanmış ve 1 Nisan 2024 tarihinden itibaren bu katkı maddesiyle gıda üretilmeyeceği belirtilmiştir (Anonymous, 2023).

TiO<sub>2</sub>'nin mutajenik ve kanserojenik potansiyelini değerlendiren yeni bir inceleme, mevcut kanıtların TiO<sub>2</sub>'nin doğrudan bir DNA hasarı mekanizmasına neden olmadığını gösterdiğini ileri sürmüştür (Kirkland vd., 2022). Ancak *Allium cepa* üzerinde yapılan bir çalışma, doza bağlı genotoksisite bildirmiştir (Bellani vd., 2020). Ayrıca birçok çalışmada, TiO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin insanlar üzerinde genotoksik etkileri olduğu rapor edilmiştir (Shi vd., 2022). Son zamanlarda yapılan bir sistemik inceleme, TiO<sub>2</sub>'nin potansiyel olumsuz etkilerini içeren bir dizi etkiyi bildirmiştir. Bu etkiler arasında kolorektal kanser, karaciğer hasarı, üreme toksisitesi, kardiyak ve renal hasar, hematolojik etkiler yer almaktadır (Rolo vd., 2022).

Karmozin (E 122) yaygın olarak kullanılan bir yapay renklendiricidir. Ancak, bu renklendiricinin genotoksik etkisi hala tartışmalıdır. *Allium cepa* bitkisi kullanılarak yapılan bir çalışmada, bu renklendiricinin genotoksik etkileri farklı dozlar ve 24-48 saat maruziyet süreleriyle değerlendirilmiştir. Bulgular, karmozinin mitotik indeksi önemli ölçüde azalttığını ve özellikle yüksek konsantrasyonlarda ve uzun süreli maruziyetlerde çeşitli kromozomal anormalliklere

yol açtığını göstermektedir. Bir çalışmada, karmozinin genotoksik aktivite taşıdığını ve potansiyel risklerin en aza indirilmesi için sıkı denetim altında ve sınırlı miktarlarda kullanılması gerektiği önerilmiştir (Khan vd., 2020).

Azorubin/karmozin (E 122) adlı renklendirici madde için gerçekleştirilen bir yeniden değerlendirme raporu, bu gıda renklendiricisinin güvenliğini değerlendirmiştir. Önceden belirlenen 0-4 mg/kg vücut ağırlığı/gün ADI değerinin hala geçerli olduğu sonucuna varılmıştır. Panel ayrıca azorubin/karmozin'in genotoksisitesi açısından herhangi bir endişeye neden olmadığı sonucuna ulaşmıştır. Bununla birlikte, rapor edilen maksimum kullanım düzeylerinde, azorubin/karmozin'in tahmini alımının ADI'nın altında olduğu belirlenmiştir. Ancak, özellikle 1 ila 10 yaş arasındaki çocuklarda, özellikle 95. percentilde, üst düzey maruziyetin ADI'dan biraz daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Anonymous, 2009b).

Brilliant blue FCF (parlak mavi) (E 133), çeşitli gıda ürünlerinde yaygın olarak kullanılan bir mavi renkli gıda boyasıdır. Bir çalışmada, sunset yellow ve brilliant blue'un *Allium cepa* kök meristem hücrelerinde genotoksik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Koç vd., 2018). Panel, brilliant blue FCF için ADI değerini günlük vücut ağırlığı başına 10 mg'den günlük vücut ağırlığı başına 6 mg'ye yenileme kararı almıştır. Brilliant blue FCF'nin bildirilen maksimum kullanım miktarları, günde 6 mg/kg yeni ADI'ya dayanan rafine alım tahminlerinden daha düşüktür. Panel, yaptığı değerlendirmede, ikinci seviyedeki alım tahminlerini, yetişkinler için biraz daha yüksek olmakla birlikte hem yetişkinler hem de çocuklar için genel olarak ADI'nın altında, ancak çocuklar için ADI'nın üst sınırının (95. percentil) üzerinde bulmuştur (Anonymous, 2010).

**GIDA KATKI MADDELERİNİN SAĞLIK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİ DEĞERLENDİRMENİN KARMAŞIKLIĞI**  
GKM ile ilgili çalışmalarda genellikle hayvan modelleri kullanılmakta ve sağlıklı hayvanlara belirli bir süre ve kontrollü bir diyetle sınırlı sayıda GKM verilmektedir. Bununla birlikte, insanların

günlük yaşamlarında farklı GKM'ye çok daha fazla maruz kalabilmeleri söz konusudur (Miller, 1985; de Moura e Dias vd., 2021). Dolayısıyla, farklı GKM karışımlarının birleşik etkilerini inceleyen çalışmaların değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu tür çalışmalar, GKM'lerin karma etkilerini anlamamıza ve daha güvenli bir şekilde kullanmamıza yardımcı olabilir. Bununla birlikte, GKM'lerin güvenlik değerlendirmelerinde, her bir madde için ayrı ayrı değerlendirme yapılmakta ve maruz kalınan miktarlar göz önünde bulundurulmaktadır.

Yapılan bir çalışmada, benzoik asit, potasyum sorbat, klorofil, tartrazin gibi GKM'ler uzun bir süre boyunca oral yoldan sıçanlara belirlenen günlük kabul edilebilir seviyenin 10 katına eşdeğer dozlarda verilmiştir. Kan, karaciğer ve böbrek örnekleri toplanarak hematolojik, biyokimyasal, histopatolojik ve genotoksik değişiklikler değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçları, klorofil ve tartrazin ile tedavi edilen sıçanlarda lökosit sayısında ve lenfosit yüzdesinde önemli azalmalar olduğunu ifade etmiştir. Tüm tedavi gruplarında ise 60 gün sonra trombosit sayısında önemli artışlar gözlenmiştir. Ayrıca, bütillenmiş hidrosianisol dışındaki tüm tedavi gruplarında transaminaz enzimleri (ALT, AST), alkalın fosfataz (ALP) ve kreatinin serum seviyelerinde anlamlı bir yükselme olduğu tespit edilmiştir. Ancak, 60 günlük sürenin sonunda idrar örneklerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Çalışmanın sonuçları ayrıca DNA hasarının varlığını ortaya koymuş ve karaciğer ve böbreklerin histopatolojik değerlendirmeleri yıkıcı ve dejeneratif değişikliklerin var olduğunu belirtmiştir. Bu bulgular, test edilen GKM'lerin genotoksikite ve hepato-nefropatiye neden olma potansiyeline sahip olabileceğini ve insan sağlığı için önemli riskler oluşturabileceğini göstermektedir (Abo-EL-Sooud vd., 2018). Bir başka çalışmada, sıçanlarda uzun süreli düşük dozlarda birçok GKM'ye maruz kalmanın genotoksik ve sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla, sıçanlara 18 ay boyunca metomil, triadimefon, dimetoat, glifosat, karbaril, metil parathion, aspartam, sodyum benzoat, EDTA, etilparaben, bütılparaben, bisfenol a ve akasya sakızı karışımı verilmiştir. Genotoksik etkiler sadece dişilerde gözlenmişken,

birçok farklı dokuda dejeneratif değişiklikler rapor edilmiştir (Tsatsakis vd., 2019).

EFSA raporları, değerlendirilen GKM'lerin önerilen dozlarda tüketildiğinde genotoksik etki göstermediğini belirtmektedir. Bununla birlikte, bazı GKM'lere veya toksik bileşenlerine maruz kalan nüfusun ADI değerini aştığına dair raporlar bulunmaktadır. Özellikle, gıda boyaları ile ilgili olarak, çocuklar arasında önerilen düzeylerin üzerinde tüketim gözlemlenmiştir (Kraemer vd., 2022). Ek olarak, GKM'ler için ADI seviyeleri belirlenmiş olmasına rağmen, gıda ürünlerinde bulunan katkı maddelerinin spesifik miktarları gıda etiketlerinde belirtilmemekte, bu da bireylerin bu katkı maddelerine gerçek maruziyetini değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır. Ayrıca bazı GKM'lerin birlikte tüketimi genotoksik etkilerini değiştirebilmektedir.

GKM'lerin sağlık üzerindeki olumsuz etkileri sadece genotoksik özelliklerle sınırlı değildir. Bu bileşiklerin güvenli kullanımını sağlamak için, toksikolojik analizleri genellikle hedef organlarda doğrudan toksisiteye ek olarak genotoksik etkileri de içerecek şekilde karaciğer, böbrek gibi organlara odaklanmaktadır. Ancak, bağışıklık sistemi hücreleri üzerindeki potansiyel etkilerine yönelik çalışmalar çok daha az yapılmıştır. Artan kanıtlar, GKM'lerin metabolik düzensizliklere önemli katkıda bulunabileceğini göstermektedir. GKM'lerin obezite ve metabolik sendrom riskini artırma potansiyeli göz önüne alındığında, GKM'lerin kullanımının kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi ve hatta yeniden değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Neto vd., 2017).

## SONUÇ

Elde edilen verilere göre bazı GKM'lerin genotoksik etkileri konusundaki tartışmalar devam etmektedir. Önerilen dozlarda kullanıldıklarında genotoksik etkilere neden olmayacakları kabul edilse de bazı GKM'lerin tüketimi önerilen günlük alım miktarını aşabileceği ve vücutta birikime neden olabileceği gösterilmiştir. Bu birikimin DNA üzerinde toksik etkilere yol açabileceği ve dolayısıyla sağlık açısından olumsuz sonuçlara neden olabileceği belirtilmiştir. GKM'lerin olumsuz etkilerini

belirlemek için hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmaların çeşitli eksiklikleri vardır. Çalışmalarda farklı yöntem ve dozların kullanılması, çalışmaların bir arada değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır. İnsanlarda GKM'lerin alım düzeyinin belirlenmesi ve aşırı tüketiminin sağlık üzerindeki etkilerinin belirlenmesi de zorluklar içermektedir. Bu nedenle, daha fazla araştırma yapılması ve kesin mekanizmaların anlaşılması gerekmektedir. Bununla birlikte, özellikle hastalar, yaşlılar, çocuklar, alerjisi olanlar ve hamileler gibi özel durumu olan bireyler için GKM'lerin potansiyel sağlık etkilerinin değerlendirilmesinde daha büyük bir hassasiyet gösterilmelidir.

GKM'lerin kullanımı temel ilkelere dayandırılmalıdır. Üreticiler, GKM'lerin önerilen miktarlarda kullanımı konusunda bilinçli olmalı ve tüketicileri bu konuda bilgilendirmelidir. Etiket talimatlarına uyulması ve işlenmiş gıdaların diyetle tüketimi konusunda dikkatli olunması önemlidir. Bu şekilde, GKM'lerin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri azaltılabilir.

Sonuç olarak, GKM'lerin genotoksik etkileri ve sağlık üzerindeki etkileri konusunda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. GKM'lerin tüketim miktarının kontrol altında tutulması ve bilinçli tüketimleri önemlidir. GKM'lerin kullanımıyla ilgili temel ilkelere uyulması, insan sağlığını korumak açısından önemlidir.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

#### YAZAR KATKILARI

Ece ÇELİK ATALAY: Kavramsallaştırma, metodoloji, kaynaklar, veri küratörlüğü, yazı-orijinal taslak hazırlama, yazı-inceleme ve düzenleme, görselleştirme. Advıye Gülçin SAĞDIÇOĞLU CELEP: Yönetim, denetim, kavramsallaştırma, metodoloji, yazım-inceleme ve düzenleme. Tüm yazarlar makalenin yayınlanan versiyonunu okumuş ve kabul etmiştir.

#### TEŞEKKÜR

Ece ÇELİK ATALAY'a 100/2000 özel burs programı kapsamında burs sağlayan

Yükseköğretim Kurulu'na (YÖK) teşekkür ederiz. Ece ÇELİK ATALAY BİDEB/2211-A doktora burs programı kapsamında Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından sağlanan mali desteğe teşekkür eder. Ayrıca Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederiz.

#### KAYNAKLAR

Abo-EL-Sooud, K., Hashem, M. M., Badr, Y. A., Eleiwa, M. M., Gab-Allaha, A. Q., Abd-Elhakim, Y. M., Bahy-EL-Dien, A. (2018). Assessment of hepato-renal damage and genotoxicity induced by long-term exposure to five permitted food additives in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 26341-26350, doi:10.1007/s11356-018-2665-z.

Abu-Elfotuh, K., Abdel-Sattar, S. A., Abbas, A. N., Mahran, Y. F., Alshanwani, A. R., Hamdan, A. M. E., Atwa, A. M., . . . El-Din, M. N. (2022). The protective effect of thymoquinone or/and thymol against monosodium glutamate-induced attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD)-like behavior in rats: Modulation of Nrf2/HO-1, TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3/caspase-1 and Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling pathways in rat model. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 155: 113799, doi:10.1016/j.biopha.2022.113799.

Ahmad, S. Y., Friel, J., Mackay, D. (2020). The Effects of Non-Nutritive Artificial Sweeteners, Aspartame and Sucralose, on the Gut Microbiome in Healthy Adults: Secondary Outcomes of a Randomized Double-Blinded Crossover Clinical Trial. *Nutrients*, 12(11): 3408, doi:10.3390/nu12113408.

Akhal'tseva, L., Yurchenko, V., Yurtseva, N., Konyashkina, M. (2022). Evaluation of the genotoxicity of the food dye tartrazine in a micronucleus test in vivo. *Hygiene and Sanitation*. 2022; 101 (7): 798–801. *Hygiene and Sanitation*, 10: 0016-9900, doi:10.47470/0016-9900-2022-101-7-798-801.

Algarni, A. A. (2021). In vitro effects of Sunset Yellow on Chromosomal Damage and Sister Chromatid Exchanges in Human Peripheral Lymphocytes. *Annual Research & Review in Biology*,

- 36(12): 88-94, doi:10.9734/arrb/2021/v36i1230466.
- Ali, M. Y., Hassan, G. M., Hassan, A. M. S., Mohamed, Z. A., Ramadan, M. F. (2020). In vivo genotoxicity assessment of sunset yellow and sodium benzoate in female rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 43(5): 504-513, doi:10.1080/01480545.2018.1510416.
- Anonymous (2023). Türk gıda kodeksi. Gıda katkı maddeleri yönetmeliği (2023). Tarım ve Orman Bakanlığı. 13 Ekim 2023 tarih ve 32338 sayılı. *Resmî Gazete, Ankara*.
- Anonymous. (2009a). Scientific Opinion on the re-evaluation Tartrazine (E 102). *EFSA Journal*, 7(11): 1331, doi:10.2903/j.efsa.2009.1331.
- Anonymous. (2009b). Scientific Opinion on the re-evaluation of Azorubine/Carmoisine (E 122) as a food additive. *EFSA Journal*, 7(11): 1332, doi:10.2903/j.efsa.2015.4072.
- Anonymous. (2010). Scientific Opinion on the re-evaluation of Brilliant Blue FCF (E 133) as a food additive. *EFSA Journal*, 8(11): 1853, doi:10.2903/j.efsa.2010.1853.
- Anonymous. (2013). Scientific Opinion on the re-evaluation of aspartame (E 951) as a food additive. *EFSA Journal*, 11(12): 3496, doi:10.2903/j.efsa.2013.3496.
- Anonymous. (2014). Scientific Opinion on the re-evaluation of propionic acid (E 280), sodium propionate (E 281), calcium propionate (E 282) and potassium propionate (E 283) as food additives. *EFSA Journal*, 12(7): 3779, doi:10.2903/j.efsa.2014.3779.
- Anonymous. (2016a). Scientific Opinion on the re-evaluation of benzoic acid (E 210), sodium benzoate (E 211), potassium benzoate (E 212) and calcium benzoate (E 213) as food additives. *EFSA Journal*, 14(3): 4433, doi:10.2903/j.efsa.2016.4433.
- Anonymous. (2016b). Re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive. *EFSA Journal*, 14(9): e04545, doi:10.2903/j.efsa.2016.4545.
- Anonymous. (2017). Re-evaluation of glutamic acid (E 620), sodium glutamate (E 621), potassium glutamate (E 622), calcium glutamate (E 623), ammonium glutamate (E 624) and magnesium glutamate (E 625) as food additives. *EFSA Journal*, 15(7): e04910, doi:10.2903/j.efsa.2017.4910.
- Anonymous. (2020). Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities: ACOG Practice Bulletin, Number 226. *Obstetrics and Gynecology*, 136(4): e48-e69, doi:10.1097/aog.0000000000004084.
- Avuloglu-Yilmaz, E., Yuzbasioglu, D., Unal, F. (2020). In vitro genotoxicity assessment of monopotassium glutamate and magnesium diglutamate. *Toxicology in Vitro*, 65: 104780, doi:10.1016/j.tiv.2020.104780.
- Bajpayee, M., Kumar, A., Dhawan, A. (2019). The comet assay: assessment of in vitro and in vivo DNA damage. *Genotoxicity Assessment: Methods and Protocols*: 237-257, doi:10.1007/978-1-4939-9646-9\_12.
- Banerjee, A., Mukherjee, S., Maji, B. K. (2021). Worldwide flavor enhancer monosodium glutamate combined with high lipid diet provokes metabolic alterations and systemic anomalies: An overview. *Toxicology Reports*, 8: 938-961, doi:10.1016/j.toxrep.2021.04.009.
- Bellani, L., Muccifora, S., Barbieri, F., Tassi, E., Ruffini Castiglione, M., Giorgetti, L. (2020). Genotoxicity of the food additive E171, titanium dioxide, in the plants *Lens culinaris* L. and *Allium cepa* L. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 849: 503142, doi:10.1016/j.mrgentox.2020.503142.
- Bischoff, N. S., Proquin, H., Jetten, M. J., Schrooders, Y., Jonkhout, M. C., Briedé, J. J., van Breda, S. G., Jenne, D. G. J., Medina-Reyes, E. I., Delgado-Buenrostro, N. L., Chirino, Y. I., van Loveren, H., Delgado-Buenrostro, N. L. (2022). The effects of the food additive Titanium dioxide (E171) on tumor formation and gene expression in the colon of a transgenic mouse model for colorectal cancer. *Nanomaterials*, 12(8): 1256, doi:10.3390/nano12081256.
- Borghoff, S. J., Cohen, S. S., Jiang, X., Lea, I. A., Klaren, W. D., Chappell, G. A., Britt, J. K., . . . Wikoff, D. S. (2022). Updated systematic

- assessment of human, animal and mechanistic evidence demonstrates lack of human carcinogenicity with consumption of aspartame. *Food and Chemical Toxicology*, 113549, doi:10.1016/j.fct.2022.113549.
- Bridge-Comer, P. E., Vickers, M. H., Morton-Jones, J., Spada, A., Rong, J., Reynolds, C. M. (2022). Maternal intake of fructose or artificial sweetener during pregnancy and lactation has persistent effects on metabolic and reproductive health of dams post-weaning. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 13(5): 642-649, doi:10.1017/s2040174422000022.
- Canedo, A., de Jesus, L. W. O., Bailão, E. F. L. C., Rocha, T. L. (2021). Micronucleus test and nuclear abnormality assay in zebrafish (*Danio rerio*): Past, present, and future trends. *Environmental Pollution*, 290: 118019, doi:10.1016/j.envpol.2021.118019.
- Chakraborty, S. P. (2019). Patho-physiological and toxicological aspects of monosodium glutamate. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(6): 389-396, doi:10.1080/15376516.2018.1528649.
- Chappell, G. A., Heintz, M. M., Borghoff, S. J., Doepker, C. L., Wikoff, D. S. (2021). Lack of potential carcinogenicity for steviol glycosides - Systematic evaluation and integration of mechanistic data into the totality of evidence. *Food and Chemical Toxicology*, 150: 112045, doi:10.1016/j.fct.2021.112045.
- Chatterjee, T., Ghosh, S. K., Paik, S., Chakravarty, A., Basak, A. K. (2021). Benzoic acid treated *Drosophila melanogaster*: the genetic disruption of larval brain stem cells and non-neural cells during metamorphosis. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 13: 215-223, doi:10.1007/s13530-021-00082-w.
- Chazelas, E., Pierre, F., Druesne-Pecollo, N., Esseddik, Y., Szabo de Edelenyi, F., Agaesse, C., De Sa, A., . . . Touvier, M. (2022). Nitrites and nitrates from food additives and natural sources and cancer risk: results from the NutriNet-Santé cohort. *International Journal of Epidemiology*, 51(4): 1106-1119, doi:10.1093/ije/dyac046.
- Chen, Z., Shi, J., Zhang, Y., Han, S., Zhang, J., Jia, G. (2022). DNA Oxidative Damage as a Sensitive Genetic Endpoint to Detect the Genotoxicity Induced by Titanium Dioxide Nanoparticles. *Nanomaterials*, 12(15): 2616, doi:10.3390/nano12152616.
- Cordelli, E., Bignami, M., Pacchierotti, F. (2021). Comet assay: a versatile but complex tool in genotoxicity testing. *Toxicology Research (Camb)*, 10(1): 68-78, doi:10.1093/toxres/taaa093.
- Czarnecka, K., Pilarz, A., Rogut, A., Maj, P., Szymańska, J., Olejnik, Ł., Szymański, P. (2021). Aspartame-True or False? Narrative Review of Safety Analysis of General Use in Products. *Nutrients*, 13(6), doi:10.3390/nu13061957.
- Çadirci, K., Özdemir Tozlu, Ö., Türkez, H., Mardinoğlu, A. (2020). The in vitro cytotoxic, genotoxic, and oxidative damage potentials of the oral artificial sweetener aspartame on cultured human blood cells. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 50(2): 448-454, doi:10.3906/sag-2001-113.
- de Moura e Dias, M., Dos Reis, S. A., da Conceição, L. L., Sediya, C. M. N. d. O., Pereira, S. S., de Oliveira, L. L., Gouveia Peluzio, M. d. C., . . . Milagro, F. I. (2021). Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 13(32): 1-14, doi:10.1186/s13098-021-00647-2.
- Debras, C., Chazelas, E., Srour, B., Druesne-Pecollo, N., Esseddik, Y., Szabo de Edelenyi, F., Agaesse, C., . . . Touvier, M. (2022). Artificial sweeteners and cancer risk: Results from the NutriNet-Santé population-based cohort study. *PLoS Medicine*, 19(3): e1003950, doi:10.1371/journal.pmed.1003950.
- Dorier, M., Béal, D., Marie-Desvergne, C., Dubosson, M., Barreau, F., Houdeau, E., Herlin-Boime, N., . . . Carriere, M. (2017). Continuous in vitro exposure of intestinal epithelial cells to E171 food additive causes oxidative stress, inducing oxidation of DNA bases but no endoplasmic reticulum stress. *Nanotoxicology*, 11(6): 751-761, doi:10.1080/17435390.2017.1349203.
- Dos Santos, J. R., de Sousa Soares, L., Soares, B. M., de Gomes Farias, M., de Oliveira, V. A., de Sousa, N. A. B., Negreiros, H. A., . . . de Castro,

- E. S. J. M. (2022). Cytotoxic and mutagenic effects of the food additive tartrazine on eukaryotic cells. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 23(1): 95, doi:10.1186/s40360-022-00638-7.
- Du, X., Gao, S., Hong, L., Zheng, X., Zhou, Q., Wu, J. (2019). Genotoxicity evaluation of titanium dioxide nanoparticles using the mouse lymphoma assay and the Ames test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 838: 22-27, doi:10.1016/j.mrgentox.2018.11.015.
- Dusinska, M., Mariussen, E., Rundén-Pran, E., Hudecova, A. M., Elje, E., Kazimirova, A., El Yamani, N., Dommershausen, N., Tharmann, J., Fieblinger, D., Herzberg, F., Luch, A., Fieblinger, D. (2019). In vitro approaches for assessing the genotoxicity of nanomaterials. *Nanotoxicity: Methods and Protocols*, 1894: 83-122, doi:10.1007/978-1-4939-8916-4\_6.
- El-Alfy, N. Z., Alqosaibi, A. I., Mahmoud, M. F., Emam, A. A. (2020). Role of propolis against monosodium glutamate genotoxicity by chromosomal aberration, micronucleus test and comet assay in males. *Der Pharmacia Lettre*, 12: 13-22,
- El-Desoky, G. E., Wabaidur, S. M., AlOthman, Z. A., & Habila, M. A. (2020). Regulatory Role of Nano-Curcumin against Tartrazine-Induced Oxidative Stress, Apoptosis-Related Genes Expression, and Genotoxicity in Rats. *Molecules*, 25(24), doi:10.3390/molecules25245801.
- El-Hefny, I. M., Al Senosy, N. K., Hozayen, W. G., Ahmed, A. E., Diab, A. Basal, W. T. (2020). Evaluation of the Cytotoxicity and Apoptotic Induction in Human Liver Cell Lines Exposed to Three Food Additives. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 11(3): 193-201, doi:10.2174/2212798411666200217124630.
- Fadoju, O., Ogunsuyi, O., Akanni, O., Alabi, O., Alimba, C., Adaramoye, O., Cambier, S., Eswara, S., Gutleb, A. C., Bakare, A. (2019). Evaluation of cytogenotoxicity and oxidative stress parameters in male Swiss mice co-exposed to titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 70: 103204, doi:10.1016/j.etap.2019.103204.
- Ferreira, P. M. P., Sousa, I. J. O., Machado, K. N., da Silva Neto, L. A., de Freitas, M. M., Dos Santos, I. L., do Nascimento Rodrigues, D. C., de Sousa, R. W. R., dos Reis, A.C., Do Nascimento, M. L.L.B., de Menezes, A-A. P. M., do Nascimento, A.M., de Oliveira Ferreira, J.R., Peron, A.P., de Castro, E. S. J. M. (2022). Antimitotic and toxicogenetic action of Stevia urticifolia aerial parts on proliferating vegetal and mammalian cells: in vitro and in vivo traditional and replacement methods. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 85(18): 750-766, doi:10.1080/15287394.2022.2081640.
- Floriano, J. M., da Rosa, E., do Amaral, Q. D. F., Zuravski, L., Chaves, P. E. E., Machado, M. M., de Oliveira, L. F. S. (2018). Is tartrazine really safe? In silico and ex vivo toxicological studies in human leukocytes: a question of dose. *Toxicology Research (Camb)*, 7(6): 1128-1134, doi:10.1039/c8tx00034d.
- Franzke, B., Schwingshackl, L., Wagner, K.-H. (2020). Chromosomal damage measured by the cytokinesis block micronucleus cytome assay in diabetes and obesity-A systematic review and meta-analysis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 786: 108343, doi:10.1016/j.mrrev.2020.108343.
- García-García, R. Searle, S. S. (2016). Preservatives: Food Use. In B. Caballero, P. M. Finglas, F. Toldrá (eds.), *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press, Oxford, pp. 505-509.
- Gičević, A., Hindija, L., Karačić, A. (2020). *Toxicity of azo dyes in pharmaceutical industry*. Paper presented at the CMBEBIH 2019: Proceedings of the International Conference on Medical and Biological Engineering, 16–18 May 2019, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina, 581-587 p.
- Güzel Bayülken, D., Ayaz Tüylü, B., Sinan, H., Sivas, H. (2019). Investigation of genotoxic effects of paraben in cultured human lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 42(4): 349-356, doi:10.1080/01480545.2017.1414834.
- Haighton, L., Roberts, A., Walters, B., Lynch, B. (2019). Systematic review and evaluation of aspartame carcinogenicity bioassays using quality

- criteria. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 103: 332-344, doi:10.1016/j.yrtph.2018.01.009.
- Hamza, R. Z., Al-Eisa, R. A., Mehana, A. E., El-Shenawy, N. S. (2019). Effect of l-carnitine on aspartame-induced oxidative stress, histopathological changes, and genotoxicity in liver of male rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 30(2): 219-232, doi:10.1515/jbcpp-2018-0064.
- Hargan, A. A., Daghestani, M. H., Harrath, A. H. (2021). Alterations in APC, BECN1, and TP53 gene expression levels in colon cancer cells caused by monosodium glutamate. *Brazilian Journal of Biology*, 83: e246970, doi:10.1590/1519-6984.246970.
- Haverić, A., Haverić, S., Hadžić, M., Lojo-Kadrić, N., Ibrulj, S. (2018). Genotoxicity and cytotoxicity analysis of curcumin and sunset yellow in human lymphocyte culture. *Cellular and Molecular Biology*, 64(3): 87-91, doi:10.14715/cmb/2018.64.3.14.
- Hobbs, C. A., Swartz, C., Maronpot, R., Davis, J., Recio, L., Hayashi, S.-m. (2012). Evaluation of the genotoxicity of the food additive, gum ghatti. *Food and chemical toxicology*, 50(3-4): 854-860, doi:10.1016/j.fct.2011.11.021.
- Honma, M. (2015). Evaluation of the in vivo genotoxicity of Allura Red AC (Food Red No. 40). *Food and Chemical Toxicology*, 84: 270-275, doi:10.1016/j.fct.2015.09.007.
- Hozayen, W., AlSenosy, N., Basal, W., Ahmed, A., Diab, A. (2020). Evaluation of genotoxicity of three food preservatives in drosophila melanogaster using smart and comet assays. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 10(1): 38-41, doi:10.15414/jmbfs.2020.10.1.38-41.
- Jain, S. (2023). Application of Inorganic Anion Sensitive Indicator Electrodes for the Analysis of Food Additives and Preservatives in Food Products. *Research Review International Journal of Multidisciplinary*, 8(5): 22-35, doi:10.31305/rrijm.2023.v08.n05.004.
- Jarmakiewicz-Czaja, S., Piątek, D., Filip, R. (2022). The impact of selected food additives on the gastrointestinal tract in the example of nonspecific inflammatory bowel diseases. *Archives of Medical Science*, 18(5): 1286-1296, doi:10.5114/aoms/125001.
- Javanmardi, F., Rahmani, J., Ghiasi, F., Hashemi Gahruie, H., Mousavi Khaneghah, A. (2019). The Association between the Preservative Agents in Foods and the Risk of Breast Cancer. *Nutrition and Cancer*, 71(8): 1229-1240, doi:10.1080/01635581.2019.1608266.
- Jiang, N., Naz, S., Ma, Y., Ullah, Q., Khan, M. Z., Wang, J., Lu, X., Luosang, D.-Z., Tabassum, S., Chatha, A.M.M., Chatha, A. M. M. (2023). An Overview of Comet Assay Application for Detecting DNA Damage in Aquatic Animals. *Agriculture*, 13(3): 623, doi:10.3390/agriculture13030623.
- Kaya, S. I., Cetinkaya, A., Ozkan, S. A. (2021). Latest advances on the nanomaterials-based electrochemical analysis of azo toxic dyes Sunset Yellow and Tartrazine in food samples. *Food and Chemical Toxicology*, 156: 112524, doi:10.1016/j.fct.2021.112524.
- Kayode, O. T., Rotimi, D. E., Kayode, A. A. A., Olaolu, T. D., Adeyemi, O. S. (2020). Monosodium Glutamate (MSG)-Induced Male Reproductive Dysfunction: A Mini Review. *Toxics*, 8(1), doi:10.3390/toxics8010007.
- Khan, I. S., Ali, M. N., Hamid, R. Ganie, S. A. (2020). Genotoxic effect of two commonly used food dyes metanil yellow and carmoisine using *Allium cepa* L. as indicator. *Toxicology Reports*, 7: 370-375, doi:10.1016/j.toxrep.2020.02.009.
- Khayyat, L. I., Essawy, A. E., Sorour, J. M., Soffar, A. (2018). Sunset Yellow and Allura Red modulate Bcl2 and COX2 expression levels and confer oxidative stress-mediated renal and hepatic toxicity in male rats. *PeerJ*, 6: e5689, doi:10.7717/peerj.5689.
- Khezerlou, A., Akhlaghi, A. P., Alizadeh, A. M., Dehghan, P., Maleki, P. (2022). Alarming impact of the excessive use of tert-butylhydroquinone in food products: A narrative review. *Toxicology Reports*, 9: 1066-1075, doi:10.1016/j.toxrep.2022.04.027.

- Kirkland, D., Aardema, M. J., Battersby, R. V., Beever, C., Burnett, K., Burzlaff, A., Czich, A., Donner, E. M., Fowler, P., Johnston, H. J., Krug, H.F., Pfuhrer, S., Stankowski, L. F., Jr. (2022). A weight of evidence review of the genotoxicity of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 136: 105263, doi:10.1016/j.yrtph.2022.105263.
- Kizhedath, A., Wilkinson, S., Glassey, J. (2019). Assessment of hepatotoxicity and dermal toxicity of butyl paraben and methyl paraben using HepG2 and HDFn in vitro models. *Toxicology in Vitro*, 55: 108-115, doi:10.1016/j.tiv.2018.12.007.
- Ko, J., Jang, S., Kwon, W., Kim, S. Y., Jang, S., Kim, E., Ji, Y. R., Park, S., Kim, M-I., Choi, S-K., Cho, D-H., Lee, H-S., Lim, Su-Geun, Ryoo, Z. Y. (2022). Protective Effect of GIP against Monosodium Glutamate-Induced Ferroptosis in Mouse Hippocampal HT-22 Cells through the MAPK Signaling Pathway. *Antioxidants (Basel)*, 11(2): 189, doi:10.3390/antiox11020189.
- Koç, K., Pandir, D. (2018). All aspect of toxic effect of brilliant blue and sunset yellow in Allium cepa roots. *Cytotechnology*, 70(1): 449-463, doi:10.1007/s10616-017-0161-9.
- Kramer, N. I., Hoffmans, Y., Wu, S., Thiel, A., Thatcher, N., Allen, T. E., Levorato, S., Traussnig, H., Schulte, S., Boobis, A., Rietjens, I. M. C. M. (2019). Characterizing the coverage of critical effects relevant in the safety evaluation of food additives by AOPs. *Archives of Toxicology*, 93: 2115-2125, doi:10.1007/s00204-019-02501-x.
- Kraemer, M., Fernandes, A. C., Chaddad, M. C. C., Uggioni, P. L., Rodrigues, V. M., Bernardo, G. L., Proença, R. (2022). Food additives in childhood: a review on consumption and health consequences. *Revista de Saúde Pública*, 56: 32, doi:10.11606/s1518-8787.2022056004060.
- Kumar, N., Singh, A., Sharma, D. K. Kishore, K. (2019). Toxicity of Food Additives. In *Food Safety and Human Health*. Academic Press, pp. 67-98.
- Kurt, D., Yalçın, E., Çavuşoğlu, K. (2023). GC-MS and HPLC supported phytochemical analysis of watercress and the protective role against paraben toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(3): 6033-6046, doi:10.1007/s11356-022-22380-7.
- Laudisi, F., Stolfi, C., Monteleone, G. (2019). Impact of food additives on gut homeostasis. *Nutrients*, 11(10): 2334, doi:10.3390/nu11102334.
- Le Thanh-Blicharz, J., Lewandowicz, J. (2023). The Role of Food Additives. In *In Chemical and Functional Properties of Food Components*. 4 ed., CRC Press, pp. 401-418.
- Lea, I. A., Chappell, G. A., Wikoff, D. S. (2021). Overall lack of genotoxic activity among five common low- and no-calorie sweeteners: A contemporary review of the collective evidence. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 868-869: 503389, doi:10.1016/j.mrgentox.2021.503389.
- Maddah, A., Danesh, H., Ghasemi, P., Ziamajidi, N., Salehzadeh, M., Abbasalipourkabir, R. (2023). The Effect of Titanium Dioxide (TiO<sub>2</sub>) Nanoparticles on Oxidative Stress Status in the HCT116 Human Colon Cancer Cell Line. *BioNanoScience*, 13: 600-608, doi:10.1007/s12668-023-01103-3.
- Magnuson, B. A., Roberts, A., Nestmann, E. R. (2017). Critical review of the current literature on the safety of sucralose. *Food and Chemical Toxicology*, 106: 324-355, doi:10.1016/j.fct.2017.05.047.
- Mahmoud, E. F., Mahmoud, M. F., Hegazy, E. (2020). Chitosan Nanoparticles Suppress The Oxidative Stress in Submandibular Salivary Glands and Prevent The Genotoxicity of Monosodium Glutamate in Albino Rats: Histological, Immunohistochemical and Chromosomal Aberrations Analysis Study. *Egyptian Dental Journal*, 64(4-October (Oral Medicine, X-Ray, Oral Biology & Oral Pathology)): 3485-3498, doi:10.21608/EDJ.2020.91761.
- Martins, F. C., Oliveira, M. M., Gaivão, I., R, A. V., Peixoto, F. (2023). The administration of methyl and butyl parabens interferes with the enzymatic antioxidant system and induces genotoxicity in rat testis: possible relation to male infertility. *Drug and Chemical Toxicology*, 8: 1-8, doi:10.1080/01480545.2023.2176512.



- Masithoh, R. E., Rondonuwu, F., Setyabudi, F. M. C. S., Cho, B.-K. (2020). Development of calibration model for determination of sweeteners additives in Indonesia rice flour-based food by FT-NIR spectroscopy. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 542, doi:10.1088/1755-1315/542/1/012017.
- Mateo Fernández, M., González Jiménez, M. J., Celestino, M. D. R., Font, R., Alonso Moraga, A., & Merinas Amo, T. (2022). Toxicological and Nutraceutical Screening Assays of Some Artificial Sweeteners. *Processes*, 10(2): 410, doi:10.3390/pr10020410.
- Meng, F., Jiao, X. F., Chen, F., Zhang, X. Y., Duan, Z. Q., Ding, Z. M., Wu, D., Wang, Y.-S., Zhang, S.-X., Miao, Y.-L., Huo, L. J. (2020a). Isobutylparaben Negatively Affects Porcine Oocyte Maturation Through Increasing Oxidative Stress and Cytoskeletal Abnormalities. *Environmental Molecular Mutagenesis*, 61(4): 433-444, doi:10.1002/em.22356.
- Meng, X., Xia, C., Ye, Q., Nie, X. (2020b). tert-Butyl-p-benzoquinone induces autophagy by inhibiting the Akt/mTOR signaling pathway in RAW 264.7 cells. *Food and Function*, 11(5): 4193-4201, doi:10.1039/d0fo00281j.
- Miller, M. (1985). *Danger!: Additives at Work; a Report on Food Additives; Their Use and Control*. London: London Food Commission.
- Mpountoukas, P., Pantazaki, A., Kostareli, E., Christodoulou, P., Kareli, D., Poliliou, S., Mourelatos, C., Lambropoulou, V., Lialiaris, T. (2010). Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10): 2934-2944, doi:10.1016/j.fct.2010.07.030.
- Nasri, A., Pohjanvirta, R. (2021). In vitro estrogenic, cytotoxic, and genotoxic profiles of the xenoestrogens 8-prenylnaringenin, genistein and tartrazine. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(22): 27988-27997, doi:10.1007/s11356-021-12629-y.
- Neto, H. A. P., Ausina, P., Gomez, L. S., Leandro, J. G. B., Zancan, P., Sola-Penna, M. (2017). Effects of Food Additives on Immune Cells As Contributors to Body Weight Gain and Immune-Mediated Metabolic Dysregulation. *Frontiers in Immunology*, 8: 1478, doi:10.3389/fimmu.2017.01478.
- Nixon, E. J., Sakthivel, R., ALOthman, Z. A., Ganesh, P. S., Chung, R.-J. (2023). Lanthanum nickelate spheres embedded acid functionalized carbon nanofiber composite: An efficient electrocatalyst for electrochemical detection of food additive vanillin. *Food Chemistry*, 409: 135324, doi:10.1016/j.foodchem.2022.135324.
- Oladele, J. O., Oladele, O. T., Ademiluyi, A. O., Oyeleke, O. M., Awosanya, O. O., Oyewole, O. I. (2020). Chaya (*Jatropha tanjorensis*) leaf protect against sodium benzoate mediated renal dysfunction and hepatic damage in rats. *Clinical Phytoscience*, 6(1): 1-8, doi:10.1186/s40816-020-00160-5.
- Otabe, A., Ohta, F., Takumi, A., Lynch, B. (2019). Mutagenicity and genotoxicity studies of aspartame. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 103: 345-351, doi:10.1016/j.yrtph.2018.01.023.
- Ousji, O., Sleno, L. (2020). Identification of In Vitro Metabolites of Synthetic Phenolic Antioxidants BHT, BHA, and TBHQ by LC-HRMS/MS. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24): 9525, doi:10.3390/ijms21249525.
- Pandey, H., Kumar, S. (2021). Butylated hydroxytoluene and Butylated hydroxyanisole induced cyto-genotoxicity in root cells of *Allium cepa* L. *Heliyon*, 7(5): e07055, doi:10.1016/j.heliyon.2021.e07055.
- Pasqualli, T., Chaves, P. E. E., Pereira, C., Serpa É, A., Oliveira, L. F. S., Machado, M. M. (2020b). Steviol, the active principle of the stevia sweetener, causes a reduction of the cells of the immunological system even consumed in low concentrations. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 42(5): 504-508, doi:10.1080/08923973.2020.1811309.
- Pasqualli, T., PE, E. C., da Veiga Pereira, L., Adílio Serpa, É., de Oliveira, L. F. S., Machado, M. M. (2020a). Sucralose causes non-selective CD4 and CD8 lymphotoxicity via probable regulation of the MAPK8/APTX/EID1 genes: An in vitro/in silico study. *Clinical and*

- Experimental Pharmacology and Physiology*, 47(10): 1751-1757, doi:10.1111/1440-1681.13362.
- Pavanello, S., Moretto, A., La Vecchia, C., Alicandro, G. (2023). Non-sugar sweeteners and cancer: Toxicological and epidemiological evidence. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 139: 105369, doi:10.1016/j.yrtph.2023.105369.
- Pepino, M. Y. (2015). Metabolic effects of non-nutritive sweeteners. *Physiology & behavior*, 152: 450-455, doi:10.1016/j.physbeh.2015.06.024.
- Phipps, K. R., Bali, V., Kukadia, D., Patel, C., Muchhara, J. (2023). Safety assessment of a solid lipid curcumin particle preparation: In vitro and in vivo genotoxicity studies. *Journal of Applied Toxicology*, 43(6): 929-939, doi:10.1002/jat.4434.
- Pongsavee, M. (2015). Effect of sodium benzoate preservative on micronucleus induction, chromosome break, and Ala40Thr superoxide dismutase gene mutation in lymphocytes. *BioMed Research International*, 2015, doi:10.1155/2015/103512.
- Proquin, H., Rodríguez-Ibarra, C., Moonen, C. G., Urrutia Ortega, I. M., Briedé, J. J., de Kok, T. M., van Loveren, H., Chirino, Y. I. (2017). Titanium dioxide food additive (E171) induces ROS formation and genotoxicity: contribution of micro and nano-sized fractions. *Mutagenesis*, 32(1): 139-149, doi:10.1093/mutage/gew051.
- Proquin, H., Jetten, M. J., Jonkhout, M. C. M., Garduño-Balderas, L. G., Briedé, J. J., de Kok, T. M., Chirino, Y. I., van Loveren, H. (2018). Gene expression profiling in colon of mice exposed to food additive titanium dioxide (E171). *Food and Chemical Toxicology*, 111: 153-165, doi:10.1016/j.fct.2017.11.011.
- Redza-Dutordoir, M., Averill-Bates, D. A. (2016). Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1863(12): 2977-2992, doi:10.1016/j.bbamcr.2016.09.012.
- Rencüzoğullari, E., İla, H. B., Kayraldiz, A., Topaktaş, M. (2001). Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes treated with sodium metabisulfite, a food preservative. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 490(2): 107-112, doi:10.1016/s1383-5718(00)00142-x.
- Rinninella, E., Cintoni, M., Raoul, P., Mora, V., Gasbarrini, A., Mele, M. C. (2021). Impact of Food Additive Titanium Dioxide on Gut Microbiota Composition, Microbiota-Associated Functions, and Gut Barrier: A Systematic Review of In Vivo Animal Studies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(4): 2008, doi:10.3390/ijerph18042008.
- Rogers, M. D. (2016). Monosodium glutamate is not likely to be genotoxic. *Food and Chemical Toxicology*, 94: 260-261, doi:10.1016/j.fct.2016.05.001.
- Rolo, D., Assunção, R., Ventura, C., Alvito, P., Gonçalves, L., Martins, C., Bettencourt, A., Jordan, P., Vital, N., Pereira, J., Pinto, F., Matos, P., Silva, M.J., Louro, H. (2022). Adverse Outcome Pathways Associated with the Ingestion of Titanium Dioxide Nanoparticles-A Systematic Review. *Nanomaterials (Basel)*, 12(19): 3275, doi:10.3390/nano12193275.
- Salazar Mercado, S. A., Quintero Caleño, J. D., Rojas Suárez, J. P. (2020). Cytogenotoxic effect of propanil using the *Lens culinaris* Med and *Allium cepa* L test. *Chemosphere*, 249: 126193, doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126193.
- Sambu, S., Hemaram, U., Murugan, R., Alsofi, A. A. (2022). Toxicological and Teratogenic Effect of Various Food Additives: An Updated Review. *BioMed Research International*, 2022: 6829409, doi:10.1155/2022/6829409.
- Schiffman, S. S., Scholl, E. H., Furey, T. S., Nagle, H. T. (2023). Toxicological and pharmacokinetic properties of sucralose-6-acetate and its parent sucralose: in vitro screening assays. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 26(6): 307-341, doi:10.1080/10937404.2023.2213903.
- Shi, J., Han, S., Zhang, J., Liu, Y., Chen, Z., Jia, G. (2022). Advances in genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles in vivo and in vitro. *NanoImpact*, 25: 100377, doi:10.1016/j.impact.2021.100377.
- Stevenson, J., Sonuga-Barke, E., McCann, D., Grimshaw, K., Parker, K. M., Rose-Zerilli, M. J., Holloway, J. W., Warner, J. O. (2010). The role of

- histamine degradation gene polymorphisms in moderating the effects of food additives on children's ADHD symptoms. *American Journal of Psychiatry*, 167(9): 1108-1115, doi:10.1176/appi.ajp.2010.09101529.
- Tagorti, G., Yalçın, B., Güneş, M., Burgazlı, A. Y., Kaya, B. (2023). Comparative evaluation of natural and artificial sweeteners from DNA damage, oxidative stress, apoptosis, to development using *Drosophila melanogaster*. *Drug and Chemical Toxicology*: 1-12, doi:10.1080/01480545.2023.2228522.
- Takumi, A., Kawamata, Y., Sakai, R., Narita, T. (2019). In vitro and in vivo genotoxicity studies on monosodium L-glutamate monohydrate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 107: 104399, doi:10.1016/j.yrtph.2019.05.024.
- Tomé, D. (2018). The roles of dietary glutamate in the intestine. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 73(5): 15-20, doi:10.1159/000494777.
- Tsatsakis, A., Docea, A. O., Constantin, C., Calina, D., Zlatian, O., Nikolouzakis, T. K., Stivaktakis, P. D., Kalogeraki, A., Liesivuori, J., Tzanakakis, G., Neagu, M. (2019). Genotoxic, cytotoxic, and cytopathological effects in rats exposed for 18 months to a mixture of 13 chemicals in doses below NOAEL levels. *Toxicology Letters*, 316: 154-170, doi:10.1016/j.toxlet.2019.09.004.
- Turna Demir, F., Demir, E. (2023). Genotoxicity mechanism of food preservative propionic acid in the in vivo *Drosophila* model: gut damage, oxidative stress, cellular immune response and DNA damage. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 33(4): 327-336, doi:10.1080/15376516.2022.2137871.
- Valluzzi, R. L., Fierro, V., Arasi, S., Mennini, M., Pecora, V., Fiocchi, A. (2019). Allergy to food additives. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 19(3): 256-262, doi:10.1097/ACI.0000000000000528.
- Vega-Cabanillas, R., Sisniegas, M., Zavala, F. (2021). Tartrazine induces genotoxicity in lymphocytes of BALB/c *Mus musculus*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38(4): 587-594, doi:10.17843/rpmesp.2021.384.9356.
- Veltman, C. H., Pennings, J. L., van de Water, B., Luijten, M. (2023). An Adverse Outcome Pathway Network for Chemically Induced Oxidative Stress Leading to (Non) genotoxic Carcinogenesis. *Chemical Research in Toxicology*, 36(6): 805-817, doi:10.1021/acs.chemrestox.2c00396.
- Walbolt, J., Koh, Y. (2020). Non-nutritive sweeteners and their associations with obesity and type 2 diabetes. *Journal of Obesity & Metabolic Syndrome*, 29(2): 114, doi:10.7570/jomes19079.
- Walczak-Nowicka Ł, J., Herbet, M. (2022). Sodium Benzoate-Harmfulness and Potential Use in Therapies for Disorders Related to the Nervous System: A Review. *Nutrients*, 14(7), doi:10.3390/nu14071497.
- Wang, Q.-P., Browman, D., Herzog, H., Neely, G. G. (2018). Non-nutritive sweeteners possess a bacteriostatic effect and alter gut microbiota in mice. *PloS one*, 13(7): e0199080, doi:10.1371/journal.pone.0199080.
- Wu, L., Zhang, C., Long, Y., Chen, Q., Zhang, W., Liu, G. (2022). Food additives: From functions to analytical methods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(30): 8497-8517, doi:10.1080/10408398.2021.1929823.
- Yılmaz, Ş. G., Uçar, A., Yılmaz, S. (2022). Do steviol glycosides affect the oxidative and genotoxicity parameters in BALB/c mice? *Drug and Chemical Toxicology*, 45(1): 464-469, doi:10.1080/01480545.2020.1716000.
- Zanfirescu, A., Ungurianu, A., Tsatsakis, A. M., Nițulescu, G. M., Kouretas, D., Veskoukis, A., Tsoukalas, D., Engin, A. B., Aschner, M., Margină, D. (2019). A review of the alleged health hazards of monosodium glutamate. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4): 1111-1134, doi:10.1111/1541-4337.12448.
- Zeiger, E. (2019). The test that changed the world: The Ames test and the regulation of chemicals. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 841: 43-48, doi:10.1016/j.mrgentox.2019.05.007.



## FONKSİYONEL ET ÜRÜNLERİNİN ÜRETİMİNDE PROBİYOTİK, PREBİYOTİK VE SİNBİYOTİK KULLANIMINA YÖNELİK YENİ EĞİLİMLER

**Tuba Nuriler, Müge Uyarcan\***

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

Geliş/Received: 15.09.2023; Kabul /Accepted: 11.12.2023; Online baskı /Published online: 25.12.2023

Nuriler, T., Uyarcan, M. (2024). Fonksiyonel et ürünlerinin üretiminde probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotik kullanımına yönelik yeni eğilimler GIDA (2024) 49 (1) 25-38 doi: 10.15237/ gida.GD23111

*Nuriler, T., Uyarcan, M. (2024). New trends in the use of probiotics, prebiotics and synbiotics in the production of functional meat products. GIDA (2024) 49 (1) 25-38 doi: 10.15237/ gida.GD23111*

### ÖZ

Günümüzde tüketicilerin sağlıklı beslenme alışkanlıklarını benimsemek ve sürdürmek konusundaki farkındalıklarının artması gıda endüstrisi ve bilim insanlarını fonksiyonel yeni ürünlerin geliştirilmesine odaklamıştır. Değişen tüketici talebi, sağlığı teşvik eden bileşikleri en üst düzeye çıkarma ve tüketicinin sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olabilecek bileşenlerin varlığını azaltma stratejilerine odaklanan fonksiyonel et ürünleri geliştirmeye yönelik çalışmalara ivme kazandırmıştır. Bu bağlamda güncel literatürde fonksiyonel et ürünlerinin geliştirilmesinde yeni nesil probiyotikler, prebiyotikler ve sinbiyotiklerin kullanımına yönelik bilimsel çalışmalar dikkat çekmektedir. Et ürünleri formülasyonuna ilave edilen bu ajanların bağırsakta azotlu bileşiklerin oluşumunu azaltması ve bağırsak mikroflorasının işlevselliğini artırması yönleriyle önemli bir potansiyel oluşturduğu bildirilmektedir. Bu derlemede fonksiyonel et ürünleri üretiminde probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotiklerin kullanımına yönelik yeni yaklaşımlar irdelenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Sağlıklı beslenme, fonksiyonel et ürünü, probiyotik, prebiyotik, sinbiyotik

### NEW TRENDS IN THE USE OF PROBIOTICS, PREBIOTICS AND SYNBIOTICS IN THE PRODUCTION OF FUNCTIONAL MEAT PRODUCTS

#### ABSTRACT

Today, the growing awareness of consumers about adopting and maintaining healthy-eating habits has focused the food industry and scientists on the development of functional new products. Changing consumer demand has accelerated efforts to develop functional meat products that focus on strategies to maximize health-promoting compounds and reduce the presence of ingredients that can have adverse effects on a consumer's health. In this context, scientific studies on the use of new generation probiotics, prebiotics and synbiotics in the development of functional meat products have recently attracted attention in the current literature. It is stated that these agents added to the formulation of meat products represent an important potential in terms of reducing the formation of nitrogenous compounds in the intestine and increasing the functionality of the intestinal microflora. In this review, new approaches for the use of probiotics, prebiotics and synbiotics in the production of functional meat products are discussed.

**Key words:** Healthy diet, functional meat product, probiotic, prebiotic, symbiotic

\* Sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: muge.akkara@cbu.edu.tr

☎: (+90) 236 201 2273

Tuba Nuriler; ORCID no: 0000-0002-7836-9145

Müge Uyarcan; ORCID no: 0000-0003-1474-672X

## GİRİŞ

Et ve et ürünleri, sağlık açısından fayda sağlayan protein, yağ, vitamin, esansiyel amino asitler ve mineraller gibi değerli besin öğeleri bakımından zengin bileşime sahip olması yönüyle önemli bir besin kaynağıdır (Candan ve Bağdatlı, 2018). Ancak üretim esnasında uygulanan teknolojik işlemler ürünlerin kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Özellikle et ve et ürünlerinin dayanıklılığını ve raf ömrünü arttırmak, mikrobiyolojik güvenliğini sağlamak amacıyla çeşitli kimyasal katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bu kimyasalları içeren ürünlerin fazla tüketiminin ileri dönemlerde kanser gibi ciddi rahatsızlıklara neden olabileceği bildirilmektedir (Özünü vd., 2019). Bu nedenle, son yıllarda değişen tüketim alışkanlıkları ve gıda-sağlık ilişkisi üzerine ilginin artması ile birlikte fonksiyonel gıdalara yönelik tüketici talebi artış göstermiştir. Bu bağlamda, et ve et ürünlerine sağlığa faydalı olan biyoaktif bileşenler ilave edilerek fonksiyonel özellikler kazandırılmakta ve olası zararlı etkileri azaltılmaktadır (Bis-Souza vd., 2020).

Fonksiyonel gıdalar, besin kaynağı olmalarının yanı sıra belirli biyolojik fonksiyonları olumlu yönde etkileyebilen, genel sağlık durumunu iyileştirebilen ve farklı hastalıklara yakalanma riskini azaltabilen gıdalardır (Illippangama vd., 2022). Fonksiyonel gıdaların üretiminde en sık kullanılan bileşenler; doğal antioksidan maddeler, probiyotik ve prebiyotik bakteriler ile omega-3 yağ asitleridir (Sirini vd., 2020). Bu bileşenlerin arasında probiyotikler, yeterli düzeyde alındıklarında konak sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan ve bağırsak sisteminin mikrobiyal dengesini sağlayan canlı mikroorganizmalar şeklinde tanımlanmaktadır (Erginkaya ve Korunay-Altun, 2022). Prebiyotikler ise, yararlı bir etki oluşturabilmek için konakçı mikroorganizmalar tarafından seçici olarak kullanılan substratlar olarak bilinmektedir (Zhou vd., 2023). Son zamanlarda mikrobiyoloji alanındaki gelişmeler, probiyotik ve prebiyotikler için araştırmaların sınırlarını zorlamakta ve bu bileşikler için yeni türler, mekanizmalar ve uygulamalar üzerine odaklanmaktadır. Bu anlamda hem prebiyotiklerin hem de probiyotiklerin tek bir matriste bir arada

kullanılması amacıyla çeşitli sinbiyotikler geliştirilmektedir. Bu teknik, et ürünlerinde probiyotik etkisini prebiyotik ajanlarla en üst düzeye çıkarma şansı verdiği için umut eden yeni bir eğilim olarak görülmektedir (Manassi vd., 2022).

Probiyotik mikroorganizmaların et ürünlerinin işlenmesinde kullanımı, fermantasyon sırasında sağlığa faydalı bileşikler üretme yeteneklerinden dolayı dikkat çekici bir strateji olarak kabul edilmektedir (Bis-Souza vd., 2020). Isıl işlem görmeden tüketilebilen fermente et ürünleri, probiyotiklerin canlılığının uzun süre korunabileceği mükemmel matrislerdir. Ancak, bu ürünlerin su aktivitesi ve pH değerlerinin düşük olması ve yüksek miktarda küreme ajanlarını içermesi nedeniyle mikroorganizma canlılığı olumsuz etkilenmektedir (Rodrigues vd., 2020; Sirini vd., 2023). Bu bağlamda, probiyotik mikroorganizmaları içeren gıdaların üretimi sırasında hücre canlılığının ve bunların konakçıdaki biyoyararlılığının sürdürülmesi önemli bir konudur. Probiyotik mikroorganizmaların konakçada canlılığını sürdürebilmesini sağlamak için son zamanlarda mikroenkapsülasyon, yenilebilir film/kaplama gibi çeşitli yöntemler geliştirilmektedir. Bu yöntemler, biyopolimerik bir malzeme matrisi içinde bu tür mikroorganizmaların hapsedilmesini ve olumsuz çevre koşullarına karşı korunmasını sağladığı için umut verici tekniklerdir (Reque ve Brandelli, 2021). Bu derlemede, fonksiyonel et ürünlerinin üretiminde probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotiklerin diğer bileşenlerle veya yöntemlerle potansiyel kullanımına yönelik yeni eğilimler irdelenecektir.

## FONKSİYONEL ET ÜRÜNLERİ

Fonksiyonel gıdalar, sentetik bileşen içermeyen, besleyici etkisinin yanında, değişik etkenlerle hastalık oluşma riskini azaltıcı, sağlığı geliştirici özelliklere sahip gıdalar olarak tanımlanmaktadır. Gıdanın fonksiyonel olabilmesi için biyoaktif bileşikler, probiyotik mikroorganizmalar gibi sağlığa yararlı bileşenlere sahip olması ve bu bileşenlerin vücudun ilgili bölgesine yeterli düzeyde gönderilebilmesi gereklidir (Manoj vd., 2023; Velázquez-González vd., 2023).

Fonksiyonel gıdaları tasarlarlarken ana stratejiler “gıdada mevcut bulunan bir bileşeni artırmak, gıdada bulunmayan bir bileşeni ilave etmek, gıdanın zararlı bir bileşenini ortadan kaldırmak, zararlı bir bileşenin yerine sağlığa yararlı bileşen kullanmak, ilave edilen bileşenin veya biyoaktif maddenin biyoyararlılığını arttırmak ve bu stratejilerden bir veya birkaçını kullanmak” olarak ifade edilmiştir (Macho-Gonzalez vd., 2021).

Son yıllarda dünya genelinde tüketiciler tarafından fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş et ve et ürünlerine olan talep artmıştır. Fonksiyonel et ürünleri; A, C, E vitaminleri, magnezyum, kalsiyum, potasyum gibi mineraller, diyet lifi, konjuge linoleik asit, probiyotik mikroorganizmalar, prebiyotikler, sinbiyotikler ve antioksidanlar gibi fonksiyonel bileşenlerin ilave edilmesiyle elde edilmektedir (Budak Bağdatlı ve Kundakçı, 2013). Bu fonksiyonel bileşen kaynakları arasında, mikroorganizmalar kullanılarak modern fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesine yönelik yapılan çalışmalar son zamanlarda popülerlik kazanmıştır. Bu çalışmalarda, mikroorganizmaların ürettiği metabolitlerin önemli avantajları, daha az enerji gereksinimi, minimum toksik madde üretimi, daha düşük CO<sub>2</sub> emisyonu ve kolay işleme gibi çeşitli faydalar sağlayarak fermantasyona yardımcı olmalarıdır. Farklı tipte fonksiyonel ve probiyotik et ürünleri dünya çapında ticari olarak temin edilebilmektedir (Macho-Gonzalez vd., 2021; Rahman vd., 2017). Probiyotik mikroorganizmalar, prebiyotikler ve sinbiyotikler tarafından zenginleştirilen et ve et ürünleri geleneksel olarak üretilen et ve et ürünlerine kıyasla daha düşük yağ içeriğine sahip olduğu için kronik hastalıkların prevalansını azaltarak halk sağlığını iyileştirebilmektedir (Dong vd., 2023).

### PROBİYOTİKLER VE ET ÜRÜNLERİNDE UYGULAMALARI

Probiyotik terimi Yunanca “pros” ve “bios” kelimelerinden türemiş olup bağırsak hijyenini ve sistemini iyileştirerek konakçı canlıda yararlı etkisi olan ve gıda katkısı gibi kullanılan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Ishikawa vd., 2023). Probiyotikler, intestinal ortamdaki yararlı bakterilerin (*Lactobacillus*,

*Bifidobacterium* vb.) sayısını arttırarak, patojen bakterilerin (*Clostridium*, *Bacteroides* vb.) sayısını azaltmakta ve mikrobiyotadaki doğal dengenin korunmasına ve yenilenmesine yardımcı olmaktadır (İsmailoğlu ve Öngün-Yılmaz, 2019). Probiyotik olarak en çok kullanılan mikroorganizmalar, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Saccharomyces*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Propionibacterium* türlerine ait suşlardır (Cosme vd., 2022). Probiyotik bakterilerin biyoterapötik etki gösterebilmesi için konakçının vücuduna alması gereken canlı hücre konsantrasyonunun en az 10<sup>6</sup> kob/g, kabul edilebilir düzey olarak da 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> kob/g arasında olması gerektiği bildirilmektedir (Delikanlı ve Özcan, 2014). Bu bağlamda probiyotik bakterilerin canlılığı hem gıdaların işlenmesi hem de tüketilmesi sırasında korunmalıdır. Probiyotik bakteriler ayrıca kabul edilebilir probiyotik ürün gelişimi için bazı temel gereksinimleri de karşılamalıdır. Bu bakımdan probiyotik bakterilerin nihai üründe canlılığının korunması ve stabilitelelerinin garanti altına alınması gereklidir (Alizadeh vd., 2022).

Fonksiyonel ürünlere olan talep, et endüstrisini sağlık yararını arttırmaya yönelik biyoaktif bileşikler içeren ürünler üretmeye teşvik etmektedir. Bu amaçla, bu ürünlere probiyotiklerin ilave edilmesi besin değerini önemli ölçüde etkilediği için mükemmel bir strateji olarak kabul edilmektedir (Manassi vd., 2022). Probiyotik et ürünleri, uygun probiyotik starter kültürler ile fermente edilerek üretilen fonksiyonel et ürünleri olarak tanımlanmaktadır. Bu işlem sırasında kullanılan teknoloji, starter kültürün özellikleri ile ürüne uygulanan işlemler, et ürününün duysal, fiziksel ve mikrobiyolojik özelliklerini de etkilemektedir. Özellikle kürlenmiş ve fermente edilmiş etler ısı işlem görmediği için probiyotik mikroorganizmaların canlılığının korunmasına yardımcı olmaktadır (Özbay Doğu ve Sarıçoban, 2015). Bununla birlikte pH, asitlik, ürün bileşimi, su aktivitesi, katkı maddelerinin (sodyum klorür, nitrit ve nitrat) kullanımı ile ürünün işlenmesi ve depolanması sırasındaki sıcaklık gibi bazı teknolojik faktörler probiyotik hücrelerin canlılığını etkilemektedir (Gu vd., 2022). Et ürünlerinde probiyotik mikroorganizma

kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalar Çizelge 1’de özetlenmiştir. Literatürde probiyotik mikroorganizmalar ile ilgili sosis ve kıyım örneklerinde yapılan çalışmalarda genel olarak kullanılan suşların antioksidan ve antimikrobiyal

aktivite göstererek raf ömrünü arttırdığı ve tekstürü iyileştirdiği rapor edilmiştir (Mafra vd., 2021; Nedelcheva vd., 2010; Trabelsi vd., 2019; Yu vd., 2020).

Çizelge 1. Et ürünlerinde probiyotik kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalar

Ürün	Probiyotik suş	Sonuç	Kaynak
Fermente sosis	<i>Lactobacillus plantarum</i> NBIMCC 2415	Çalışmada incelenen suş, patojenik mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmiş ve peroksit radikallerine karşı antioksidan aktivite göstermiştir.	Nedelcheva vd., 2010
Fermente sosis	<i>Lactobacillus plantarum</i> CD101 <i>Staphylococcus simulans</i> NJ201	Fermentasyon boyunca probiyotik suş içeren sosislerin kontrol grubuna göre daha yüksek proteaz aktivitesi ve antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.	Yu vd., 2020
Sığır kıyması	<i>Lactobacillus plantarum</i> TN8	Probiyotik suşun, bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişimini engellediği, lipid oksidasyonunu geciktirdiği, tekstür parametrelerini iyileştirdiği ve raf ömrünü uzattığı tespit edilmiştir.	Trabelsi vd., 2019
Sosis	<i>Lactobacillus sakei</i> <i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Staphylococcus carnosus</i>	Starter kültür, test edilen safra tuzlarının tüm konsantrasyonlarına direnç gösterirken düşük pH'a dayanamaması açısından canlılığını koruyamamış ancak test edilen mikroorganizmalara ( <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>Listeria monocytogenes</i> ) karşı antimikrobiyal etki göstermiştir.	Mafra vd., 2021
Domuz fileto	<i>Lactobacillus acidophilus</i> Bauer <i>Lactobacillus casei</i> Bif3'/IV	Çalışmada üç haftalık olgunlaştırma süresince, tüm örneklerin genel kabul edilebilirlik puanları istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Ayrıca, 4°C'de 6 aylık depolama boyunca yapılan duyuşal değerlendirmede kontrol ve <i>L. acidophilus</i> Bauer ile üretilen fermente domuz filetosu örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanları diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur	Jaworska vd., 2011
Fermente sosis	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>	Duyuşal değerlendirme sonucunda tüm örneklerin görünüş, lezzet ve genel kabul edilebilirlik değerleri istatistiksel olarak benzer bulunurken ( $p > 0.05$ ), <i>B. lactis</i> içeren örneklerin tekstür değerleri diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).	Ruiz vd., 2014
Fermente sosis	<i>Enterococcus faecium</i> CRL 183	Çalışmada, in vitro koşullar altında yapılan analizlerde probiyotik sosis tüketiminin <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp. ve <i>Enterobacteriaceae</i> sayılarında azalmaya ve amonyum iyonlarında artışa neden olduğu gözlemlenmiştir.	Roselina vd., 2020
Sucuk	23 adet probiyotik <i>Lactobacillus plantarum</i> suşu	<i>L. plantarum</i> AB20-961 suşunun diğer gruplarla karşılaştırıldığında fermentasyonun ilk 24 saati boyunca sucukta daha yüksek miktarda konjuge linoleik asit ürettiği tespit edilmiştir.	Özer vd., 2016
Salam	<i>Lactobacillus curvatus</i> MBSa2 suşu	Depolama boyunca enkapsüle <i>L. curvatus</i> MBSa2 içeren örneklerde bakterilerin canlılığının korunduğu saptanmıştır.	Barbosa vd., 2015
Fermente sosis	<i>L. plantarum</i>	Aljinat ile enkapsüle edilmiş probiyotiklerin ürünün olgunlaşması ve depolanması sırasında daha yüksek sayıda canlılık gösterdiği saptanmıştır.	Cavalheiro vd., 2019

Et hamuru	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> BFL	Çalışmada, kurutma aşamasında <i>L. plantarum</i> BFL suşunu mikroenkapsüle veya serbest şekilde içeren fermente sosislerde bakteri canlılığı istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ( $p>0.05$ ).	Sirini vd., 2023
Sosis	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Çalışmada kalsiyum aljinat ile enkapsüle edilmiş <i>Lactobacillus plantarum</i> suşunu içeren sosislerde depolama boyunca kontrol grubuna göre lipid oksidasyonunun daha düşük ve probiyotik aktivitenin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.	Cavalheiro vd., 2020
Salam	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Mikroenkapsüle <i>Lactobacillus plantarum</i> suşunu içeren salamlarda bakteri canlılığının korunduğu ve duyuşal kalitenin olumsuz etkilenmediği rapor edilmiştir.	Vasconcelos vd., 2021

Probiyotik suşlar ilave edildiği gıdaya fonksiyonellik kazandırırken aynı zamanda sağlığa yararlı metabolitler de üretebilmektedir (Özer vd., 2016; Roselina vd., 2020). Fonksiyonel olarak geliştirilen probiyotik et ürünlerinin duyuşal kalitesi işleme ve depolama sırasında farklı metabolitlerin (organik asitler gibi) üretilmesi nedeniyle olumlu yönde gelişebilmekte veya olumsuz etkilenmektedir. Bu amaçla duyuşal kabul edilebilirlik, birçok gıdada probiyotik kullanımının önündeki diğer önemli bir engeldir (Manassi vd., 2022). Yapılan bazı literatür çalışmalarında *Lactobacillus acidophilus* Bauer suşu ilave edilen domuz filetolarının ve *Bifidobacterium lactis* suşu ilave edilen fermente sosislerin kabul edilebilir duyuşal özellikler gösterdiği tespit edilmiştir (Jaworska vd., 2011; Ruiz vd., 2014).

Probiyotik gıda üretimini kısıtlayan en önemli etkenlerden biri de kullanılan mikroorganizmaların stabilitesini, yani canlılığını koruyamamasıdır. Son yıllarda yapılan bazı araştırmalarda mikroenkapsülasyon tekniğinin, probiyotiklerin teknolojik özelliklerinin artırılmasına yönelik önemli bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Xie vd., 2023). Mikroenkapsülasyon, mikroorganizmaların olumsuz çevre koşullarından ayrıştırılması amacıyla hidrokolloidal kaplamaların içerisinde hapsedildiği bir yöntemdir. Bu yöntem ile mikroorganizmaların koruyucu polimer membran veya matris içinde tutulup canlılığının korunması sağlanmaktadır. Mikroenkapsülasyon teknolojisi, probiyotik mikroorganizmaları et ürünü işleme sırasında normalde canlılığını sürdürmeyeceği olumsuz ortam koşullarından korumak amacıyla kullanılmaktadır (Rouhi vd., 2013). Enkapsüle edilmiş probiyotik suşlar içeren sosis ve salam

örneklerinde yapılan bazı çalışmalar bakteri canlılığının daha uzun süre korunduğunu göstermiştir (Cavalheiro vd., 2019; Cavalheiro vd., 2020; Vasconcelos vd., 2021).

## PREBİYOTİKLER VE ET ÜRÜNLERİNDE UYGULAMALARI

Probiyotikler, bağırsaktaki yararlı mikroorganizmaların çoğalmasını ve seçici olarak aktivasyonunu sağlayarak konakçının sağlığını geliştiren oligosakkarit yapısında sindirilemeyen gıda bileşenleri olarak tanımlanmaktadır. Probiyotikler, probiyotiklerin yerine veya probiyotiklerin insan sağlığını iyileştirmesine yardımcı olmak amacıyla kullanılmaktadır (Manzoor vd., 2022). Probiyotikler; bağırsak hareketlerini düzenlemekte, kalsiyum ve magnezyum gibi minerallerin emilimini ve biyoyararlılığını arttırmakta ve patojen mikroorganizmaların çoğalmasını önleyebilmektedir (Özünü vd., 2019). Bir bileşiğin prebiyotik olarak kabul edilebilmesi için belirli gereksinimleri karşılaması gerekmektedir. Bu gereksinimler; gastrik asitlere ve konakçı enzimlere karşı direnç göstermesi, kalın bağırsak mikrobiyotası tarafından seçici olarak fermente edilmesi ve mikrobiyota üzerinde seçici bir etkiye sahip olması ve böylece konakçı üzerinde sağlığı geliştirici etkilere yol açması olarak ifade edilmektedir (Saez-Orviz vd., 2023).

Probiyotik bileşenler, daha çok karbonhidrat grubunda yer alan ve genellikle çözünür lif işlevi gören oligosakkarit veya polisakkaritlerdir (Özünü vd., 2019). Pankreas enzimlerine ve mide asidine karşı direncinden dolayı prebiyotik olarak inulin, fruktooligosakkarit ve galaktooligosakkarit yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsanların sindirim



sisteminde prebiyotiği parçalayan sindirim enzimleri bulunmadığı ve bu bileşiklerin tamamı sindirilemediği için prebiyotik bileşenler emilimle kana karışmamaktadır. Fakat, bağırsakta probiyotik bakterilerin yardımıyla fermentasyona uğradıktan sonra enerji vermekte ve bu kompleks karbonhidratlar kolonda metabolize edilip kısa zincirli yağ asitleri üretmektedir. Prebiyotikler ayrıca obezite, diyabet gibi çeşitli metabolik rahatsızlıkların önlenmesinde ve tedavisinde son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Chavan vd., 2023).

Son zamanlarda, özellikle bazı bileşiklerin mikroorganizmalar üzerindeki etkisinin ve bağırsaktaki kolonizasyonlarının araştırılmasına imkan sağlayan yeni yöntemlerin gelişmesiyle çeşitli prebiyotik türler elde edilmektedir. Bu amaçla, çoklu doymamış yağ asitleri, konjuge linoleik asit, mannan, oligosakkaritler ve ksilooligosakkarit gibi bileşiklerin prebiyotik özellik gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, izomaltooligosakkaritler, polioller (mannitol, laktitol ve ksilitol), dirençli nişasta ve nişasta olmayan polisakkaritler (pektinler,  $\beta$ -glukanlar, lignin) de dahil olmak üzere diğer karbonhidrat bileşikleri prebiyotik etkileri açısından değerlendirilmiştir. Çalışmalarda, ayrıca mikroalglerin, meyve ve tahıl yan ürünlerinin ve tohumlarının prebiyotik özellikleri değerlendirilmiş ve bu bileşiklerin potansiyel prebiyotik özellik gösterdiği ifade edilmiştir (Pimentel vd., 2022).

Prebiyotikler, gıdaların teknolojik özelliklerini iyileştirmek veya sağlık potansiyellerini artırmak amacıyla içecekler, unlu mamuller, et ve süt ürünleri gibi çeşitli gıda formülasyonlarında

kullanılmaktadır. Prebiyotikler diyet lifi olarak kullanıldığı için daha dengeli gıda bileşimi sağlamakta ve gıdaların tazelik gibi duyuşsal özelliklerini geliştirmektedir. Ayrıca prebiyotikler, jel oluşturma yetenekleri ile gıdalarda tekstürel ve duyuşsal özelliklerin geliştirilmesini sağlamakta ve yeniden formüle edilmiş düşük yağlı ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır (Hurtado-Romero vd., 2020). Prebiyotikler içerisinde özellikle fruktan ve inülin kullanılarak fonksiyonel yeni et ürünleri geliştirilmektedir. Et ürünleri üretiminde fruktan ve inülin sağlığa faydalı gıdalar elde etmek için fonksiyonel bileşen olarak kullanımlarının yanı sıra esas olarak yağ ikame maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla güncel çalışmalarda et ürünlerinde hayvansal yağın değiştirilmesi veya azaltılması amacıyla inülin ile interesterifikasyon ve organojelasyon teknikleriyle yapılandırılmış jel emülsiyonların kullanımı dikkat çekmektedir. Ayrıca, et ürünlerinde yağ ikame maddesi olarak prebiyotik liflerin kullanımının ürün stabilitesi ve duyuşsal özellikleri geliştirilmesi sebebiyle de iyi bir strateji olduğu ifade edilmektedir (Correa vd., 2024). Bununla birlikte, prebiyotiklerin fonksiyonel gıda bileşenleri olarak görev yapabilmeleri için ürünün organoleptik özelliklerini olumsuz etkilememesi ve ısı, düşük pH ve Maillard reaksiyonu oluşumu gibi işlem koşullarına karşı kimyasal olarak kararlı olmaları gerekmektedir (Manassi vd., 2022). Et ürünlerinde prebiyotik kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalar Çizelge 2'de verilmiştir. Çalışmalarda prebiyotiklerin et ürünlerinde genel olarak doymuş yağ asidi içeriğini ve pişme kaybını azalttığı, tekli ve çoklu doymamış yağ asidi içeriğini ve emülsiyon stabilitesini artırdığı ve tekstürü iyileştirdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Et ürünlerinde prebiyotik kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalar

Ürün	Prebiyotik	Sonuç	Kaynak
Bologna sosisi	Çiya unu ve/veya soya proteini izolatu, inülin, karragenan, sodyum kazeinat ve sodyum tripolifosfat ile hazırlanan jel emülsiyonu	%14 oranında jel emülsiyonu içeren sosislerin diğer gruplara göre omega 3 yağ asidi içeriğinin daha yüksek oranda arttığı ve doymuş yağ oranının %41'e kadar azaldığı belirlenmiştir.	Paglarini vd., 2019
Sosis	İnülin, fruktooligosakkarit, polidekstroz ve dirençli nişasta	Mikroskopik incelemeler sonucunda prebiyotik lif içeren formülasyonlarda kontrol grubuna göre daha gözenekli ve kırılğan bir yapı elde edildiği tespit edilmiştir.	Felisberto vd., 2015

## Fonksiyonel et ürünleri üretiminde yeni eğilimler

Emülsifiye et ürünü	İnülin, polidekstroz, a-siklodekstrin ve bambu ile stabilize edilmiş kanola yağı jel emülsiyonu	Bambu lifi içeren jel emülsiyonlarının, örneklerde emülsiyon stabilitesi ve tekstürü geliştirdiği bulunmuştur.	Santos vd., 2020
Sığır burgerleri	Alg (Al) ve/veya buğday tohumu yağı emülsiyonu	Buğday tohumu yağı emülsiyonu ile yeniden formüle edilen burgerlerin doymuş yağ asidi (SFA) ve tekli doymamış yağ asidi (MUFA) içerikleri azalmış ve linoleik asit miktarları artmıştır. Alg yağı emülsiyonu ile yeniden formüle edilen burgerlerde ise omega-3 ve dokosahekzenoik yağ asidi (DHA) miktarlarının arttığı gözlenmiştir.	Barros vd., 2021
Bologna sosisi	Çiya müsilağı ve zeytinyağı içeren jel emülsiyonu	Çalışmada jel emülsiyonu kullanımıyla Bologna sosislerinin duyu kalitesi kontrol grubu ile benzer sonuçlar almış ( $p>0.05$ ) ayrıca domuz sırt yağı kullanımı tamamen elimine edilerek fosfat kullanımı %50 oranında azaltılmıştır.	Câmara vd., 2021
Burger	Ananas yan ürünü (kabuk, prina) kanola yağı	Yağ ikame maddesi olarak ananas yan ürünlerinin kullanımı ürünün pişirme özelliklerini iyileştirmede etkili olmuş ve düşük yağlı burgerlerin verimini ve görünümünü olumlu yönde etkilemiştir.	Selani vd., 2016
Frankfurter	Zeytinyağı, çiya ve soğuk jelleştirici maddeler (transglutaminaz, aljinat veya jelatin)	Çiya jel emülsiyonlarının frankfurter sosislerine ilave edilmesiyle doymuş yağ asidi (SFA) miktarının azaldığı, tekli doymamış yağ asidi (MUFA) ve çoklu doymamış yağ asidi (n-3 PUFA) miktarlarının arttığı ve beslenme önerileri doğrultusunda yağ içeriğini önemli ölçüde iyileştirdiği belirlenmiştir ( $p<0.05$ ).	Pintado vd., 2015
Fermente sosis	Beta-glukan	Çalışmada fermente sosislere $\beta$ -glukan ilavesinin tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) değerlerini kontrol gruplarına kıyasla azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca sosis formülasyonunda yüksek miktarda $\beta$ -glukan kullanımının sertlik değerlerinde artışa neden olduğu bildirilmiştir.	Yuca vd., 2019
Sosis	Acı bakla unu	Çalışmada, acı bakla ununun ilavesiyle emülsiyon stabilitesinin arttığı ve pişirme kaybının azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca acı bakla unu içeren formülasyonların tekstürel özellikleri iyileştirdiği bildirilmiştir.	Leonard vd., 2019
Fermente sosis	Pirinç kepeği lifi, buğday lifi	Çalışmada, diyet lifi içeren fermente sosislerin laktik asit bakteri sayısı, toplam uçucu azot ve 2-tiyobarbitürik asit reaktif madde değerleri kontrole göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, fermente sosislere diyet lifi ilavesinin laktik asit bakterilerinin gelişimini ve fermentasyonunu desteklediği belirlenmiştir.	Jung vd., 2018

### SİNBIYOTİKLER VE ET ÜRÜNLERİNDE UYGULAMALARI

Sinbiyotikler, bir konakçı içinde sinerjistik olarak hareket eden probiyotik bakterilerin gelişimini destekleyen hem probiyotik hem de prebiyotik içeren besin katkı maddeleri olarak tanımlanmaktadır. Sinbiyotikler, bir probiyotik ve bir prebiyotik kombinasyonu olup tek başına kullanılan probiyotik veya prebiyotiklerden daha

güçlü sağlık etkileri göstermektedir (Cason vd., 2023).

Fonksiyonel et ve et ürünleri geliştirmek amacıyla probiyotik ve prebiyotik karışımları olan sinbiyotiklerin kullanımı son yıllarda dikkat çekmektedir. Et ve et ürünlerinde yapılan çalışmalarda sinbiyotiklere örnek olarak *Lactobacillus plantarum*-ginseng tozu, *Lactobacillus paracasei*-laktuloz, *Bifidobacterium animalis* subsp.

*lactis* (BB-12)-inülin probiyotik-prebiyotiklerinin birlikte kullanımı verilebilir (Zhuang vd., 2022; Coelho vd., 2019; Campos vd., 2022). Sinbiyotikler, bazı karaciğer hastalıklarının tedavisinde yardımcı rol oynamakta, tip 2 diyabet, kalp-damar hastalıkları ve kanser türlerinin riskini azaltmakta, tümör gelişimini ve iltihaplanmayı engellemekte ve bağırsak mikrobiyotasını iyileştirerek kilo vermede fayda sağlamaktadır (Cruz vd., 2022; Erginkaya ve Konuray-Altun, 2022). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada sinbiyotik preparatın, ayrı ayrı probiyotik veya prebiyotik uygulamasına göre preneoplastik

lezyonları ve kolon tümörlerini önlemede daha etkili olduğu bildirilmiştir (Klinder vd., 2004).

Et ürünlerinde kullanılan sinbiyotiklerle ilgili çalışmalar Çizelge 3'de yer almaktadır. Et ürünlerinde sinbiyotiklerin kullanımıyla ilgili çalışmaların çoğu, ürünün mikrobiyolojik güvenliği, fizikokimyasal ve duyuşsal özellikleri ile ilgilidir. Çalışmalarda sinbiyotiklerin et ürünlerinde genel olarak bozulma yapan mikroorganizmaların gelişimini engellediği, kalıntı nitrit miktarını azalttığı, lipit ve protein oksidasyonunu geciktirdiği rapor edilmiştir.

Çizelge 3. Et ürünlerinde sinbiyotik kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalar

Ürün	Probiyotik	Prebiyotik	Sonuç	Kaynak
Sosis	Starter kültür: <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (Lp-Lr)	Ginseng tozu	Ginseng tozu ve Lp-Lr kombinasyonunun laktik asit bakterilerinin gelişimini iyileştirdiği ve depolama boyunca (4°C, 30 gün) sosislerde zararlı bakterilerin ( <i>Acinetobacter</i> , <i>Halovibrio</i> , <i>Alkalibacillus</i> ) gelişimini engellediği saptanmıştır.	Zhuang vd., 2022
Sosis	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Kestane unu	Kestane unu ve probiyotik suş kullanımıyla örneklerin lezzeti olumsuz etkilenmezken laktik asit bakteri sayılarının arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kestane unu örneklerde pH düşüşü ve kalıntı nitrit değerleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olmuştur (p<0.05).	Sirini vd., 2020
Kuru fermente sucuk	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Laktuloz	Çalışmada, tek olarak probiyotik içeren sosis örneklerinde diğer gruplara göre daha düşük kalıntı nitrit değerleri gözlemlenirken, tüm grupların duyuşsal özellikleri ve laktik asit bakteri sayısı benzer bulunmuştur (p>0.05).	Coelho vd., 2019
Sosis	<i>Lactobacillus plantarum</i> TN8	Arpadan elde edilen beta-glukan konsantresi	Yeniden formüle edilmiş sosislerin %0.1 gibi çok düşük oranda nitrit içerdiği kombinasyonlarda probiyotik suşun mikrobiyal yükü 4°C'de 10 güne kadar azalttığı bulunmuştur.	Slima vd., 2020
Sosis	<i>Enterococcus faecium</i> UAM1, <i>Pediococcus pentosaceus</i> UAM2	Kaktüs meyvesi kabuğu unu, elma posası unu	Çalışmada, mikroenkapsülasyon uygulamasıyla, bakterilerin ısıya dayanıklı hale gelmesi sağlanmış ve daha yüksek laktik asit bakteri popülasyonu elde edilmiştir. Ayrıca, mikroenkapsülasyon uygulamasına tarımsal yan ürünler ilave edilmesiyle depolama boyunca (4°C'de 30 gün) örneklerin lipit oksidasyonunun geciktirildiği belirlenmiştir.	Barragan vd., 2019
Kuru coppa	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (BB-12)	İnülin	Çalışmada, serbest şekilde BB-12 suşu ve inülin içeren grupların diğer mikroenkapsülasyon uygulanmış gruplara göre daha düşük lipit ve protein oksidasyon seviyeleri gösterdiği ve duyuşsal değerlendirmede panelistler tarafından diğer gruplara göre daha çok beğenildiği belirlenmiştir.	Campos vd., 2022

Sosis	Maya, laktik asit bakterisi	Yaban mersini	Maya ve laktik asit bakterisi ile fermente edilen yaban mersini içeren tüm sosislerin depolama boyunca lipid ve protein oksidasyonunu önemli ölçüde geciktirdiği belirlenmiştir ( $p<0.05$ ).	Zhou vd., 2020
Sosis	<i>Lactobacillus casei</i> LC 01	İnülin, bezelye lifi	Probiyotik bakteri <i>L. casei</i> suşunun tüm gruplarda başarılı bir şekilde gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca prebiyotik inülin kreması ve <i>L. casei</i> suşu içeren sosislerde mikrokok sayısının kontrole göre önemli ölçüde daha düşük olduğu belirtilmiştir ( $p<0.05$ ).	Vasilev vd., 2016
Sosis	<i>Lactobacillus acidophilus</i> DSM 20079, <i>Lactocaseibacillus casei</i> 431 ve <i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM	Yulaf kepeği	Çalışmada sosis formülasyonuna yulaf kepeği ve probiyotik bakteri ilavesinin örneklerin tiyobarbitürik asit (TBARS) sayısını arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca %5 yulaf kepeği ve <i>L. acidophilus</i> suşu içeren sosislerde maya ve küf sayısının diğer gruplara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir.	Kozan ve Sarıçoban, 2021
Salam	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Turunçgil lifi arabinogalaktan, inülin, bitkisel ekstrakt (limon otu, biberiye	Tek başına narenciye lifi veya bitki ekstraktıyla birlikte narenciye lifi içeren salamlarda diğer gruplara göre daha yüksek antioksidan kapasite ve kısa zincirli yağ asidi miktarı elde edilmiştir. Ayrıca salam formülasyonuna lif ilave edilmesi bağırsak mikrobiyota yapısının olumlu şekilde değişmesine sebep olmuştur.	Pérez-Burillo vd., 2019

Probiyotiklerin sinbiyotiklerdeki canlılığı, nem, basınç, oksijen ve yüzey aktif madde seviyeleri gibi dış ortam ve pH, sıcaklık gibi iç ortam faktörlerinden etkilenmektedir. Probiyotikler, destekleyici herhangi bir canlılık koruma yöntemi olmadan doğrudan kullanıldıklarında alımdan önce veya sonra canlılığını koruyamayarak faydalı fizyolojik aktivitelerini gerçekleştirme yeteneklerini kaybedebilmektedir. Bu amaçla, etken maddelerin taşıyıcısı olarak görev yapmak üzere toksik olmayan ve güvenli gıda bileşenlerinin veya biyo-esaslı malzemelerin kullanımına dayalı pek çok çalışma bulunmaktadır (Barragan vd., 2019; Cavalheiro vd., 2020; Campos vd., 2022).

## SONUÇ

Son yıllarda tüketicilerin sağlık ve beslenme odaklı taleplerini karşılamak amacıyla fizyolojik işlevlere sahip et ve et ürünlerinin geliştirilmesine büyük önem verilmektedir. Bu derlemede, et ürünlerinin fonksiyonelliğini arttırmak amacıyla ilave edilen probiyotikler, prebiyotikler ve sinbiyotiklerin ürün kalitesine etkisi irdelenmiştir. Araştırma sonuçları, probiyotik mikroorganizmalar, prebiyotikler ve

sinbiyotiklerin kullanımının et ürünlerinde patojenlerin gelişimini önlemek veya azaltmak, raf ömrünü arttırmak ve tüketici sağlığını iyileştirmek için yararlı ve etkili bir strateji olabileceğini göstermektedir. Ancak, yeni fonksiyonel et ürünlerinin insan sağlığı üzerindeki etkileri konusunda tartışmalı görüşler olduğu için bu ürünlerin geliştirilmesi ve pazarlanmasında hala bazı engeller bulunmaktadır. Bu nedenle bu derlemede irdelenen fonksiyonel bileşenlerin insan sağlığına olan faydalarının net olarak ortaya konulabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

## YAZAR KATKILARI

Makalenin derlenmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında tüm yazarlar katkı sağlamışlardır.

## KAYNAKLAR

- Alizadeh, A.M., Hosseini, H., Meybodi, N.M., Hashempour-Baltork, F., Alizadeh-Sani, M., Tajdar-oranj, B., Pirhadi, M., Khaneghah, A.M. (2020). Mitigation of potentially toxic elements in food products by probiotic bacteria: A comprehensive review. *Food Research International*, 152: 110324, doi: 10.1016/j.foodres.2021.110324.
- Barbosa, M.S., Todorov, S.D., Jurkiewicz, C.H., Franco, B.D.G.M. (2015). Bacteriocin production by *Lactobacillus curvatus* MBSa2 entrapped in calcium alginate during ripening of salami for control of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 47: 147-153, doi: 10.1016/j.foodcont.2014.07.005.
- Barragán-Martínez, L.P., Totosaus, A., de Lourdes Pérez-Chabela, M. (2019). Probiotication of cooked sausages employing agroindustrial coproducts as prebiotic co-encapsulant in ionotropic alginate–pectin gels. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(3): 1088-1096, doi:10.1111/ijfs.14259.
- Barros, J.C., Munekata, P.E.S., de Carvalho, F.A.L., Domínguez, R., Trindade, M.A., Pateiro, M., Lorenzo, J.M. (2021). Healthy beef burgers: Effect of animal fat replacement by algal and wheat germ oil emulsions. *Meat Science*, 173: 108396, doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108396.
- Bis-Souza, C.V., Penna, A.L.B., da Silva Barretto, A.C. (2020). Applicability of potentially probiotic *Lactobacillus casei* in low-fat Italian type salami with added fructooligosaccharides: in vitro screening and technological evaluation. *Meat Science*, 168: 108186, doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108186.
- Budak Bağdatlı, A., Kundakçı, A. (2013). Fermente et ürünlerinde probiyotik mikroorganizmaların kullanımı. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9(1): 31-37.
- Câmara, A.K.F.I., Ozaki, M.M., Santos, M., Vidal, V.A.S., Ribeiro, W.O., Paglarini, C.S., Bernardinelli, O.D., Sabadini, E., Pollonio, M.A.R. (2021). Olive oil-based emulsion gels containing chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage delivering healthy claims to low-saturated fat Bologna sausages. *Food Structure*, 28: 100187, doi: 10.1016/j.foostr.2021.100187.
- Campos, T.A.F., de Marins, A.R., da Silva, N.M., Matiucci, M.A., dos Santos, I.C., Alcalde, C.R., de Souza, M.L.R., Gomes, R.G., Feihmann, A.C. (2022). Effect of the addition of the probiotic *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) in free and microencapsulated form and the prebiotic inulin to synbiotic dry coppa. *Food Research International*, 158: 111544, doi: 10.1016/j.foodres.2022.111544.
- Candan, T., Bağdatlı, A. (2018). Et teknolojisinde alternatif ısıtma yöntemleri. *El-Cezerî Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5(2): 656-670, doi: 10.31202/ecjse.403806.
- Cason, E.E., Al Hakeem, W.G., Adams, D., Shanmugasundaram, R., Selvaraj, R. (2023). Effects of synbiotic supplementation as an antibiotic growth promoter replacement on cecal *Campylobacter jejuni* load in broilers challenged with *C. jejuni*. *Journal of Applied Poultry Research*, 32(2): 100315, doi: 10.1016/j.japr.2022.100315.
- Cavalheiro, C.P., Ruiz-Capillas, C., Herrero, A.M., Jiménez-Colmenero, F., Pintado, T., de Menezes, C.R., Fries, L.L.M. (2019). Effect of different strategies of *Lactobacillus plantarum* incorporation in chorizo sausages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99: 6706–6712, doi: 10.1002/jsfa.9952.
- Cavalheiro, C.P., Ruiz-Capillas, C., Herrero, A.M., Jimenez-Colmenero, F., Pintado, T., de Menezes, C.R. (2020). Effect of encapsulated *Lactobacillus plantarum* as probiotic on dry-sausages during chilled storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 55: 3613–21, doi: 10.1111/ijfs.14695.
- Chavan, A.R., Singh, A.K., Gupta, R.K., Nakhate, S.P., Poddar, B.J., Gujar, V.V., Purohit, H.J., Khardenavis, A.A. (2023). Recent trends in the biotechnology of functional non-digestible oligosaccharides with prebiotic potential. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 1-46, doi: 10.1080/02648725.2022.2152627.
- Coelho, S.R., Lima, Í.A., Martins, M.L., Benevenuto, J., Augusto, A., de Almeida Torres Filho, R., de Lemos Souza Ramos, A., Ramos, E.M. (2019). Application of *Lactobacillus paracasei* LPC02 and lactulose as a potential synbiotic

- system in the manufacture of dry-fermented sausage. *LWT - Food Science and Technology*, 102: 254-259, doi: 10.1016/j.lwt.2018.12.045.
- Correa, A.C., Lopes, M.S., Perna, R.F., Silva, E.K. (2024). Fructan-type prebiotic dietary fibers: Clinical studies reporting health impacts and recent advances in their technological application in bakery, dairy, meat products and beverages. *Carbohydrate Polymers*, 323: 121396, doi: 10.1016/j.carbpol.2023.121396.
- Cosme, F., Inês, A., Vilela, A. (2022). Consumer's acceptability and health consciousness of probiotic and prebiotic of non-dairy products. *Food Research International*, 151: 110842, doi: 10.1016/j.foodres.2021.110842.
- Cruz, B.C.S., Duarte, V.S., Dias, R.S., Bernardes, A.L., de Paula, S.O., Ferreira, C.L.L.F., Peluzio, M.C.G. (2022). Synbiotic modulates intestinal microbiota metabolic pathways and inhibits DMH-induced colon tumorigenesis through c-myc and PCNA suppression. *Food Research International*, 158: 111379, doi: 10.1016/j.foodres.2022.111379.
- Delikanlı, B., Özcan, T. (2014). Probiyotik içeren yenilebilir filmler ve kaplamalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2): 59-70.
- Dong, S., Li, L., Hao, F., Fang, Z., Zhong, R., Wu, J., Fang, X. (2023). Improving quality of poultry and its meat products with probiotics, prebiotics, and phytoextracts. *Poultry Science*, 22: 103287, doi: 10.1016/j.psj.2023.103287.
- Erginkaya, Z., Konuray-Altun, G. (2022). Potential biotherapeutic properties of lactic acid bacteria in foods. *Food Bioscience*, 46: 101544, doi: 10.1016/j.fbio.2022.101544.
- Felisberto, M.H.F., Galvão, M.T.E.L., Picone, C.S.F., Cunha, R.L., Pollonio, M.A.R. (2015). Effect of prebiotic ingredients on the rheological properties and microstructure of reduced-sodium and low-fat meat emulsions. *LWT - Food Science and Technology*, 60: 148-155, doi: 10.1016/j.lwt.2014.08.004.
- Gu, Q., Yin, Y., Yan, X., Liu, X., Liu, F., McClements, D.J. (2022). Encapsulation of multiple probiotics, synbiotics, or nutrabiobiotics for improved health effects: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 309: 102781, doi: 10.1016/j.cis.2022.102781.
- Özünü, O., Ergezer, H., Gökçe, R. (2019). Sağlıklı et ürünleri geliştirme stratejileri. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilim Dergisi*, 25(7): 839-845.
- Hurtado-Romero, A., Toro-Barbosa, M.D., Garcia-Amezquita, L.E., García-Cayuela, T. (2020). Innovative technologies for the production of food ingredients with prebiotic potential: Modifications, applications, and validation methods. *Trends in Food Science & Technology*, 104: 117-131, doi: 10.1016/j.tifs.2020.08.007.
- Illippangama, A.U., Jayasena, D.D., Jo, C., Mudannayake, D.C. (2022). Inulin as a functional ingredient and their applications in meat products. *Carbohydrate Polymers*, 275: 118706, doi: 10.1016/j.carbpol.2021.118706.
- Ishikawa, K., Hasegawa, R., Shibutani, K., Mikami, Y., Kawai, F., Matsuo, T., Uehara, Y., Mori, N. (2023). Probiotic-related *Clostridium butyricum* bacteremia: A case report and literature review. *Anaerobe*, 83: 102770, doi: 10.1016/j.anaerobe.2023.102770.
- İsmailoğlu Ö., Öngün-Yılmaz, H. (2019). Probiyotik kullanımının bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisi. *Sağlık Bilimleri ve Araştırmaları Dergisi* 1(1): 38-56.
- Jaworska, D., Neffe, K., Kolozyn-Krajewska, D., Dolatowski, Z. (2011). Survival during storage and sensory effect of potential probiotic lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus* Bauer and *Lactobacillus casei* Bif3'/IV in dry fermented pork loins. *International Journal of Food Science and Technology*, 46: 2491-2497, doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02772.x.
- Jung, J.T., Lee, J., Choi, Y.S., Lee, J.H., Choi, J.S., Choi, Y.I. (2018). Effect of rice bran and wheat fibers on microbiological and physicochemical properties of fermented sausages during ripening and storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(2): 302-314, doi:10.5851/kosfa.2018.38.2.302.

- Klinder, A., Forster, A., Caderni, G., Femia, A.P., Pool-Zobel, B.L. (2004). Fecal water genotoxicity is predictive of tumor preventive activities by inulin-like oligofructoses, probiotics (*Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis*), and their synbiotic combination. *Nutrition and Cancer*, 49(2): 144-155, doi: 10.1207/s15327914nc4902\_5.
- Kozan, H.İ., Sarıçoban, C. (2023). Effect of oat bran addition on the survival of selected probiotic strains in Turkish fermented sausage during cold storage. *Food Bioscience*, 54: 102820, doi: 10.1016/j.fbio.2023.102820.
- Leonard, W., Hutchings, S.C., Warner, R.D., Fang, Z. (2019). Effects of incorporating roasted lupin (*Lupinus angustifolius*) flour on the physicochemical and sensory attributes of beef sausage. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(5): 1849–1857, doi: 10.1111/ijfs.14088.
- Macho-González, A., Bastida, S., Garcimartín, A., López-Oliva, M.E., González, P., Benedí, J., González-Muñoz, M.J., Sánchez-Muniz, F.J. (2021) Functional Meat Products as Oxidative Stress Modulators: A Review. *Advances in Nutrition*, 12: 1514–1539, doi: 10.1093/advances/nmaa182.
- Mafra, J.F., Cruz, A.I.C., de Santana, T.S., Ferreira, M.A., Araújo, F.M., Evangelista-Barreto, N.S. (2021). Probiotic characterization of a commercial starter culture used in the fermentation of sausages. *Food Science and Technology*, 41(1): 240-246, doi: 10.1590/fst.12120.
- Manassi, C.F., de Souza, S.S., Hassemmer, G.S., Sartor, S., Lima, C.M.G., Miotto, M., Lindner, J.D., Rezzadori, K., Pimentel, T.C., Ramos, G.L.P.A., Esmerino, E., Duarte, M.C.K.H., Marsico, E.T., Verruck, S. (2022). Functional meat products: Trends in pro-, pre-, syn-, para- and post-biotic use. *Food Research International*, 154: 111035, doi: 10.1016/j.foodres.2022.111035.
- Manoj, P.M., Mohan, J.R., Khasherao, B.Y., Shams, R., Dash, K.K. (2023). Fruit based probiotic functional beverages: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14: 100729, doi: 10.1016/j.jafr.2023.100729.
- Manzoor, S., Wani, S.M., Mir, S.A., Rizwan, D. (2022). Role of probiotics and prebiotics in mitigation of different diseases. *Nutrition*, 96: 111602, doi: 10.1016/j.nut.2022.111602.
- Nedelcheva, P., Denkova, Z., Denev, P., Slavchev, A., Krastanov, A. (2010) Probiotic strain *Lactobacillus plantarum* NBIMCC 2415 with antioxidant activity as a starter culture in the production of dried fermented meat products. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(1): 1624-1630, doi: 10.2478/V10133-010-0016-4.
- Özbay Doğu, S., Sarıçoban, C. (2015). Probiyotik et ürünleri ve beslenme. *Türk Tarım–Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(4): 183-189, doi: 20.500.12451/1310.
- Özer, C.O., Kılıç, B., Başyigit-Kılıç, G. (2016). In-vitro microbial production of conjugated linoleic acid by probiotic *L. plantarum* strains: Utilization as a functional starter culture in sucuk fermentation. *Meat Science*, 114: 24-31, doi: 10.1016/j.meatsci.2015.12.005.
- Paglarini, C.S., Furtado, G.F., Honório, A.R., Mokarzel, L., Vidal, V.A.S., Ribeiro, A.P.B., Cunha, R.L., Pollonio, M.A.R. (2019). Functional emulsion gels as pork back fat replacers in Bologna sausage. *Food Structure*, 20: 100105, doi: 10.1016/j.foostr.2019.100105.
- Pérez-Burillo, S., Mehta, T., Pastoriza, S., Kramer, D., Paliy, O., Rufián-Henares, J.Á. (2019). Potential probiotic salami with dietary fiber modulates antioxidant capacity, short-chain fatty acid production and gut microbiota community structure. *LWT - Food Science and Technology*, 105: 355–362, doi: 10.1016/j.lwt.2019.02.006.
- Pimentel, T.C., de Assis, B.B.T., Rocha, C.S., Marcolino, V.A., Rosset, M., Magnani, M. (2022). Prebiotics in non-dairy products: Technological and physiological functionality, challenges, and perspectives. *Food Bioscience*, 46: 101585, doi: 10.1016/j.fbio.2022.101585.
- Pintado, T., Herrero, A.M., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., Carmona P., Jiménez-Colmenero, F. (2015). Effects of emulsion gels containing bioactive compounds on sensorial, technological, and structural properties of frankfurters. *Food*

- Science and Technology International*, 22(2): 132–145, doi: 10.1177/1082013215577033.
- Rahman, U., Khan, M.I., Sohaib, M., Sahar, A., Ishaq, A. (2017) Exploiting microorganisms to develop improved functional meat sausages: A review. *Food Reviews International*, 33(2): 195-215, doi: 10.1080/87559129.2016.1175012.
- Reque, P.M., Brandelli, A. (2021). Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 114: 1–10, doi: 10.1016/j.tifs.2021.05.022.
- 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, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109682.
- Roselino, M.N., Sakamoto, I.K., Adorno, M.A.T., Canaan, J.M.M., de Valdez, G.F., Rossi, E.A., Sivieri, K., Cavallini, D.C.U. (2020). Effect of fermented sausages with probiotic *Enterococcus faecium* CRL 183 on gut microbiota using dynamic colonic model. *LWT - Food Science and Technology*, 132: 109876, doi: 10.1016/j.lwt.2020.109876.
- Rouhi, M., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A.M. (2013). Probiotic fermented sausage: viability of probiotic microorganisms and sensory characteristics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(4): 331-348, doi: 10.1080/10408398.2010.531407.
- Ruiz, J.N., Villanueva, N.D.M., Favaro-Trindade, C.S., Contreras-Castillo, C.J. (2014). Physicochemical, microbiological and sensory assessments of Italian salami. *Scientia Agricola*, doi: 10.1590/S0103-90162014000300005.
- Sáez-Orviz, S., Rendueles, M., Díaz, M. (2023). Impact of adding prebiotics and probiotics on the characteristics of edible films and coatings- a review. *Food Research International*, 164: 112381, doi: 10.1016/j.foodres.2022.112381.
- Santos, M., Ozaki, M.M., Ribeiro, W.O., Paglarini, C.S., Vidal, V.A.S., Campagnol, P.C.B., Pollonio, M.A.R. (2020). Emulsion gels based on pork skin and dietary fibers as animal fat replacers in meat emulsions: An adding value strategy to byproducts. *LWT - Food Science and Technology*, 120: 108895, doi: 10.1016/j.lwt.2019.108895.
- Selani, M.M., Shirado, G.A.N., Margiotta, G.B., Saldaña, E., Spada, F.P., Piedade, S.M.S., Contreras-Castillo, C.J., Canniatti-Brazaca, S.G. (2016). Effects of pineapple byproduct and canola oil as fat replacers on physicochemical and sensory qualities of low-fat beef burger. *Meat Science*, 112: 69–76, doi: 10.1016/j.meatsci.2015.10.020.
- Sirini N. Roldán, A. Lucas-González, R. Fernández-López, J. Viuda-Martos, M. Pérez-Álvarez, J.A., Frizzo, L.S., Rosmini, M.R. (2020). Effect of chestnut flour and probiotic microorganism on the functionality of dry-cured meat sausages. *LWT - Food Science and Technology*, 134: 110197, doi: 10.1016/j.lwt.2020.110197.
- Sirini, N., Stegmayer, M., Ruiz, M.J., Cuffia, F., Rossler, E., Otero, J., Soto, L., Lorenzo, J.M., Pérez-Álvarez, J.A., Rosmini, M., Frizzo, L. (2023). Applicability of the probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* BFL as an adjunct culture in a dry fermented sausage. *Meat Science*, 200: 109166, doi: 10.1016/j.meatsci.2023.109166.
- Slima, S.B., Trabelsi, I., Ktari, N., Kriaa, M., Abdeslam, A., Herrero, A.M., Jiménez-Colmenero, F., Ruiz-Capillas, C., Salah, R.B. (2020). Modeling the influence of functional additives in beef sausages using a Box-Benken design: Effects on quality characteristics. *Food Bioscience*, 35: 100572, doi: 10.1016/j.fbio.2020.100572.
- Trabelsi, I., Slimaa, S.B., Ktarib, N., Triki, M., Abdehedid, R., Abazaa, W., Moussac, H., Abdeslame, A., Salaha, R.B. (2019). Incorporation of probiotic strain in raw minced beef meat: Study of textural modification, lipid and protein oxidation and color parameters during refrigerated storage. *Meat Science*, 154: 29–36, doi: 10.1016/j.meatsci.2019.04.005.
- Vasconcelos, L. I. M., da Silva-Buzanello, R. A., Kalschne, D. L., Scremin, F. R., Bittencourt, P. R. S., Dias, J. T. G., Canan, C., Corso, M.P. (2021). Functional fermented sausages incorporated with microencapsulated *Lactobacillus plantarum* BG 112



- in Acrycoat S100. *LWT - Food Science and Technology*, 148: 111596, doi: 10.1016/j.lwt.2021.111596.
- Vasilev, D., Jovetic, M., Vranic, D., Tomovic, V., Jokanovic, M., Dimitrijevic, M., Karabasil, N., Vasiljevic, N. (2016). Quality and microflora of functional fermented sausages enriched with probiotic *L.casei* LC01 and prebiotic with KCl and CaCl<sub>2</sub> as NaCl substitutes. *Fleischwirtschaft*, 96(2): 96-102.
- Velázquez-González, F.G., Urquiza-Martínez, M.V., Manhães-de-Castro, R., Romero-Juárez, P.A., Bedolla-Valdez, Z.I., Ponce-Pérez, J.M., Farías-Gaytán, E., Vázquez-Garcidueñas, M.S., Vázquez-Marrufo, G., Toscano, A.E., Torner, L., Pérez-Villarreal, J., Guzmán-Quevedo, O. (2023). Chronic consumption of avocado seed (*Persea americana*) promotes a negative energy balance and body weight reduction in high-fat diet exposed mice: Implications for functional foods. *Journal of Functional Foods*, 108: 105751, doi: 10.1016/j.jff.2023.105751.
- Yu, D., Feng, M., Sun, J. (2020). Influence of mixed starters on the degradation of proteins and the formation of peptides with antioxidant activities in dry fermented sausages. *Food Control*, 123: 1-9, doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107743.
- Yuca, B., Topçu, İ., Yağcılar-Aydemir, H., Özer, C.O., Kılıç, B., Başığit-Kılıç, G. (2019). Effects of beta-glucan addition on the physicochemical and microbiological characteristics of fermented sausage. *Journal of Food Science and Technology*, 56(7): 3439-3448, doi: 10.1007/s13197-019-03830-6.
- Zhou, H., Zhuang, X., Zhou, C., Ding, D., Li, C., Bai, Y. (2020). Effect of fermented blueberry on the oxidative stability and volatile molecule profiles of emulsion-type sausage during refrigerated storage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(5): 812-824, doi: 10.5713/ajas.19.0094.
- Zhou, L., Han, F., Lu, K., Qiao, Y., Li E. (2023) Comparative study on prebiotic effects of different types of prebiotics in an in vitro fermentation by gut microbiota of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 574: 739687, doi: 10.1016/j.aquaculture.2023.739687.
- Zhuang, H., Li, X., Wu, S., Zhao, J., Gao, Y., Yan, H. (2022), Application of ginseng powder and combined starter culture for improving the oxidative stability, microbial safety and quality characteristics of sausages. *LWT - Food Science and Technology*, 166: 113749, doi: 10.1016/j.lwt.2022.113749.
- Xie, A., Zhao, S., Liu, Z., Yue, X., Shao, J., Li, M., Li, Z. (2023). Polysaccharides, proteins, and their complex as microencapsulation carriers for delivery of probiotics: A review on carrier types and encapsulation techniques. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242: 124784, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124784.



## THE EFFECT OF REDUCING THE SUGAR AND FAT CONTENT ON THE PHYSICAL AND SENSORY PROPERTIES OF CUPCAKES

**Mehmet Murat Karaoğlu\*, Negin Zabihollahi**

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

Received /Geliş: 16.08.2023; Accepted /Kabul: 19.12.2023; Published online /Online baskı: 05.01.2024

Karaoğlu, M.M., Zabihollahi, N. (2024). The effect of reducing the sugar and fat content on the physical and sensory properties of cupcakes. GIDA (2024) 49 (1) 39-51 doi: 10.15237/ gida.GD23094

Karaoğlu, M.M., Zabihollahi, N. (2024). Şeker ve yağ içeriğini azaltmanın top keklerin fiziksel ve duyuşal özelliklerine etkisi. GIDA (2024) 49 (1) 39-51 doi: 10.15237/ gida.GD23094

### ABSTRACT

In this study, the effect of reducing the sugar (50%, 100%) and fat (50%, 75%) content on the physical and sensory properties of cupcakes was investigated by using stevia and polydextrose as sugar and fat replacers, respectively. While reducing the fat content increased the density of the cake batter, it caused a decrease in the consistency values such as firmness, consistency, cohesiveness and viscosity index. Reducing the sugar content had the opposite effect, decreasing the batter density and significantly increasing the batter consistency. Reducing only sugar and only fat content showed better results than control, while reducing both sugar and fat content together negatively affected the textural properties of cakes. In general, reducing only sugar content decreased sensory satisfaction compared to reducing only fat content. The samples with only 50% reduced fat content were most liked in terms of all sensory parameters. It was concluded that only sugar or only fat contents can be reduced by 50% in cake production, especially considering the specific volume, textural and sensory properties.

**Keywords:** Cake, sugar reduction, fat reduction, physical properties, sensory evaluation

## ŞEKER VE YAĞ İÇERİĞİNİ AZALTMANIN TOP KEKLERİN FİZİKSEL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

### ÖZ

Bu çalışmada, şeker ve yağ ikame maddesi (sırasıyla, stevia ve polidekstroz) kullanılarak şeker (%50, %100) ve yağ (%50, %75) içeriğinin azaltılmasının top keklerin fiziksel ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Yağ oranının düşürülmesi kek hamurunun yoğunluğunu arttırırken, sertlik, konsistens, kohesivlik ve viskozite indeksi gibi kıvam değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Bununla birlikte, şeker içeriğinin azaltılması, hamur yoğunluğunu azaltarak ve hamur kıvamını önemli derecede artırarak ters yönde bir etkiye sahip olmuştur. Sadece şeker ve sadece yağ miktarının azaltılması kontrole göre daha iyi sonuçlar verirken, hem şeker hem de yağ miktarının birlikte azaltılması keklerin tekstürel özelliklerini olumsuz yönde etkilemiştir. Genel olarak, sadece şeker içeriğinin azaltılması, sadece yağ içeriğinin azaltılmasına göre duyuşal beğeniye azaltmıştır. Tüm duyuşal parametreler bakımından incelendiğinde, yağ içeriği %50 azaltılmış kek örneklerinin en çok beğenildiği görülmüştür. Kek üretiminde, özellikle özgül hacim, tekstürel ve duyuşal özellikler dikkate alındığında sadece şeker veya sadece yağ içeriklerinin %50 oranında azaltılabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Kek, şeker azaltılması, yağ azaltılması, fiziksel özellikler, duyuşal değerlendirme

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: mmurat@atauni.edu.tr

☎: (+90) 442 231 2492

☎: (+90) 442 231 5878

M. Murat Karaoğlu; ORCID no: 0000-0002-9919-8824

Negin Zabihollahi; ORCID no: 0009-0004-0762-282X

## INTRODUCTION

Cake is a food with a high calorie value and a variety that can appeal to people's taste in addition to being easy to prepare, delicious and satisfying. Since cake contains both satisfying and basic nutrients, it is the most produced and consumed product in the bakery industry after bread and biscuits (Gerçekaslan and Boz, 2018). Basic components in cake production; flour, milk, sugar, fat, egg and baking powder. Each component has a very important function in the formation of the volume, texture and sensory properties that make up the consumption quality of the cake. In the cake, the components that have the most important effect on the structure are flour, sugar, fat and egg. The flour creates the basic texture in the cake, while the egg has an important effect on the formation of the desired pore structure in the final product since it increases the stabilization of the gas cells in the cake batter (Hesso et al., 2015). In addition to being a sweetener, the sugar contributes greatly to the formation of the desired volume by incorporating air into the structure during mixing the batter. It also plays a role in the color formation (Sun et al., 2023). As in all bakery products, the fat is the most important component that creates the textural properties of the product. The fat shows this function by surrounding the air cells and increasing the interaction between starch and protein. It also increases the consumption quality of the final product with the formation of a soft and moist structure (Zhang et al., 2021).

In a standard cake formulation, whose basic component is wheat flour, the energy value of the product obtained is quite high due to the presence of significant amounts of sugar and fat. The fact that both its textural and sensory properties are preferred by consumers significantly increases the amount of consumption of cake, which is a food with a high energy value (Tuna, 2015). This situation causes important health problems especially in consumer groups such as obesity and diabetes patients (Yazar and Rosell, 2023).

In recent years, the understanding that most of the basic nutritional problems are closely related

to the consumption of foods containing high amounts of fat and sugar has led to the development of awareness of healthy nutrition in consumers and their cautious approach to foods containing high sugar and fat (Dündar et al., 2023). High fat and sugar intake in the diet leads to various health problems such as obesity, cancer, high blood cholesterol and coronary heart disease. Therefore, in recent years, the food industry and scientists have made great efforts to reduce sugar and fat content in processed products to meet conscious consumer demands (İnanç and Çınar, 2009). There are many fat and sugar replacers on the market. Stevia, obtained from the leaf of *Stevia rebaudiana* plant, is an important sugar replacer in food products that satisfies the requirements for low-calorie and high-intensity sweeteners in these products (Azevedo et al., 2015). Polydextrose is a complex carbohydrate formed of glucose, sorbitol and citric acid, which has been used in food as a low-caloric (1 kcal/g) bulking agent. It is used as a both fat and sugar replacer in baked goods (Kothalawala. Et al., 2018). In recent years, many studies have been conducted using stevia extract (Abdel-Salam et al., 2009; Karp et al., 2016; Giritlioğlu, 2017) and stevia leaves (Barakat and Abdulla, 2014; Kulthe et al., 2014; Buarnia et al., 2017; Özcan and Babaoğlu, 2017) to reduce the sugar content in cakes. In addition, in many studies, it has been investigated that the possibility of reducing the fat content by using various fat replacers in cakes and similar products (Doğan et al., 2012; Ang et al., 2017; Dadkhah et al., 2017; Mageed and Al-Abdullah, 2020). However, the number of studies on reducing both sugar and fat content by using stevia instead of sugar and polydextrose instead of fat is limited.

Increasing consumer awareness of healthy food consumption has led to an increased demand for low-calorie foods with reduced sugar and fat content. In this study, it was aimed to reduce sugar and fat content of the cake, which is a widely consumed bakery product in our country, by using different replacers (stevia and polydextrose) and to determine the most suitable formulation that preserves product quality.

**MATERIALS and METHODS**

**Materials**

Commercial cake flour (Birlık Un, Erzurum, Turkey) containing 11.75% moisture, 9.5% protein, 0.55% ash, and 30.0 mL zeleny-sedimentation, fine white table sugar (sucrose), soft margarine (Becel), egg, fresh milk, baking powder (Dr. Oetker, İzmir) were purchased from a local market. Stevia (Wisdom Natural Brands) and polydextrose (Litesse, Danisco) were used as sugar and fat substitutes, respectively.

**Cake Production**

In the research, cupcake production was carried out by preparing cake formulations with reduced sugar (0, 50%, 100%) and fat (0, 50%, 75%) content at different levels. In the formulations with 50% and 100% reduced sugar content, 0.25% and 0.5% stevia extract was used as sweetener on flour basis, respectively. In formulations with 75% reduced fat content, 25% polydextrose was used as fat replacer on flour

basis. The cake sample without reduced sugar and fat content was evaluated as control sample. The reduction levels of fat and sugar used in the research were determined as a result of preliminary tests. Additionally, polydextrose was used only in formulations with 75% reduced fat, as there were not many negative changes in cake mixes with 50% reduced fat. The cake production was carried out according to Karaoğlu et al., (2001) with some modifications. The order specified in the production flow chart in the Table 1 was followed for cake production. The cake batter was obtained by mixing the components in Table 1 with the help of a mixer (Arçelik, ARK 99 RS, Turkey) at medium speed. 60 grams of the obtained cake batter was poured into teflon cake molds and baked in an electric oven (Bosch, HBG635BS1/05, Munich, Germany). The baked cakes were cooled for 1 hour at room temperature, then, they were packaged in double-layered polyethylene bags and kept in laboratory conditions during the analyses.

Table 1. Formulation and production flow chart used in the cake production.

Cake formulation		Cake production flow chart	
Ingredients	%	Ingredients	Process
Flour	26.44	Egg white	Mixing (3 m)
Sugar	23.79	Sugar	Mixing (1 m)
Milk	19.83	Milk	Mixing (2 m)
Fat	13.22	Fat	Mixing (2 m)
Egg white	15.87	Flour+Baking powder + Stevia +Polydextrose	Mixing (4 m)
Baking powder	0.45		
Stevia*			
Polydextrose**			
			60 g batter (in greased pans)
			↓
			Cooking (175°C, 35m)

\*Stevia extract was used as a sugar replacer at a rate of 0.25% on flour basis in the formulations with 50% sugar reduction and 0.5% in the formulations with 100% sugar reduction.

\*\*Polydextrose was used as a fat replacer at a rate of 25% on a flour basis in the formulations with 75% reduced fat content.

**Analysis of the cake batter samples**

*Back extrusion test of batter*

Back extrusion test in cake batter was performed using TA.XTplus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, U.K). Batter samples (60 ml) were poured into the extrusion cell with internal diameter of 50 mm. The back extrusion test was performed at constant speed of 3 mm/s, 30 mm distance and 5 g trigger force using a cylindrical probe (40 mm diameter). The

textural parameters such as firmness, consistency, cohesiveness, and index of the viscosity were calculated from the resulting force-time curves using Texture Pro Software.

*Batter density*

Batter density was determined at ambient temperature (25°C) by dividing the weight of a standard container filled with batter by the weight

of an equal volume of water (g/cm<sup>3</sup>) (Majzoobi et al., 2012)

### **Analysis of the cake samples**

#### *Specific volume*

The volumes of the cake samples produced were determined according to the AACC Method 10.05.01 (AACC, 2010) using the principle of substitution with rapeseed. The specific volumes of the samples were calculated by dividing the volume values by the weight of the cake samples after they were taken out of the oven and rested for 1 hour.

#### *Color measurement*

The inner and crust color of the cake samples were determined by a colorimeter (CR-200, Minolta, Osaka, Japan). The total color change ( $\Delta E^*$ ) relative to the control cake sample was calculated using the L\*, a\* and b\* color values read and the equation below.

$$\Delta E = [(L_0 - L_1)^2 + (a_0 - a_1)^2 + (b_0 - b_1)^2]^{1/2}$$

In the given equation, L<sub>0</sub>, a<sub>0</sub>, and b<sub>0</sub> represent the color values of the control cake sample and L<sub>1</sub>, a<sub>1</sub>, and b<sub>1</sub> represent the color values of the cake samples with reduced sugar and fat content.

### **Texture profile analysis (TPA)**

Cake samples were evaluated using a texture analyser (TA.XTplus, Stable Micro Systems Ltd, Godalming, Surrey, U.K.) equipped with a 50 mm diameter cylindrical probe using a 5 kg load cell. Samples of 30 mm diameter and 20 mm height were prepared from the inner middle part of the cake. TPA test was carried out under conditions 40% compression rate, 30 g trigger force, 30 seconds waiting after first compression, 1 mm/s test speed. The data obtained were processed by Texture Expert Software (Stable Micro System, London, United Kingdom) and expressed as hardness, adhesiveness, cohesiveness, elasticity and chewiness.

### **Sensory Analysis**

The control sample and the cake samples with reduced fat and sugar content at different levels were evaluated by 10 trained panelists (5 male and 5 female, aged 22-30 years) for sensory attributes

such as appearance, color, aroma, taste, texture and overall acceptability. The 9-point hedonic scale was used for sensory evaluation. The sample with the highest acceptability was given 9 points and the least acceptable sample was given 1 point. Then, the average value of the scores given by the panelists was calculated.

### **Statistical Analysis**

Cake production was carried out in duplicate by preparing formulations with reduced sugar (0, 50%, 100%) and fat (0, 50%, 75%) contents at three different levels. Analysis of variance (ANOVA) was applied to the data obtained as a result of the three parallel analyzes, using the SPSS 22.0 package program (SPSS, version 18.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago, USA). The values found to be significant were subjected to the Duncan Multiple Comparison test.

## **RESULTS and DISCUSSIONS**

### **Features of cake batter samples**

Table 2 shows the density of the cake batter and the firmness, consistency, cohesiveness and viscosity index values obtained from the back extrusion test. Cake batter density is an indicator of the volume of air added to the dough and it is significantly affected by the cake formulation (Belorio et al., 2019). At all sugar levels, the reduction of fat content in cake formulation was effective in increasing the density of the cake batter. However, as the sugar content was reduced, the degree of increase in density seen with reducing the fat content decreased. The main function of the fat in the cake batter is to increase the stability of the air bubbles by surrounding them and to keep more air in the mixture with the formation of evenly distributed air bubbles (Psimouli and Oreopoulou, 2013). The increase in the density of the cake batter with the decrease in fat content is due to the fact that as the amount of fat decreases, the mentioned effect decreases and less air is kept in the batter. When the general effect of the amount of sugar on the cake batter density is examined, it is seen that the decrease in the sugar content has a decreasing effect on the batter density. The cake batter must be viscous enough to hold air bubbles and gases during mixing. Low viscosity batters do not have enough

structure to retain the air contained during mixing or the gas released by the baking powder (Rahmati and Tehrani, 2014). The decrease in the density of cake batter, caused by decrease in the amount of

sugar can be explained by the effect of the amount of sugar on the viscosity of the dough and the decrease in the total solid content of the dough.

Table 2. Density, firmness, consistency, cohesiveness and viscosity index values of cake batter samples with reduced sugar and fat content at different levels<sup>a</sup>.

Sugar Reduction (%)	Fat Reduction (%)	n	Density (g/cm <sup>3</sup> )	Firmness (g)	Consistency (g.s)	Cohesiveness (g)	Viscosity Index (g.s)
0	0(C)	2	118.31±0.50ef	74.14±1.60d	693.31±13.89d	45.01±1.10d	376.01±7.19d
	50	2	121.90±0.60c	57.10±3.01e	528.46±29.08e	33.07±1.78e	276.77±14.80e
	75	2	125.45±0.04a	38.54±2.47f	355.71±21.96f	21.37±1.14f	145.64±12.59f
	GA:	6	121.89±1.31A	56.60±6.59C	525.83±62.45C	33.15±4.36C	266.14±42.53C
50	0	2	120.14±0.10d	103.15±4.07c	956.76±34.68c	72.80±2.27c	587.20±18.73c
	50	2	121.50±0.49c	69.18±1.68d	648.49±17.50d	44.35±0.57d	368.08±6.05d
	75	2	123.63±0.23b	56.45±1.23e	522.81±11.28e	32.46±0.49e	268.48±4.81e
	GA:	6	121.76±0.65A	76.26±8.89B	709.35±82.19B	49.87±7.59B	407.92±59.76B
100	0	2	117.74±0.26f	168.96±1.97a	1536.41±16.80a	124.13±0.19a	972.40±4.42a
	50	2	119.31±0.48de	120.30±3.19b	1103.01±32.41b	84.10±2.79b	667.07±19.76b
	75	2	119.57±0.42de	67.28±1.56d	627.51±17.27d	42.86±0.02d	350.52±2.05d
	GA:	6	118.87±0.40B	118.60±18.60A	1088.98±166.32A	83.69±14.85A	663.33±113.66A
	P		**	**	**	**	**

<sup>a</sup>Means showed by the same letter are not statistically different from each other (p≥0.05),

\*\*P<0.01, C: Control, GA: General Average.

The textural properties of the cake batter such as firmness, consistency, cohesiveness and viscosity index significantly affect the quality of the final product (Agrahar-Murugkar et al., 2018). These parameters obtained from the graph drawn by the back extrusion test are closely related to each other and the increase in the values of these parameters means that the semi-solid material is more viscous and more resistant to flow (Murugkar et al., 2021). While consistency includes all the rheological properties of a substance such as viscosity, surface tension, cohesion, etc., cohesiveness refers to the strength between the internal bonds of a food (Rosenthal and Thompson, 2021). On the other hand, the viscosity index can be defined as an indicator of resistance to flow (Mohammadi-Moghaddama et al., 2020). Fat and sugar replacers cannot mimic all the of techno-functional properties of sugar and fat and hence they may have some undesirable effects on batter and final product properties (Majzooobi et al., 2020). At all sugar levels, the reduction of fat content was effective in reducing the firmness, consistency,

cohesiveness and viscosity index values of the cake batter. Since the decrease in the amount of fat in the formulation negatively affects the stability of the air bubbles in the cake batter (Kim et al., 2001), the density of the batter increased and the back-extrusion test parameters decreased depending on the increasing batter density. In other words, the fluidity of the cake batter increased and the resistance to flow decreased. When the general effect of the amount of sugar in the formulation on the mentioned textural properties of the cake batter is examined, it is seen that the decrease in the amount of sugar has an increasing effect on these properties. It is thought that sugar is mainly added to obtain the desired sweetness in the product, in addition, it is known that it significantly affects the rheological properties of the cake batter and accordingly the quality of the final product in bakery products such as cakes (Mousavivand et al., 2020). Sugar, which has hygroscopic properties (Milner et al., 2020), also functions as a softener. Therefore, the flowability of cake batter with reduced sugar

content decreased and an increase was observed in back extrusion test parameters.

### Features of cake samples

The specific volume values of the cake samples produced by reducing the sugar and fat content at different levels are shown in Fig. 1(A). The specific volume values of all cake samples with reduced sugar and fat content were higher than the control cake sample. As the fat content decreased, the specific volume values regularly decreased in the cake samples with 50% reduced sugar content, while a regular increase occurred in both the samples without reduced sugar content and sugar-free samples. In addition to textural properties, specific volume is an important quality

criterion that affects consumer preferences in bakery products such as cakes (Kim et al., 2017). When the specific volume values are examined, it is seen that the decrease in the amount of sugar and fat did not have a negative effect, as expected. It is thought that the formulation used in the research and other processing conditions may be effective in the formation of this situation. In the research, 25% polydextrose was used as a fat replacer in the cake samples with 75% reduced fat content. Contrary to the cake samples with 50% reduced sugar content, it is seen that the use of fat replacer is positively effective in terms of specific volume values if the fat content is reduced by 75% in the cake samples with no reduced sugar content and sugar-free.

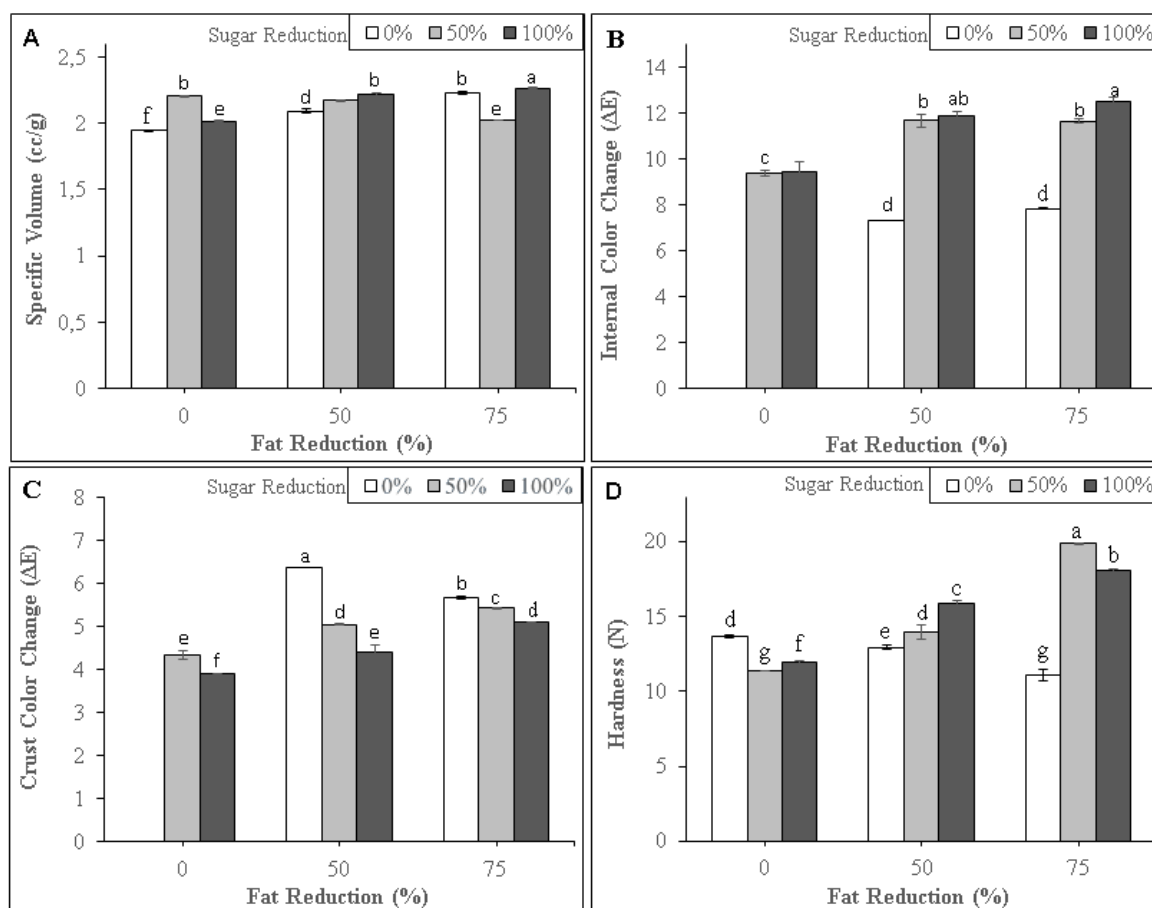


Figure 1. Specific volume (A), internal color change (B), crust color change (C) and hardness (D) values of cake samples with reduced sugar and fat content at different levels.

In chemically leavened cakes, starch gelatinization and protein denaturation, which occur simultaneously with the formation of carbon dioxide during baking, make the inside of the product porous (Agrahar-Murugkar et al., 2018). In bakery products such as cakes, in addition to the high volume, the fact that the internal structure of the product is porous and pores are generally small and homogeneously distributed are of great importance in terms of quality (Shobeiri et al., 2023). The increase in the number of pores in the product also causes an increase in volume. When the cake images produced in the study are examined (Fig. 2), it is seen that reducing only sugar content negatively affects the pore structure compared to the control sample.

However, it is also determined reducing only fat content did not cause much change in the size and homogeneity of the pore structure of the cakes. While the pore structure was negatively affected in the samples with reduced both sugar and fat content, it was generally better in the samples with 75% reduced fat content since polydextrose was used as a 25% fat replacer. Sugar adds sweetness to a product while fat improves its chewing properties. In addition, it is known that these two components perform the function of keeping air bubbles in the batter and ensuring their stability in the cake production. Therefore, reducing the sugar and fat content negatively affected the pore structure in general and the fat replacer was effective in eliminating this negative effect.



Figure 2. Cake samples produced by reducing the sugar and fat content at different levels (FR: Fat reduction, SR: Sugar reduction).

Color is an important quality criterion in bakery products as it directly affects the appearance of the product. While the inner color of the cake forms by affecting by the color of the ingredients used in the formulation, the crust color is formed by the Maillard reactions between amino acids and reducing sugars and the caramelization of sugars (Majzoobi et al., 2012). Total color change ( $\Delta E$ ) is the degree of overall color change of a

sample compared to the color values of the control sample. Compared to the control sample, the internal  $\Delta E$  values in the cake samples reduced sugar and fat content at different levels ranged from 7.31 to 12.51 (Fig. 1(B)) and the crust  $\Delta E$  values ranged from 3.89 to 8.36 (Fig. 1(C)). There was more change in the inner color of the cake compared to the crust color. It was determined that the inner color change of samples



with reduced both sugar and fat content, which did not differ statistically between themselves, was higher than the other samples. Since the internal temperature does not exceed 100°C during baking, Maillard and caramelization reactions, which are effective in the color formation, do not occur and therefore the inner color of cakes is primarily affected by the color of the ingredients in the composition (Majzoubi et al., 2012). In this study, since the amount of sugar (23.79%) and fat (13.22%) was high in the cake formulation produced, changing the amounts of these components caused significant changes in the inner and crust color of the final product. In the cake samples, the crust  $\Delta E$  values generally increased as the fat content decreased, while these values decreased with the decrease in sugar content at each fat level. In addition, lower of crust  $\Delta E$  values were detected in the cake samples with reduced only sugar content compared to samples with reduced both sugar and fat content. During the baking process, heat and mass transfer occur at high temperature, Maillard and caramelization reactions occur on the dehydrated cake surface, and surface color is formed (Agrahar-Murugkar et al., 2018). Changing the amount of sugar and oil in the composition caused significant color changes in naturally produced cakes.

Hardness can be characterized by the force required to deform (compress) a product at a certain rate (Karaoğlu and Kotancılar, 2009). The softness or hardness of the inside of the cake is one of the most important textural features in terms of the consumption quality of the product, as it is closely related to the perception of freshness in consumers (Chompoorat et al., 2020). In the samples where the amount of sugar alone was reduced, the hardness first decreased and then increased slightly, while in the samples where the amount of fat alone was reduced, the hardness values decreased steadily as the fat decreased (Fig. 1(D)). However, reducing the sugar and fat content together generally caused an increase in the hardness value of cake samples. In the study conducted by Milner et al. (2020), it was stated that reducing the sugar content by 30% did not have a significant effect on the hardness of

cakes. The hardness values increased regularly as the fat content was decreased in cake samples with 50% and 100% reduced sugar content. It is expected that reducing the amount of fat, which has a softening effect in bakery products (Psimouli and Oreopoulou, 2013) and the amount of sugar, which reduces moisture transfer from the interior to the crust due to its moisture retention feature (Milner et al., 2020), will cause an increase in hardness. In this study, the opposite effect was observed in the samples with reduced only sugar and only fat content while this effect was observed in the samples with reduced both sugar and fat content. The effect of fat in the samples where only the sugar content is reduced and the effect of sugar in the samples where only the fat content is reduced may have increased the softness. The increase in hardness of the samples, in which both components were reduced, supports this interpretation.

The effect of reducing the sugar and fat content on the textural properties of cake samples is given in Table 3. The adhesiveness value obtained as a result of the texture profile analysis of the inside of the cake was not affected in any way by the reduction of sugar and fat content, while the reduction of the sugar content was effective in reducing the cohesiveness value in general. On the other hand, the reduction of fat content in cakes containing sugar completely (sugar reduction 0%) did not have a statistically significant effect on the cohesiveness value, while the reduction of sugar content caused a significant decrease in cakes in which fat content was not reduced (full fat, fat reduction 0%). In the cake samples in which both sugar and fat content were reduced together, lower cohesiveness values were obtained compared to the other samples, being higher in sugar-free cakes. Cohesiveness is a critical textural property of cake. It is described as an indicator of the internal resistance of a food and is desired to be relatively high in order to better resist structural deformations in both cake batter and final product cake (Karaoğlu and Kotancılar, 2009). Fat acts as a softener in bakery products such as cakes. On the other hand, due to water-binding property, sugar plays a more active role in the formation of structure (Milner et al.,

2020). For this reason, a decrease was observed in the cohesiveness values, especially in the cake samples in which the sugar content was reduced. Elasticity in foods is an indicator of the ability to return to its original shape after mechanical stress has been applied and removed and chewiness is an indicator of the energy required to get ready to swallow a semi-solid food by chewing (Karaoğlu and Kotancılar, 2009). Reducing the sugar and fat content of the cake samples did not cause significant changes on elasticity values. There was a significant decrease in the chewiness values of

the cake samples with the reduction of sugar alone and the fat content alone. In addition, in the samples in which the sugar content was reduced by 50% and 100%, the chewiness value also decreased regularly as the fat content decreased. Since chewiness is a secondary parameter calculated by using the hardness, cohesiveness and elasticity values, it is significantly affected by the changes in these values. It is possible to say that the effect of hardness is great in this change. Therefore, the chewiness values showed a similar change to the hardness values.

Table 3. Textural properties of cake samples with reduced sugar and fat content at different levels<sup>a</sup>.

Sugar Reduction (%)	Fat Reduction (%)	n	Adhesiveness	Cohesiveness	Elasticity	Chewiness
0	0(C)	2	0.02±0.01a	0.71±0.01a	0.90±0.01a	9.19±0.27bc
	50	2	0.50±0.41a	0.71±0.00a	0.90±0.00a	8.32±0.22cd
	75	2	0.09±0.00a	0.72±0.01a	0.89±0.00a	6.18±0.21ef
	GA:	6	0.20±0.14A	0.72±0.00A	0.90±0.00A	7.89±0.57B
50	0	2	0.07±0.00a	0.66±0.00b	0.90±0.01a	6.97±0.49ef
	50	2	0.05±0.00a	0.64±0.00bc	0.90±0.01a	7.26±0.24de
	75	2	0.19±0.01a	0.64±0.01bc	0.89±0.00a	11.58±0.75a
	GA:	6	0.11±0.02A	0.65±0.00B	0.90±0.00A	8.60±0.97A
100	0	2	0.01±0.00a	0.60±0.01d	0.90±0.00a	5.86±0.33f
	50	2	0.01±0.00a	0.62±0.01cd	0.90±0.00a	9.07±0.08bc
	75	2	0.04±0.00a	0.62±0.01cd	0.89±0.00a	10.20±0.06b
	GA:	6	0.02±0.01A	0.61±0.01C	0.90±0.00A	8.38±0.82AB
P			--	**	*	**

<sup>a</sup>Means showed by the same letter are not statistically different from each other (p≥0.05),

\*P<0.05, \*\*P<0.01, C: Control, GA: General Average.

The effect of reducing the sugar and fat content at different levels on sensory properties such as appearance, aroma, taste, texture and overall acceptability of cake samples is shown in Fig. 3. In general, compared to the control sample, sugar-free cakes had lower sensory scores, while the cake samples with sugar reduction 0%, fat reduction 50% and 75% showed sensory characteristics close to the control group. In terms of taste, aroma and texture, the samples with no sugar and 75% reduced fat content received the lowest score, while the cake samples with only 50% reduced fat content were more appreciated than the control. In terms of general acceptability, samples with no sugar and 50% reduced fat content received the lowest score, while all

samples with 50% reduced sugar content scored close to the control group. On the other hand, the samples without reduced sugar content and only reduced fat content had higher values than the control group. Sugar and fat are two important components that affect product quality in cake production. In general, reducing the sugar content alone had more adverse effects on sensory properties than reducing the fat content alone. In the samples with reduced both sugar and fat content together, the samples in which the sugar content was reduced by 50%, were found to be superior in terms of sensory. Changes in sensory properties due to modifications in sugar and fat content are generally consistent with other studies (Milner et al., 2020). When all sensory parameters

are taken into account, it is seen that the cake samples with full of sugar content and 50% reduced fat content received the highest score.

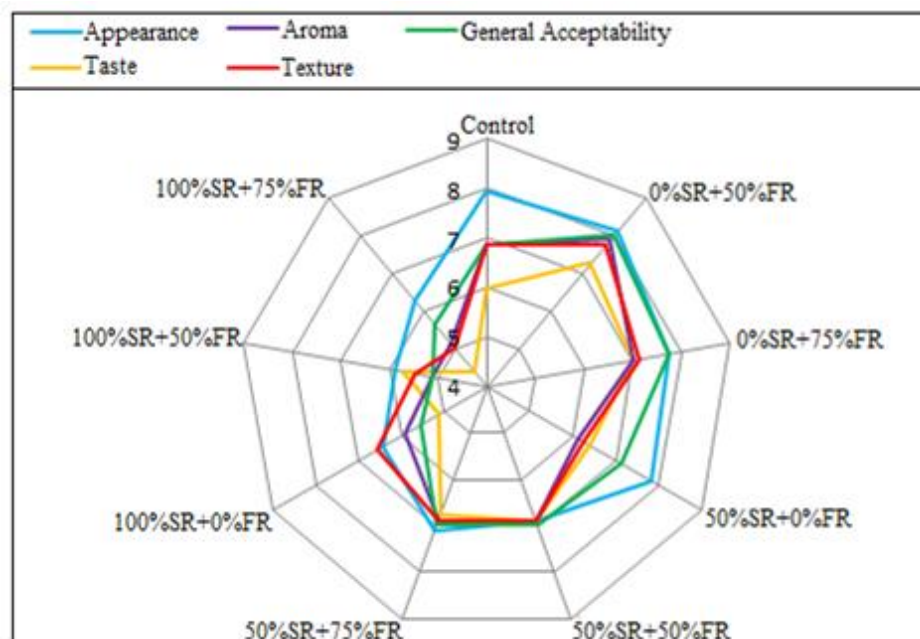


Figure 3. Sensory evaluation of cake samples with reduced sugar and fat content at different levels (SR: Sugar reduction, FR: Fat reduction).

## CONCLUSIONS

In this study, the effect of reducing the sugar and fat content at different levels on the quality of cakes was investigated in order to reduce its caloric value. Since sugar and fat are two important components in the cake production in terms of both quantity and function, changing their amounts in the formulation caused significant changes in the properties of both the cake batter and the final product. At all sugar levels, decreasing the amount of fat caused an increase in the density of the cake batter and a decrease in the hardness, consistency, cohesiveness and viscosity index values. Reducing the amount of sugar was effective in decreasing the density of the cake batter and increasing the hardness, consistency, cohesiveness and viscosity index values. Reducing the sugar and fat content had a positive effect on the specific volume. In the cake samples with 50% reduced sugar content, the specific volume values decreased as the fat content decreased, while an increase occurred in the specific volume with the decrease in fat

content in both samples with no reduced sugar content and sugar-free. Reducing the sugar and fat content caused a significant color change, more in the interior compared to the crust. Compared to the control sample, the hardness values of the cake samples with only sugar and only fat reduction had lower hardness values while the cake samples with reduced both sugar and fat content had higher hardness values. When all sensory parameters were taken into account, it was observed that the samples with only 50% reduction fat content were most appreciated.

## CONFLICT OF INTEREST

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

The authors declare that they have contributed equally to the article.

## ETHICAL APPROVAL

Ethical approval is not required for this research.

## REFERENCES

- AACC (2010). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of Analysis 11th Edition, Cereals & Grains Association: St. Paul, MN, U.S.A.
- Abdel-Salam, A.M., Ammar, A.S., Galal, W.K. (2009). Evaluation and properties of formulated low calories functional yoghurt cake. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 7(2): 218-221.
- Agrahar-Murugkar, D., Zaidi, A., Dwivedi, S. (2018). Development of gluten free eggless cake using gluten free composite flours made from sprouted and malted ingredients and its physical, nutritional, textural, rheological and sensory properties evaluation. *Journal of Food Science and Technology* 55: 2621-2630. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3183-1>
- Ang, E.M., Abdullah, N., Muhammad, N., Lizardo, R.C.M. (2017). Effect of formulation with papaya sauce as fat replacer on butter cake texture. *Journal of Science Technology* 9(4): 56-63. <https://publisher.uthm.edu.my/ojs/index.php/JST/article/view/2088>
- Azevedo, B.M., Schmidt, F.L. & Bolini, H.M.A. (2015). High-intensity sweeteners in spresso coffee: ideal and equivalent sweetness and time-intensity analysis. *International Journal of Food Science & Technology* 50: 1374-1381. DOI10.1111/ijfs.12774
- Barakat, A., Abdulla, G. (2014). Use of sucralose and stevia leaves extract in producing low calorie bakery products. *Zagazig Journal of Agriculture Research* 41(3):575-586.
- Belorio, M., Sahagún, M., Gómez, M. (2019). Psyllium as a fat replacer in layer cakes: batter characteristics and cake quality. *Food Bioprocess Technology* 12: 2085-2092. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02362-3>
- Buarnia, P., Goyal, M., Dunkwal, V., Rathore, R. (2017). Development and quality evaluation of stevia based cake and biscuits. *Food Science Research Journal* 8(1): 64-69. <https://doi.org/10.15740/HAS/FSRJ/8.1/64-69>
- Chompoorat, P., Kantanet, N., Hernández Estrada, Z.J., Rayas-Duarte, P. (2020). Physical and dynamic oscillatory shear properties of gluten-free red kidney bean batter and cupcakes affected by rice flour addition. *Foods* 9(5): 616. <https://doi.org/10.3390/foods9050616>
- Dadkhah, A., Elhami Rad, A.H.E., Azizinezhad, R. (2017). Effect of pumpkin powder as a fat replacer on rheological properties, specific volume and moisture content of cake. *Banat's Journal of Biotechnology* 8(16): 116-126. <https://doi.org/10.7904/2068-4738>
- Doğan, İ., Akbaş, Ö., Tunçtürk, Y. (2012). Use of exopolysaccharide in fat reduced cake production. *Food/Gıda* 37(3): 41-148. <https://dergipark.org.tr/en/pub/gida/issue/6929/92519>
- Dündar, A.N. , Şahin, O.I., Sarıcaoğlu, F.T. (2023). Low-fat cookies with chlorella vulgaris: effects on dough rheology, physical, textural and sensory properties of cookies. *Food/Gıda* 48: 526-544.
- Gerçekaslan, K.E., Boz, H. (2018). Effect of addition of carob flour on physical, sensory and textural properties of cocoa cake. *Iğdır University Journal of The Institute Science and Technology* 8(1): 95-101. <https://doi.org/10.21597/jist.407844>
- Giritlioğlu, E. (2017). A Research on the Development of New Biscuit and Cake Formulas Using Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) and Sugar Grass (*Stevia rebaudiana Bertoni*). Osmaniye Korkutata University, Institute of Natural and Applied Sciences, MSc Thesis, Osmaniye/Turkey, 111 p.
- Hesso, N., Loisel, C., Chevallier, S., Marti, A., Le-Bail, P., Le-Bail, A., Seetharaman, K. (2015). The role of ingredients on thermal and rheological properties of cake batters and the impact on microcake texture. *LWT-Food Science and Technology* 53(2): 1171-1178. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.041>
- İnanç, A., Çınar, İ. (2009). Alternative natural sweetener: Stevia. *Journal of Food* 34(6): 411-415. <https://dergipark.org.tr/en/pub/gida/issue/6864/91972>

- Karp, S., Wyrwisz, J., Kurek, M., Wierzbicka, A. (2016). Physical properties of muffins sweetened with steviol glycosides as the sucrose replacement. *Food Science Biotechnology* 25(6): 1591-1596. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0245-x>
- Kim, J.R., Ahn, E.Y., Das, H., Jeong, Y.H., Hong, S.T., Miles, M., Lee, K.J. (2017). Effect of tool geometry and process parameters on mechanical properties of friction stir spot welded dissimilar aluminum alloys. *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing* 18: 445-452. <https://doi.org/10.1007/s12541-017-0053-0>
- Karaoğlu, M.M., Kotancilar, H.G., Çelik, İ. (2001). Effects of utilization of modified starches on the cake quality. *Starch/Stärke* 53 (3-4):162-169. [https://doi.org/10.1002/1521-379X\(200104\)53:3/4<162::AID-STAR162>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1521-379X(200104)53:3/4<162::AID-STAR162>3.0.CO;2-6)
- Karaoğlu, M.M., Kotancilar, H.G. (2009). Quality and textural behaviour of par-baked and rebaked cake during prolonged storage. *International Journal of Food Science and Technology* 44: 93-99. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01650.x>
- Kothalawala S.G., Marasinghe S.P. (2018). review on effects of baking with fat, fat polymorphism and commonly used fat replacers. *International Journal of Research*. 5(15): 2775-2779. <https://edupediapublications.org/journals>
- Kulthe, A.A., Pawar, V.D., Kotecha, P.M., Chavan, U.D., Bansode, V.V. (2014). Development of high protein and low calorie cookies. *Journal of Food Science and Technology* 51(1): 153-157. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0465-2>
- Mageed, N.K., Al-Abdullah, B.Y. (2020). Manufacturing of low fat and calorie cake and study its qualitative and storing characteristics. *Tikrit Journal of Agriculture Science*. 20(2): 57-67.
- Majzoobi, M., Darabzadeh, N., Farahnaky, A. (2012). Effects of percentage and particle size of wheat germ on some properties of batter and cake. *Journal of Agriculture. Science and Technology* 14: 827-836
- Majzoobi, M., Mohammadi, M., Farahnaky, A. 2020. Simultaneous reduction of fat and sugar in cake production; effects of changing sucrose, oil, water, inulin, and Rebudioside A on cake batter properties. *Journal of Food Processing and Preservation* 44(10):e14733 <https://doi.org/10.1111/jfpp.14733>
- Milner, L., Kerry, J. P., O'Sullivan, M. G., Gallagher, E. (2020). Physical, textural and sensory characteristics of reduced sucrose cakes, incorporated with clean-label sugar-replacing alternative ingredients. *Innovative Food Science Emerging Technology* 59, 102235. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102235>
- Mohammadi-Moghaddam, T., Firoozzare, A., Shamspour, N. (2020). Black plum peel torshak: physicochemical properties, sensory attributes, and antioxidant capacity. *International Journal of Food Properties* 23(1): 1792-1803. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1833031>
- Mousavivand, H., Hojati, M., Jooyandeh, H., Barzgar, H., Zaki, H. (2020). Effect of replacement of sugar with grape syrup powder on characteristics of cupcake. *Journal of Food Research* 30(2): 175-188. <https://Sid.Ir/Paper/963577/En>
- Murugkar, D.A., Zanwar, A.A., Shrivastava, A., 2021. Effect of nano-encapsulation of flaxseed oil on the stability, characterization and incorporation on the quality of eggless cake. *Applied Food Research* 1(2): 100025. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2021.100025>
- Özcan, M.M., Babaoğlu, H.Ç. (2017). The effect of replacing sucrose with stevia (*Stevia rebaudiana*) leaf powder and extract on some physicochemical properties of cakes. *Journal of Agroalimentary Processes and Technology* 23(3): 181- 187.
- Psimouli, V., Oreopoulou, V. (2013). The effect of fat replacers on batter and cake properties. *Journal of Food Science* 78: 1495-1502. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12235>
- Rahmati, N.F., Tehrani, M.M. (2014). replacement of egg in cake: effect of soy milk on quality and sensory characteristics. *Journal of Food*

- Processing and Preservation* 39(6): 574-582.  
<https://doi.org/10.1111/jfpp.12263>
- Rosenthal, A.J., Thompson, P. (2021). What is cohesiveness? A linguistic exploration of the food texture testing literature. *Journal of Texture Studies* 52(3): 294-302. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12586>
- Shobeiri, M., Elhami Rad, A. H., Sheikholeslami, Z., Zenzian, M.S., Saedi Asl, M.R. (2023). The effects of quinoa and okra incorporation on the quality of diet cake. *Food Science and Technology International* 10820132221140615.  
<https://doi.org/10.1177/10820132221140615>
- Sun, B., Qian, X., Cui, G., Ma, S., Wang, X. (2023). Synergistic effect of combined sucrose substitutes and partially gelatinized oat flour on gluten-free steamed oat cakes produced only by oat flour. *Journal of Cereal Science*. 110: 103648, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103648>
- Tuna, H.E. (2015). Evaluation of Cherry, Pomegranate, Pumpkin and Apricot Seeds, Which are Food Wastes, in Cake Production. İstanbul Technical University, Institute of Natural and Applied Sciences, MSc Thesis, İstanbul/Turkey, 74 p.
- Yazar, G., Rosell, C.M. (2023). Fat replacers in baked products: their impact on rheological properties and final product quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 63(25): 7653-7676. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2048353>
- Zhang, Z., Zhou, H., Bai, Y. (2021). Use of glycosylated wheat protein in emulsions and its application as a fat replacer in microwave cakes. *Journal of Cereal Science* 100: 103256. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103256>



## ZEOLİTİK İMİDAZOLAT KAFES YAPISININ SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

Elif Atay\*, Aylin Altan

Mersin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mersin, Türkiye

Geliş/Received: 27.06.2023; Kabul /Accepted: 19.12.2023; Online baskı /Published online: 08.01.2024

Atay, E., Altan, A. (2024). Zeolitik imidazolat kafes yapısının sentezi ve karakterizasyonu. GIDA (2024) 49 (1) 52-67 doi: 10.15237/gida.GD23072

Atay, E., Altan, A. (2024). Synthesis and characterization of zeolitic imidazolate framework. GIDA (2024) 49 (1) 52-67 doi: 10.15237/gida.GD23072

### ÖZ

Zeolitik imidazolat kafes yapıları (ZIF'ler), geniş yüzey alanı, yüksek gözeneklilik, olağanüstü termal ve kimyasal kararlılık gibi ayırt edici özelliklerinden dolayı büyük ilgi görmektedir. ZIF'lerin yüzey alanını etkileyen morfolojik özelliklerini kontrol edebilmek için sentezlenen yapıların oluşumunda önemli rol oynayan sentez parametrelerinin etkisinin bilinmesi gerekmektedir. Bu çalışmanın amacı, gıda alanında uygulama potansiyalinin geliştirilmesi için ZIF-67 yapılarının farklı koşullar altında sentezlenmesidir. Sentezlenen malzemelerin morfolojileri (FE-SEM, polarize ışık mikroskobu), yüzey alanları (BET), kimyasal yapıları (FTIR) ve kristallikleri (XRD) incelenmiştir. Sentez esnasında TEA kullanılması ve kobalt nitrat ile 2-mIM konsantrasyonunun artırılması dodekahedron yapının bozulmasına sebep olmuştur. Metanol miktarı azaltıldığında ise ZIF-67 nanoparçacıklarının boyutlarının arttığı belirlenmiştir. Dodekahedron morfolojiye sahip ZIF-67 nispeten yüksek bir nitrojen sorpsiyonu ve BET yüzey alanı göstermekle birlikte, karakteristik C-H ve C=N germe zirvelerine de sahiptir. Elde edilen ZIF-67 yüklü nanoliflerin; gıda kirleticilerinin adsorpsiyonu, gıda paketleme sistemlerinin geliştirilmesi, gaz depolama ve biyosensörler gibi gıda uygulamaları için umut verici olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** ZIF-67, nanoparçacık, morfoloji, elektroçirime yöntemi, nanolif

## SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ZEOLITIC IMIDAZOLATE FRAMEWORK

### ABSTRACT

The aim of this study was to synthesize ZIF-67 nanostructures under different conditions to develop its application potential in the food field. Surface morphologies (FE-SEM, polarized light microscopy), surface areas (BET), chemical structures (FTIR) and crystallinity (XRD) of the synthesized materials were investigated. The use of TEA and increasing the concentration of 2-mIM with cobalt nitrate during the synthesis caused the distortion of the dodecahedron structure of ZIF-67s. The results showed that the size of the ZIF-67 nanostructures increased when the amount of methanol was reduced. The synthesized ZIF-67 nanostructures with dodecahedron-shaped morphology showed relatively high nitrogen sorption, BET surface area and characteristic C-H and C=N stretching peak. The ZIF-67 loaded nanofibers are believed to hold promise for various food applications such as adsorption of food contaminants, development of food packaging systems, gas storage and biosensors.

**Keywords:** ZIF-67, nanoparticle, morphology, electrospinning, nanofiber

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: eliffatay@gmail.com

☎: (+90) 324 361 0001

☎: (+90) 324 361 0032

Elif Atay; ORCID no: 0000-0002-8362-8543

Aylin Altan; ORCID no: 0000-0002-8042-5644

## GİRİŞ

Günümüzde gıda alanında risklerin tespiti, ortadan kaldırılması ve kontrolünde kullanılan teknolojilerin geliştirilmesi ve ilerlemesine yönelik önemli çabalar sarf edilmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmalar incelendiğinde, nanomalzemeler ve nanoteknolojinin önemi fark edilmektedir. Son yıllarda malzeme biliminin gelişmesiyle birlikte çeşitli karbon bazlı malzemeler (karbon nanotüpler ve grafen), manyetik nanoparçacıklar, metaller ve metal oksitler, kuantum noktaları ve metal-organik kafes yapıları (MOF) vb. gibi yeni malzemeler, arzu edilen özellikte materyallerin elde edilmesi için kullanılmaktadır (Zhang vd., 2020). Özellikle, metalik merkezlerin ve organik bağlayıcıların kendiliğinden bir araya gelmesiyle sentezlenen yeni bir gözenekli kristal malzeme sınıfı olan MOF'lar, gıda alanında büyük potansiyel göstermektedir. Gıda kirleticilerinin adsorblanması (ağır metaller, hormonlar ve toksik boyalar), biyoaktif molekül taşıyıcıları, katalizörler, gıda paketlenme sistemlerinin geliştirilmesi, gaz depolama, uçucu organik bileşikler algılama ve ayırma gibi farklı gıda uygulamalarında umut vaat etmektedirler (Magri vd., 2021). MOF'lar suda zayıf çözünmekle birlikte yüksek gözenekliliğe, yapısal kararlılığa ve yüzey-hacim oranına sahiptirler. İstenen koşullar altında tek tip gözenek şekilleri ve boyutlarının yanı sıra belirli işlevsellikler elde etmek için ayarlanabilen ve ayarlanabilen malzemelerdir (Magri vd., 2021). MOF yapılarının sentezi için, metallerin ve organik bağlayıcıların belirli sentez koşulları altında doğrudan reaksiyona girmeye zorlandığı bir yaklaşım yaygın olarak tercih edilmektedir. Solvotermal, hidrotermal, sonokimyasal, mekanokimyasal, elektrokimyasal ve mikrodalga gibi sentez yöntemleri metal organik kafes yapılarının üretilmesinde kullanılmaktadır (Chen vd., 2014). Solvotermal yöntem en yaygın kullanılan sentez yöntemi olmakla birlikte oda sıcaklığı gibi düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilebilmektedir. Çözücü olarak genellikle yüksek çözünürlükteki organik çözücüler (asetonitril, aseton, etanol, metanol, dimetilformamid, dietilformamid gibi) kullanılmaktadır. Çözücü olarak su kullanılması durumunda ise yöntem hidrotermal olarak

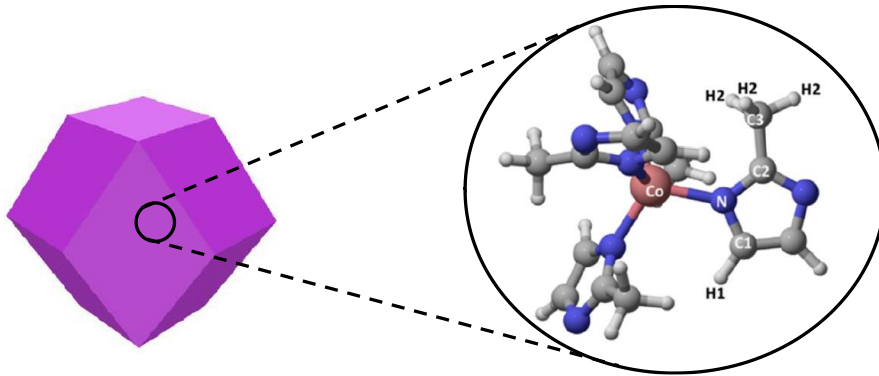
adlandırılmaktadır (Tranchemontagne vd., 2008). Sonokimyasal sentez yönteminde homojen ve nano boyutta MOF oluşumu gerçekleştirilebilmektedir (Son vd., 2008). Mekanokimyasal yöntem, bir bilyeli değirmen kullanılarak kısa sürelerde gerçekleştirilen yeşil ve verimli bir strateji olarak önemli bir potansiyel göstermektedir (Schlesinger vd., 2010). Endüstriyel ölçekte sürekli ve hızlı mikrokristal MOF üretimi elektrokimyasal yöntem kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemle elde edilen MOF'lar metal tuzlarından kaynaklı anyonların reaksiyona katılmaması nedeniyle yüksek saflıktadır (Campagnol vd., 2014). Mikrodalga yöntemi ile sentezde enerji direkt reaksiyona girecek reaktiflere iletildiğinden ısı transferi daha etkilidir ve kimyasal reaksiyonlar daha hızlı gerçekleşmektedir (Dong vd., 2015). Tüm bu yöntemler çözücü tipine, reaktiflerin konsantrasyonuna, başlangıç malzemelerinin molar oranına, reaksiyonun pH'ına, karşı iyonların varlığına, basınca, sıcaklığa ve zamana eşit derecede duyarlıdır. Kullanılan sentez koşullarının yanı sıra seçilen metal iyonları ve organik ligandlara bağlı olarak, MOF kristalleri farklı geometrilere (monoklinik, triklinik, trigonal, ortorombik, tetragonal, altıgen veya kübik) kristal yapıya sahip olabilmektedir (Magri vd., 2021).

Zeolitik imidazolat kafes yapıları (ZIF) kendi kendine montaj yaklaşımıyla oluşturulan MOF'ların yeni ve özel bir alt grubudur. ZIF'larda farklı olarak organik bağlayıcılar yerine imidazol bağlayıcılar kullanılmaktadır (Chen vd., 2014). ZIF'lar tetrahedral biçimli geçiş metallerinin (Fe, Co, Cu, Zn) imidazol bağlayıcılar kullanılarak uygun çözücü içinde reaksiyona girmesiyle oluşan kristal yapılardır (Zhang vd., 2020). ZIF'ların termal ve nem stabilitesi MOF türleri ile kıyaslandığında daha yüksektir. ZIF'ların sahip olduğu M-Im-M bağ uzunluğu ise MOF'ların sahip olduğu Si(Al)-O-Si(Al)' bağından daha uzundur (Zhang vd., 2020). M-Im-M bağ uzunluğundan kaynaklı ZIF yapılarının sahip olduğu büyük gözenek ve küçük kristal boyutu, bu yapıya yüksek yüzey alanı sağlamaktadır. Ultra yüksek gözeneklilik, üniform gözenek yapısı, geniş yüzey alanı, ayarlanabilir gözenek boyutları ve yüksek kimyasal stabilite dâhil olmak üzere bu



yapıların sahip olduğu benzersiz kimyasal ve fiziksel özellikler, gıda uygulamalarında büyük avantaj sunmakta ve ilgi görmelerini sağlamaktadır (Liu vd., 2018). ZIF malzemeleri farklı koşullar altında sentezlendiğinde yapıları ayarlanabilmekte ve çeşitliliği artırılabilir (Zhang vd., 2020). ZIF'lardan biri olan dodekahedron morfolojiye sahip ZIF-67, metal iyon ( $\text{Co}^{2+}$ ) ve organik bileşik (2-metilimidazol) kullanılarak sentezlenmektedir (Şekil 1). Yüksek stabilitesi, kolay, çevre dostu ve oda sıcaklığında sentezlenmesi nedeniyle ZIF-67, en çok dikkat çeken tipik ZIF'lardan biri haline gelmiştir (Zhong vd., 2018). ZIF-67'nin nanoyapıları ve ortalama parçacık boyutları, deney koşulları altında kontrol

edilerek ayarlanabilmektedir (Liu vd., 2020). Sahip oldukları güçlü Co–N bağları nedeniyle ZIF-67 nanoyapıları ısıtma sırasında deforme olmamaktadır. ZIF-67 nanoyapıları gaz adsorpsiyonu, moleküler ayırma, elektrokimyasal kataliz, sensörler ve benzeri gibi çeşitli uygulamalar için büyük potansiyel sunmaktadır (Zhong vd., 2018). Ayrıca elektrokimyasal uygulamalardaki performanslarının geliştirilmesi için, ZIF-67 yapılarının elektriksel iletkenliklerinin artırılması onları ilgi çekici hale getirmektedir. Bunun için aktif iletken maddelerin kapsülmesi veya iletken kaplama yapılması gibi çeşitli stratejiler araştırılmaktadır (Arif vd., 2020).



Şekil 1. ZIF-67'nin temel dodekahedron yapısı  
Figure 1. The basic dodecahedron unit of ZIF-67

Günümüzde, karbondioksit yayıcılar/emiciler, etanol yayıcılar, etilen emiciler, aroma salıcı/emici sistemler, nem ve oksijen tutucular ile zaman-sıcaklık göstergeleri gibi gıdanın faydalı ömrünü uzatmak için farklı aktif gıda temas malzemeleri üzerinde çalışılmaktadır. Literatüre göre MOF ve alt üyesi ZIF'ların verimli etilen süpürücüler olduğu belirtilmiştir (Bracone vd., 2016). Gıdaların kalitesi ve güvenliği mikroorganizma popülasyonu ile yakından ilişkilidir. Buna göre son zamanlarda, MOF ve alt üyesi ZIF'lar gıda kaynaklı hastalıkların ana nedenlerinden biri olan bakterilerin büyümesini azaltabilen veya önleyebilen antibakteriyel madde taşıyıcıları olarak ortaya çıkmaktadır (Liu vd., 2018; Zhong vd., 2018; Liu vd., 2020; Arif vd., 2020; Bracone vd., 2016; Alvarez vd., 2017; Gutierrez, 2018a; Gutierrez vd., 2017). Ayrıca gıda endüstrisinde kontrollü salım sistemleri aktif moleküllerin ince

bağırsakta daha iyi adsorpsiyonu için hedeflenen bölgede serbest bırakılmasını sağladığından yoğun ilgi çekmektedir. Aktif molekül yüklü yenilebilir  $\gamma$ -siklodekstrin, potasyum ve zirkonyum temelli MOF ve ZIF'lar gastrointestinal koşullar altında kontrollü salım yapılmasını sağlamaktadır (Gutierrez, 2018b; Gutierrez ve Alvarez, 2017; Ma vd., 2020). Bunlara ek olarak, MOF ve ZIF'lar son zamanlarda polimerik gıda ambalaj malzemeleri için aktif dolgu maddeleri olarak dikkat çekmektedir. Dolgu maddesi olarak kullanıldıklarında daha dirençli, opak ve su buharına karşı daha az geçirgen ambalaj malzemesi elde edilebilmekte ve nano-paketleme yapılabilmektedir (Sharanyakanth ve Radhakrishnan, 2020; Zhao vd., 2020). Biyokatalizörler, yüksek alan-hacim oranları sayesinde hammaddelerin ürünlere dönüşüm oranlarını artırmaktadır. Ancak bu malzemelerin

sentezi çok kontrol edilebilir değildir ve tekrar üretilebilirlikleri düşüktür. Güvenli ve ekonomik biyokatalizörlerin geliştirilmesi için MOF ve ZIF yapılarından faydalanılmaktadır (Samui vd., 2020; Navarro-Sanchez vd., 2019). Bunlarla birlikte, temel olarak gıdaların kimyasal kalitesini ve güvenliğini test etmek için sensörler tasarlanırken MOF ve ZIF malzemeleri kullanılabilir. Sahip oldukları özellikler sayesinde sensörün tepki gösterme hızını artırırken, hedef maddenin tespit limitini azaltmaktadırlar (Liu ve Yin, 2016; Hatamluyi vd., 2020). Gıda katkı maddeleri olarak işlev görebilen ve birçok gıda uygulamasında kullanılabilen aktif bileşikler ve enzimler düşük termal ve fizikokimyasal stabiliteye sahiptir. MOF ve ZIF yapıları kullanılarak gerçekleştirilen stabilizasyon sayesinde kullanım potansiyelleri artmaktadır (Gutierrez, 2019; Feng vd., 2015; Chen vd., 2018). Bu umut verici sonuçlara rağmen, MOF ve ZIF malzemelerinin gıda alanındaki araştırmaları çok kapsamlı değildir. Bu sebeple bu alanda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Nanoteknoloji tabanlı elektroegirme prosesi, fonksiyonel nanomalzemelerin tasarımı ve geliştirilmesi için kullanılan elektrohidrodinamik yöntemlerden biridir. Elektroegirmenin ana avantajları, sistemin basitliği, düşük maliyeti ve kısa sürede çok yönlü liflerin elde edilmesidir. Nanolifler sahip oldukları yüzey/hacim oranı, gözeneklilik ve mekanik direnç sayesinde biyosensörler için dikkat çeken nanomateriyaller haline gelmektedirler. Nanoliflerin geniş yüzey alanı, nanoliflerin yüksek miktarda biyomolekül içermesini ve analitler ile verimli bir şekilde etkileşime girerek biyosensör duyarlılığının artmasını sağlar. Ayrıca nanoliflerin yüksek gözenekliliği, daha fazla erişebilirlik ve kütle transferine karşı direncin düşük olmasını sağlayarak algılama yüzeyi boyunca analit difüzyonunu artırır. Nanolifli membranlar, biyoreseptörlerin etkin immobilizasyonunu sağlar ve bu sayede analizlerin iyi bir hassasiyette ve seçicilikte yapılması sağlanır (Altan ve Yılmaz, 2021). Genel olarak elektroegirme düzeneği yüksek voltaj güç kaynağı, şırınga sisteminden oluşan besleme ünitesi ve topraklanmış bir toplayıcıdan oluşmaktadır. Polimer çözeltisine

yüksek elektrik voltajı uygulandığında iğne ucundaki çözelti damlası elektrik ile yüklenmekte ve iki elektrot arasında oluşturulan yüksek voltaj sayesinde bir çekim alanı oluşmaktadır. Alan oluşturulduktan sonra çözelti damlası Taylor konisi olarak bilinen koni formunu almaktadır. Elektriksel kuvvet polimer çözeltisinin yüzey gerilimini yendiğinde polimer çözeltisi Taylor konisinin ucundan çıkarak polimer jeti oluşturur. Yüklü olan polimer jeti güçlü elektrik kuvveti sayesinde uzayarak çözücünün de buharlaşmasıyla birlikte lif halinde toplama plakasında rastgele bir şekilde birikir (Atay ve Altan, 2021).

Polilaktik asit (PLA), ucuz ve doğada bol miktarda bulunan şeker kamışı, nişasta ve mısır gibi hammaddelerden elde edilmektedir. Laktidin polimerizasyonu ve laktik asidin dehidrasyonu yöntemleri kullanılarak sentezlenen doğal polimerlerdendir. Biyobozunur polimerlerden olan PLA, düşük maliyetli, sürdürülebilir, güvenli ve kolay ulaşılabilir (Akbari vd., 2015). Ayrıca gıda ile teması uygun olan PLA, sahip olduğu bariyer ve mekanik özelliklerinden dolayı gıda sektöründe kullanım potansiyeline sahiptir. Elektroegirme yöntemine uygun bir polimer olmakla birlikte, üstün mekanik özelliklere sahip, işlenebilir ve bariyer özellikleri açısından güçlüdür (Zhang vd., 2017).

ZIF-67'lerin performansları farklı boyut ve morfolojilerinden büyük ölçüde etkileneceğinden, kristallerin boyutunu ve morfolojisini kontrol etmek önemlidir. Ancak literatür araştırmalarına göre, ZIF-67 materyalinin farklı koşullar altında sentezi ve karakterizasyonu nadiren araştırılmıştır (Liu vd., 2020; Guo vd., 2016; Mostafazadeh vd., 2018). Ayrıca gıda alanında ZIF-67 materyali ile elektroegirme yönteminin birlikte kullanıldığı yalnızca iki çalışma bulunmaktadır. Pahang ve arkadaşları (2023) çalışmalarında elektroegirme yöntemi kullanarak p(ST-Co-AC)/Co-ZIF-67/kitosan bazlı nanolif elde etmişlerdir. Co-ZIF-67@kitosan kafes yapısının p(ST-Co-AC) içerisine dâhil edilmesiyle, nanoliflerin gözeneklilik özelliklerinin ve yüzey alanının arttığı görülmüştür. Geliştirilen bu materyal, elma, domates, bal ve süt gibi gıda numunelerinde pestisit kalıntı analizi için kullanılmıştır. Elde

edilen sonuçlar, geliştirilen materyalin pestisitlerin ön konsantrasyon tahmini için umut verici olabileceğini göstermiştir. Diğer bir çalışmada ise ZIF-67 içeren poliakrilonitril (PAN) nanolifleri kullanılarak bir nanokompozit malzeme sentezlenmiştir (Riaz vd., 2020). Gözenekli 1D lif yapısına, çoklu katalitik aktif bölgelerine ve yüksek elektrik iletkenliğine bağlı olarak sentezlenen bu nanokompozit malzemenin  $H_2O_2$  algılama uygulamaları için yeni fırsatlar açabileceği çalışmada belirtilmiştir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde PLA biyopolimeri, ZIF-67 nanomateryali ile elektroğirme yöntemini içeren herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, gıda alanında uygulama potansiyalinin geliştirilmesi için ZIF-67 yapılarının farklı koşullarda sentezlenmesi ve incelenmesidir. Bu kapsamda ZIF-67 malzemesi farklı koşullar altında (kobalt miktarı değişimi, 2-metilmidazol (2-mIM) miktarı değişimi, metanol miktarı değişimi, trietilamin (TEA) miktarı değişimi, amonyum hidroksit miktarı değişimi ve yıkama işlemi) sentezlenmiştir. Sentezlenen malzemelerin morfolojileri (FE-SEM, polarize ışık mikroskobu), yüzey alanları (BET), kimyasal yapıları (FTIR) ve kristallikleri (XRD)

belirlenmiştir. Elektroğirme yöntemi ile ZIF-67 yüklü nanolifler elde edilmiş ve morfolojik görüntüleri incelenmiştir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Kobalt nitrat heksahidrat ( $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ), amonyum hidroksit ( $NH_4OH$ ) ve metanol Merck (Darmstadt, Almanya), kloroform ( $CHCl_3$ ) Carlo Erba (Val-de-Reuil, Fransa), trietilamin (TEA), 2-metilmidazol (2-mIM) ve dimetilformamit (DMF) ise Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) firmasından satın alınmıştır. Polilaktik asit (PLA) biyopolimeri, Natureworks (Blair, Nebraska, USA) firmasından temin edilmiştir.

### Deney tasarımı

Zeolitik imidazolat kafes yapılarını elde etmek kobalt nitrat heksahidrat miktarı %1.43, 3.59 ve 7.18 (a/h), 2-mIM miktarı %3.24, 8.11 ve 16.22 (a/h), metanol miktarı 10 ve 25 mL, TEA miktarı %8, amonyum hidroksit miktarı %30 ve yıkama işlemi için de saf su ve kloroform kullanılmıştır. Deney tasarımı detaylı olarak Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Deney tasarımı  
Table 1. Experimental design

Deney	Kobalt miktarı (%)	2-mIM miktarı (%)	MeOH miktarı (mL)	Trietilamin (TEA) miktarı (%)	Amonyum hidroksit miktarı (%)	Yıkama	ZIF eldesi
1	1.43	3.24	25	0	0	Saf su	+
2	3.59	8.11	10	0	0	Saf su	+
3	1.43	3.24	25	8	0	Saf su	+
4	1.43	3.24	25	8	30	Saf su	-
5	3.59	8.11	10	8	0	Saf su	+
6	7.18	16.22	10	0	0	Saf su	+
7	3.59	8.11	10	8	0	Kloroform	+

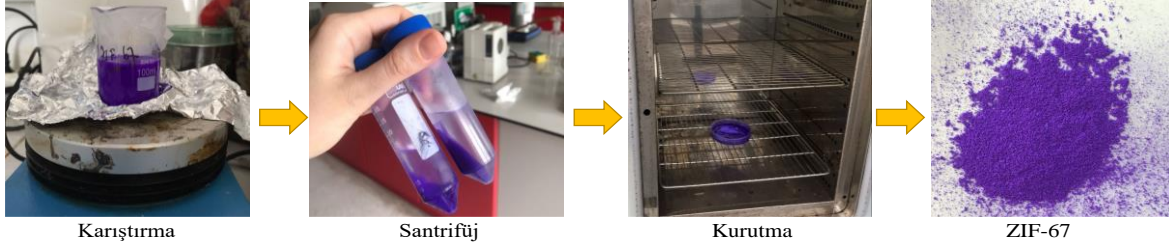
### ZIF-67 sentezi

ZIF-67 sentezi Meshkat ve diğerlerinin (2020) metoduna göre solvotermal yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Meshkat vd., 2020). Deney tasarımına göre belirlenen miktarlarda kobalt nitrat heksahidrat ve 2-mIM çözeltileri metanol içerisinde ayrı ayrı hazırlanmıştır. Daha sonra her

iki çözelti kuvvetli karıştırma altında hızla karıştırılmış ve koyu mor renk bir çözelti elde edilmiştir. Elde edilen çözelti oda koşullarında (25 °C) bir gece karıştırılmıştır. Karıştırmanın ardından çözelti 4500 rpm'de 30 dk santrifüjlenmiştir. Supernatanttan ayrılan kısım saf su ile yıkanmış ve kurutmak için 100°C bir etüvde

gece boyu bekletilmiştir (Şekil 2). Farklı koşullardaki ZIF-67 sentezi deney tasarımına göre gerçekleştirilmiştir. Deney tasarımına göre

üretilen malzemelerin sentez verimi Eşitlik 1 yardımıyla hesaplanmıştır (Geçgel, 2020).



Şekil 2. ZIF-67 sentezi için deney basamakları  
Figure 2. Experimental steps for ZIF-67 synthesis

$$\text{ZIF sentez verimi (\%)} = \frac{\text{Sentezde üretilen ZIF miktarı}}{\text{Teorik olarak üretilmesi gereken ZIF miktarı}} \times 100 \quad (1)$$

### ZIF-67 karakterizasyonu

*Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM)*

Elde edilen ZIF-67 nanoparçacıklarının morfolojik yapılarını analiz etmek için alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) (FEI, Quanta 650, USA) kullanılmıştır. Toz halindeki örnekler numune tutucusu üzerine yerleştirilerek platin kaplama işleminin ardından taramalı elektron mikroskobunda görüntülenmiştir.

*Yüzey alanı ölçümü (BET)*

ZIF-67 nanoparçacıklarının spesifik yüzey alanlarını değerlendirmek için Brunauer-Emmett-Teller (BET) modeli kullanılmıştır (Flihh ve Ammar, 2021; Konno vd., 2020; Yin vd., 2019; Li vd., 2016). Ölçüm için nanoparçacıklar sıvı azot ile farklı basınçlarda dengelenmiş ve deneysel adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi oluşturulmuştur. Azot adsorpsiyonu ve desorpsiyonu ile elde edilen izoterm verileri ile malzemelerin yüzey alanları ve gözeneklilikleri belirlenmiştir. Tüm ölçümler üç paralel halinde gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak rapor edilmiştir.

*Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometre analizi (FTIR)*

Kobalt nitrat heksahidrat ve 2-mIM kullanılarak elde edilen malzemelerin C-H, C=C gibi gerilme gruplarından dolayı meydana gelen etkileşimler

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometresi (FTIR) (Jasco FT/IR-6700, Japan) kullanılarak belirlenmiştir (Yin vd., 2021). Örneklerin FTIR spektrumları 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  aralığında 4  $\text{cm}^{-1}$  spektral çözünürlüğü ile elde edilmiştir.

*X-Işını difraktometresi (XRD)*

ZIF-67 nanoparçacıklarının yapısını ve kristallliğini belirlemek için X-ışını difraktometresi (XRD) (Rigaku, SmartLab, Japan) kullanılmıştır (Zhong vd., 2022; Yan vd., 2022). Kristallik değerleri Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Kristallik (\%)} = \frac{\text{Kristal tepe alanları}}{\text{Toplam alan}} \times 100 \quad (2)$$

*Elektroegirme yöntemi ile ZIF-67 yüklü nanolif üretimi*

ZIF-67 yüklü PLA nanoliflerinin üretimi tek başlıklı elektroegirme cihazı (NE 100, Inovenso, Türkiye) ile yapılmıştır. Yapılan ön denemelere göre PLA'nın çözelti içerisindeki konsantrasyonu %8.5, uygulanacak voltaj 8 kV, akış hızı 2 mL/sa ve besleme ünitesi ile toplayıcı arasındaki mesafe 15 cm olarak belirlenmiştir. Çözücü olarak kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) ve dimetilformamid (DMF) (9:1 h/h) kullanılmıştır. ZIF-67 nanoparçacıkları polimer ağırlığı üzerinden %0.2 (a/a) olacak şekilde PLA çözeltisine eklenmiştir. PLA biyopolimeri temelli ZIF-67 yüklü nanoliflerin morfolojik yapıları ve boyutları gibi özelliklerini analiz etmek için taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) kullanılmıştır. Nanoliflerin lif çapları hesaplanırken Image J (Image J, NIMH, Maryland, USA) görüntü analiz programı

kullanılmıştır. Alınan her bir görüntüde en az 100 farklı ölçüm yapılmıştır.

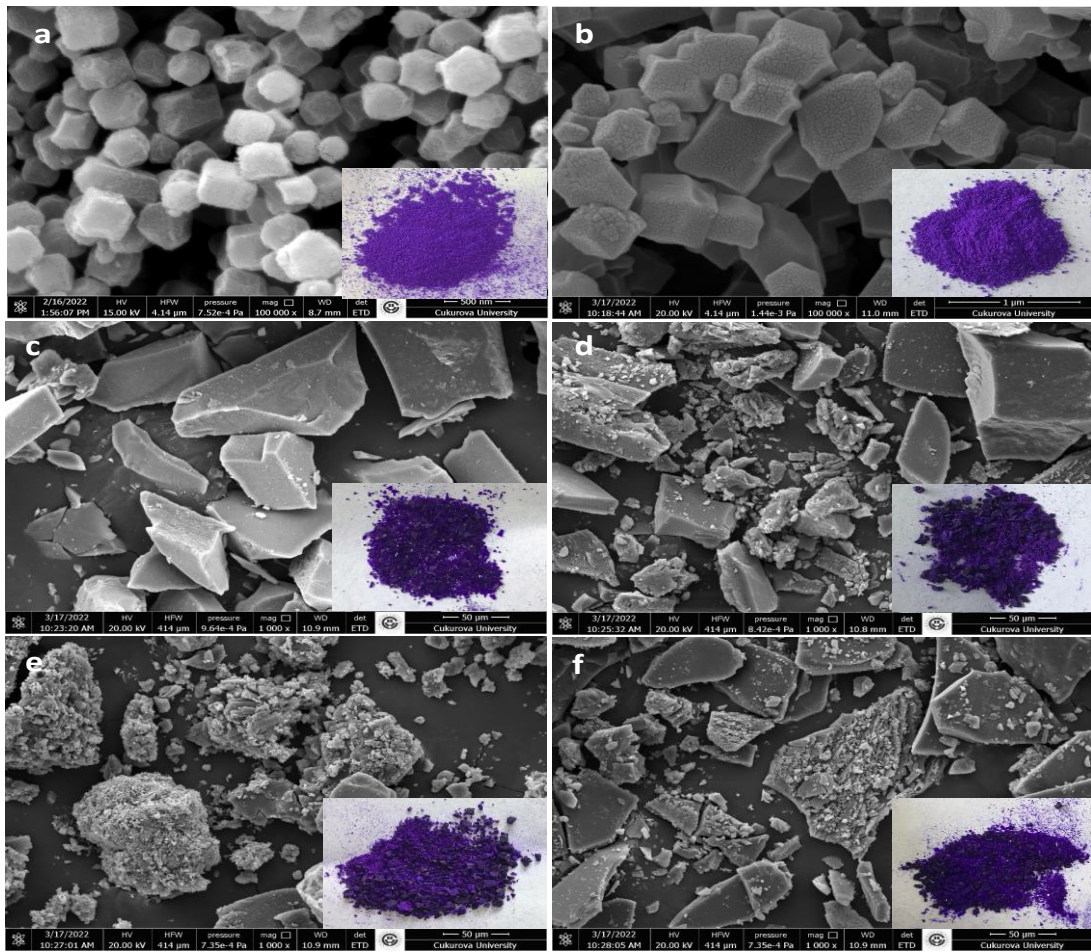
## BULGULAR VE TARTIŞMALAR

### Morfolojik analiz

Sentezlenen ZIF-67 malzemelerinin homojen ve yüksek yüzey-hacim oranına sahip olması gıda uygulamalarında etkinliklerinin geliştirilmesi ve uygulama alanındaki başarısı açısından önemlidir. Malzemelerin morfolojilerinin sahip oldukları yüzey-hacim oranı sayesinde işlevsellikleri artmaktadır.

Farklı koşullar altında sentezlenen ZIF-67'lerin morfolojileri Şekil 3'de gösterilmiştir. Şekil 3a'daki görüntüye sahip ZIF-67 daha önce bildirilenlere benzer olarak dodekahedron morfolojiye sahiptir

(Liu vd., 2020). Sentezlenen malzemenin 500 nm'den küçük boyutlarda olduğu belirlenmiştir (Şekil 4). Şekil 3a ve 3b'de, elde edilen ZIF-67 morfolojilerinde, farklı metanol miktarı için belirgin bir değişiklik gözlenmemekle birlikte, metanol miktarının azalması dodekahedron yapının bozulmasına sebep olmuştur. Ayrıca sentez esnasında kullanılan metanol miktarının 25 mL'den 10 mL'ye azaltılması ile birlikte nanoparçacıkların boyutlarının arttığı belirlenmiştir. Metanol miktarı 25 mL iken nanoparçacıkların boyutu  $344 \pm 76$  nm, metanol miktarı 10 mL'e azaltıldığında ise nanoparçacık boyutu  $401 \pm 78$  nm olmuştur (Şekil 4). Elde edilen mor renkli makroyapıya sahip ZIF-67'lerin dijital görüntülerine göre, TEA içermeyen örneklerde daha küçük boyutlu toz oluşumu gözlenmiştir.



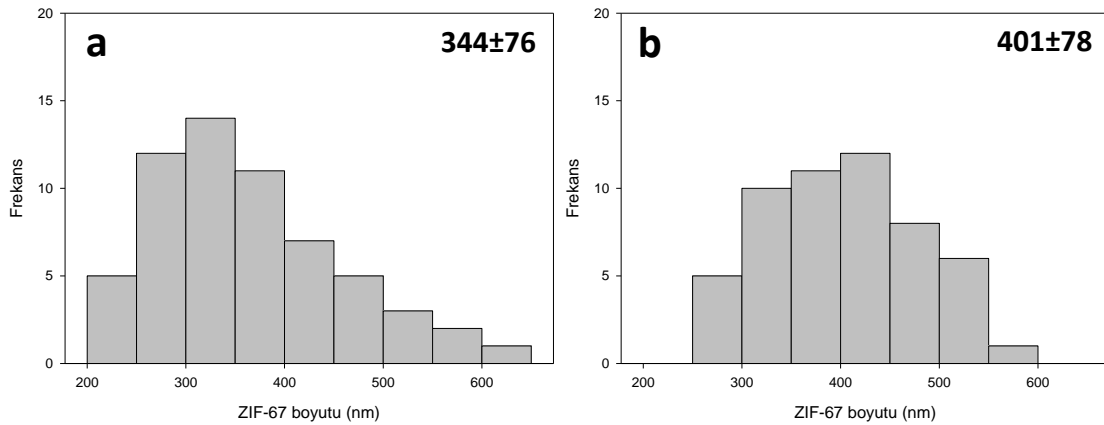
Şekil 3. ZIF-67 nanoparçacıklarının FE-SEM ve dijital görüntüleri a)deney 1, b)deney 2, c)deney 3, d)deney 5, e)deney 6, f)deney 7

Figure 3. FE-SEM and digital images of ZIF-67 nanoparticles a)run 1, b)run 2, c)run 3, d)run 5, e)run 6, f)run 7

Kullanılan çözücü, zeolitik imidazolat kafes yapılarının kristalizasyon sürecinde ve nihai özelliklerinde çok önemli rol oynayan bir parametredir. Protik çözücülerden olarak bilinen metanol, kristalleşme hızını değiştirebilmekte ve kütle transferini artırarak zeolitik imidazolat kafes yapılarının parçacık boyutunu ayarlayabilmektedir. Ayrıca, metanolün düşük viskozitesi daha fazla yayılmaya ve dolayısıyla yüksek kristalleşme hızına izin vermektedir (Tezerjani vd., 2021). Lai ve diğerleri (2014) yaptıkları çalışmada daha düşük miktarda metanol altında sentezlenen ZIF nanoparçacıklarının daha büyük parçacık boyutuna sahip olduğu sonucuna varmışlardır.

Zeolitik imidazolat kafes yapılarının sentezini etkileyen bir diğer unsurda kullanılan TEA miktarıdır. Şekil 3c, 3d ve 3e’de farklı miktarlarda TEA proton giderici ajan olarak kullanılmıştır (Khan vd., 2018). TEA yardımı olmadan sentezlenen malzemeler düzenli kristal yapı gösterirken, TEA varlığında sentezlenen ZIF-67’nin SEM görüntülerinde düzenli kristal yapı gözlenmemiştir. Literatürde TEA ilavesi ile ilgili

farklı sonuçlar bulunmaktadır. Khan ve diğerleri (2018) TEA’nın malzemeleri sentezlemek için çok önemli ve gerekli olduğunu ancak fazla kullanımının reaksiyonu olumsuz etkilediğini belirtmişlerdir. Liu ve diğerleri (2020) ise TEA yardımı olmadan hazırlanan malzemelerin düzenli kristal yapı göstermediğini, TEA varlığında sentezlenen ZIF-67’nin SEM görüntülerinde ise düzenli kristal yapının gözlendiğini bildirmişlerdir. Bu durum sonucunda TEA ilavesinin kristal oluşumu için faydalı olduğunu ortaya koymuşlardır. Li ve diğerleri (2016) ise TEA ilavesi olmayan malzemelerle karşılaştırıldığında, sentez sırasında TEA kullanıldığında kafes yapı partiküllerinin çok daha küçük boyutlu olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca sentez verimi de kullanılan TEA miktarından etkilenmektedir. Çalışma sonuçlarına göre TEA miktarındaki artış sentez verimini artırmıştır (Çizelge 2). Khan ve diğerleri (2018) TEA miktarı artırıldığında yüksek verim gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Reaksiyona giren bağlayıcılar üzerinde gruplar oluşturabilen metal çözeltilerinde fazla TEA kullanılması durumunda ise sentez veriminin düşeceğini belirtmişlerdir.



Şekil 4. ZIF-67 nanoparçacıklarının boyut dağılımı a)deney 1, b)deney 2

Figure 4. Particle diameter distributions with mean particle diameter of ZIF-67 a)run 1, b)run 2

Sonuçlar incelendiğinde sentez verimini etkileyen diğer faktörlerin ise kullanılan kobalt miktarı ve yıkama işlemi olduğu belirlenmiştir. Sentez esnasında kullanılan kobalt miktarı arttıkça sentez verimi artmaktadır. Reaksiyona giren metal çözeltileri miktarı arttıkça sentez veriminin artması

beklenen bir sonuçtur. Yıkama işleminde saf su yerine kloroform kullanılması da sentez verimini olumlu etkilemiştir. Su ve kloroform polar çözücülerdir. Dielektrik sabitleri kıyaslandığında ise suyun dielektrik sabiti 80.6 iken, kloroformun dielektrik sabiti 4.8’dir. Çözücülerin dielektrik

sabiti ne kadar büyük ise, yüklü partikülleri birbirinden ayırma yeteneği de o kadar kolaylaşmaktadır. Dielektrik sabiti düşük olan

kloroform yıkama işleminde kullanıldığında sentez verimini olumlu etkilemiş ancak morfolojiye fayda sağlamamıştır.

Çizelge 2. ZIF-67 nanoparçacıklarının sentez verimi (%), BET yüzey alanı ( $m^2/g$ ), gözenek çapı ( $\text{\AA}$ ) ve hacmi ( $cm^3/g$ )

Table 2. Synthesis efficiency (%), BET surface area of ZIF-67 ( $m^2/g$ ), pore diameter ( $\text{\AA}$ ) and volume ( $cm^3/g$ ) of ZIF-67 nanoparticles

Deney	Sentez verimi (%)	BET yüzey alanı $S_{BET}$ ( $m^2/g$ )	Gözenek çapı ( $\text{\AA}$ )	Gözenek hacmi ( $cm^3/g$ )
1	9.43±1.2	1252.85±97.78	6.22	0.21
2	27.38±3.4	182±24.75	4.52	0.13
3	57.00±5.7	1.83±0.41	-	-
4	0	0	-	-
5	68.50±4.4	1.60±0.35	-	-
6	87.00±6.4	0.88 ±0.14	-	-
7	88.50±5.4	0.93±0.11	-	-

ZIF-67 malzemesinin başarılı bir şekilde sentezlenebilmesi için kobalt nitrat ve 2-mIM miktarının uygun olması gerekmektedir. Şekil 3b ve 3e incelendiğinde, kobalt nitrat ve 2-mIM miktarının artırılması, morfolojinin bozulmasına neden olmuştur. Liu ve arkadaşları (2020) çalışmalarında ZIF-67 malzemelerinin düşük miktarda 2-mIM ve kobalt nitrat kullanarak başarılı bir şekilde sentezlendiğini ve kristal yapının oluştuğunu ifade etmişlerdir. Literatürde sentezlenen malzemelerin yüzey özelliklerini geliştirmek amacıyla amonyum hidroksit kullanıldığı görülmüştür (Khan vd., 2018). Bizim sonuçlarımıza göre ise amonyum hidroksit ZIF-67 malzemesinin oluşumunu engellemiştir. Ayrıca yıkama işleminde saf su yerine kloroform kullanılması morfolojik sonuçları etkilememiştir (Şekil 3f).

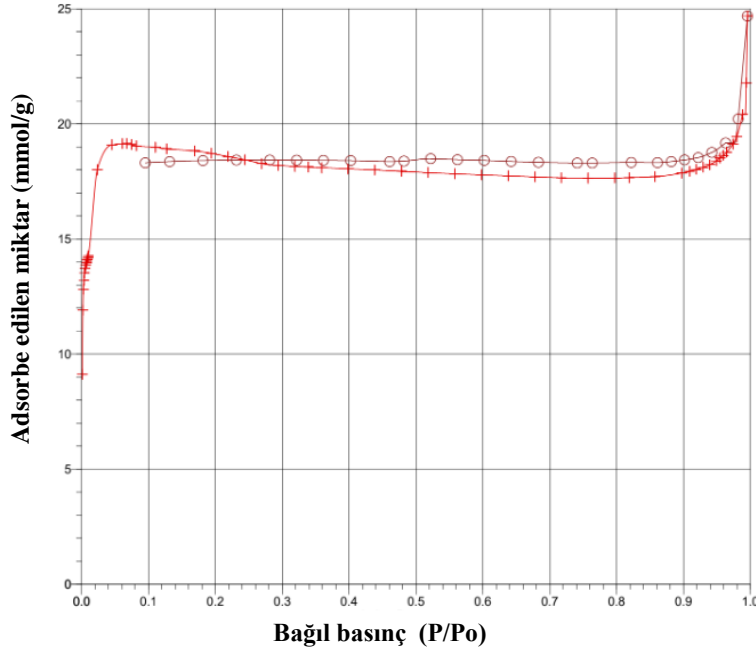
### ZIF-67 karakterizasyonu

Zeolitik imidazolat kafes yapılarının karakterizasyonunda yüzey alanı gibi parametrelerin belirlenmesi önemlidir. Yüzey alanında beklenen değerden sapmalar ZIF'in uygun şekilde saflaştırılmadığını veya aktive edilmediğini göstermektedir (Geçgel, 2020). Gıda uygulamalarında işlevselliklerinin artması için ZIF'ların yüksek yüzey alanına sahip olması istenmektedir. Şekil 5 ve Çizelge 2, sentezlenen ZIF-67 malzemelerinin  $N_2$  adsorpsiyon

izotermelerini ve BET yüzey alanlarını göstermektedir. Çalışmada TEA olmadan elde edilen ZIF-67'lerin yüzey alanı 1252.85 ve 182  $m^2/g$ 'dir (Çizelge 2). Literatürde ZIF-67 için BET yüzey alanı sonuçları 200-1600  $m^2/g$  arasında değişmektedir (Flihh ve Ammar, 2021; Konno vd., 2020; Yin vd., 2019; Li vd., 2016). Sentezlenen ZIF-67 nispeten yüksek bir nitrojen sorpsiyonu ve BET yüzey alanı göstermektedir. Sentez esnasında kullanılan metanol miktarının azaltılmasının nanoparçacık boyutunu artırmasının bir sonucu olarak, nanoparçacıkların yüzey alanı 1252.85'den 182  $m^2/g$ 'a düşmüştür. Dodekahedron morfolojiye sahip olmayan malzemelerin yüzey alanının 2  $m^2/g$ 'ın olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). Yüksek yüzey alanının yanında, ZIF-67 yapılarının diğer bir belirgin özelliği büyük gözenek boyutuna sahip olmalarıdır. Malzemelerin gözenek boyutlarının belirlenmesi karakterizasyonun önemli bir adımıdır. Sentezlenen ZIF-67 yapılarının gözenek çapı ve hacmi Çizelge 2'de verilmiştir. Gözenek çapı ve hacmi sonuçları, yüzey alanı sonuçlarını destekler niteliktedir. Yüzey alanı 1252.85 ve 182  $m^2/g$  olan malzemelerin gözenek çapı ve gözenek hacmi sırasıyla 6.22 ve 4.52  $\text{\AA}$  ve 0.21 ve 0.13  $cm^3/g$  olarak belirlenmiştir. TEA olmadan elde edilen dodekahedron morfolojiye sahip ZIF-67 için, düşük bir bağıl basınçta ( $P/P_0 < 0.1$ ) yüksek bir sorpsiyon adımı olduğu belirlenmiştir (Şekil 5).

Düşük bir bağıl basınçta adsorbe edilen  $N_2$  hacminin ani artışının sebebinin, sahip olduğu çok miktardaki mikro gözenekler olduğu düşünülmektedir (Yin vd., 2019). Elde edilen sorpsiyon adımının mikro gözenekli bir Tip I izotermi olduğu görülmüştür. ZIF-67, birbirine kuvvetli bir şekilde tutunmuş Co–N bağı ve N–

Co–N açısından oluşmaktadır. Bu sebeple, ZIF-67'nin denge adsorpsiyon miktarı yüksektir ve adsorbe edilen maddeler kolayca desorbe edilmemektedir (Krokidas vd., 2016). Dodekahedron morfolojiye sahip olmayan malzemelerin ise gözenek hacmi ve boyutu hesaplanamamıştır.



Şekil 5. Dodekahedron biçimli morfolojiye sahip ZIF-67'nin  $N_2$  adsorpsiyon izotermi  
Figure 5.  $N_2$  adsorption isotherm of the ZIF-67 with dodecahedron-shaped morphology

Kobalt nitrat heksahidrat ve 2-mIM kullanılarak elde edilen malzemelerin FTIR spektrumları Şekil 6'da verilmiştir. Dodekahedron morfolojiye sahip olan ZIF-67 nanoparçacığının  $2965\text{ cm}^{-1}$ 'de, dodekahedron morfolojiye sahip olmayan ZIF-67 nanoparçacığının ise  $2924\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik yapısı C–H grubu gerilmesinden dolayı meydana gelmektedir. C=N gerilmesinin sebep olduğu keskin pik yapıları  $1575$  ve  $1573\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenmiştir.  $1141$  ve  $991\text{ cm}^{-1}$ 'de oluşan pik yapısı C=N gerilmesinden kaynaklanmaktadır. Literatürde ZIF-67 için karakteristik FTIR pikleri  $3300\text{ cm}^{-1}$  (N–H),  $3000\text{ cm}^{-1}$  (C–H),  $1590\text{ cm}^{-1}$  (C=N),  $1145\text{ cm}^{-1}$  (C=N),  $990\text{ cm}^{-1}$  (C=N) ve  $420\text{ cm}^{-1}$  (Co–N) olarak verilmiştir (Meshkat vd., 2020; Yin vd., 2021; Liu vd., 2021; Li vd., 2018). Dodekahedron morfolojiye sahip olmayan nanoparçacıkta  $1630\text{ cm}^{-1}$ 'de ZIF-67 için

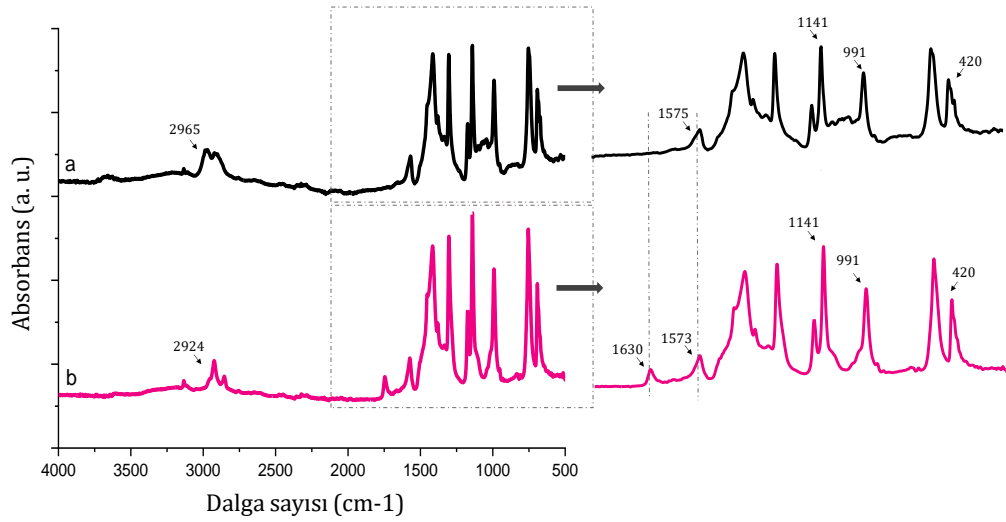
karakteristik olmayan bir pik yapısı gözlenmiştir.  $1630\text{ cm}^{-1}$ 'de oluşan bu pik yapısının nanoparçacıkların yüzeyindeki TEA kalıntısının neden olduğu geçici C–N titreşiminden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Qin et vd., 2011).

Sentezlenen ZIF-67 nanoyapısının XRD deseni Şekil 7'de gösterilmiştir. ZIF-67'lerin XRD modeli  $2\theta$ 'da  $7.32^\circ$ ,  $10.36^\circ$ ,  $12.70^\circ$ , ve  $18.00^\circ$ 'de zirvelere sahiptir. ZIF-67'nin standart XRD zirveleri  $2\theta = 7.39^\circ$ ,  $10.36^\circ$ ,  $12.79^\circ$ ,  $14.71^\circ$ ,  $16.45^\circ$ ,  $18.01^\circ$ ,  $22.19^\circ$ ,  $24.64^\circ$  ve  $26.72^\circ$ 'de iyi bir şekilde tanımlanmaktadır (Zhong vd., 2022). Bu temel pikler dışında elde edilen piklere, tepkimeye girmemiş maddelerin ya da yapının içindeki konuk moleküllerin neden olabileceği düşünülmektedir (Geçgel, 2020). Piklerin yüksek şiddetli olması, sentezlenen maddelerin kristal bir yapıda



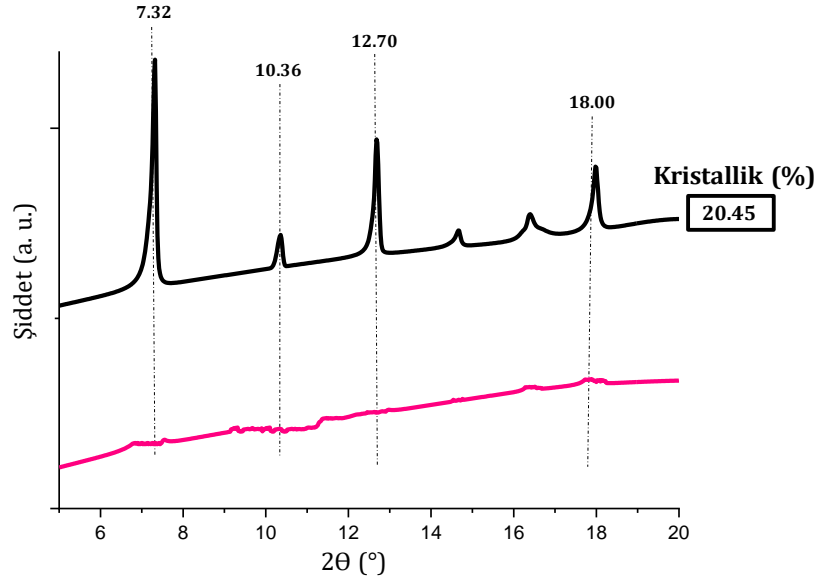
olduğunu göstermektedir. Dodekahedron morfolojiye sahip numunenin kristallığı %20.45 olarak belirlenirken, dodekahedron morfolojiye

sahip olmayan numunede kristallik gözlemlenmemiştir.



Şekil 6. ZIF-67 nanoparçacıklarının FTIR spektrumları a)ZIF-67'nin FTIR spektrumları a)dodekahedron morfolojiye sahip numune (deney 1), b)dodekahedron morfolojiye sahip olmayan numune (deney 3) <sup>-1</sup>

Figure 6. FTIR spectra of ZIF-67 nanostructures a) sample with dodecahedron-shaped morphology (run 1), b) sample without dodecahedron-shaped morphology (run 3)



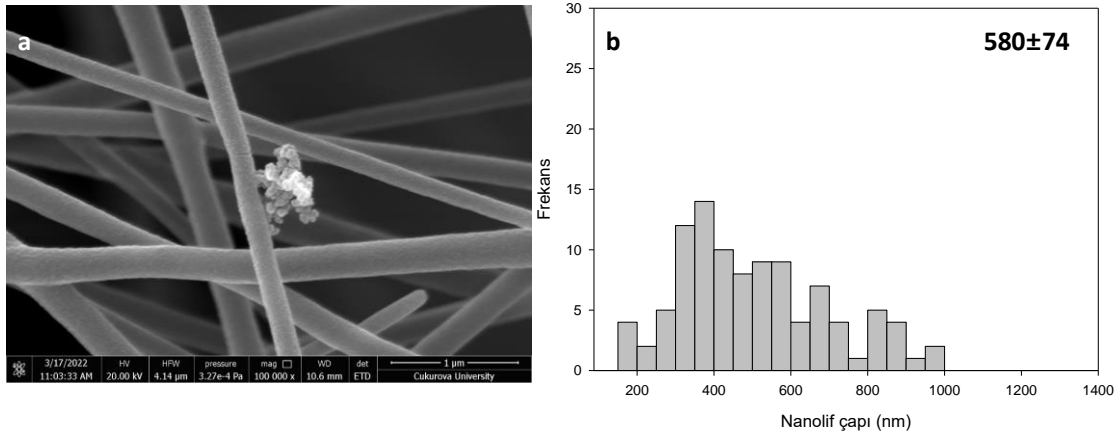
Şekil 7. ZIF-67 nanoparçacıklarının XRD desenleri a)dodekahedron morfolojiye sahip numune (deney 1), b)dodekahedron morfolojiye sahip olmayan numune (deney 3)

Figure 7. XRD design of ZIF-67 nanostructures a)sample with dodecahedron-shaped morphology (run 1), b)sample without dodecahedron-shaped morphology (run 3)

**ZIF-67 yüklü nanoliflerin morfolojik analizi**

ZIF-67 nanoyapılarının gıda kirleticilerinin adsorpsiyonu, gıda ambalaj sistemlerinin geliştirilmesi, gaz depolama ve sensör gibi farklı gıda uygulamalarında kullanılabileceği düşünülmektedir. Materyalin spesifik yüzey alanını arttırmak, sensörlerin algılama özelliklerini iyileştirmek için tercih edilen en güçlü stratejilerden biridir. Bir algılama malzemesinin yüzey alanının artırılması sonucu, ortamla etkileşim yeteneği o kadar yükselmektedir. Malzemelerin yüzey fonksiyonelliği ve boyutu göz önüne alındığında, sensörlerin performansını iyileştirmek ve yeni algılama sistemleri tasarlamak için nanomateryaller önemli bir rol oynamaktadır. Zeolitik imidazolat kafes yapıları, ultra yüksek gözeneklilik, geniş yüzey alanı, ayarlanabilir gözenek boyutları ve yüksek termal ve kimyasal stabilite dâhil olmak üzere benzersiz kimyasal ve fiziksel özellikleri nedeniyle farklı gıda uygulamalarında büyük ilgi görmektedir (Liu vd., 2018). Fonksiyonel malzemelerin geliştirilmesini

destekleyen diğer önemli nanomateryal elektroçirime yöntemi ile elde edilen nanoliflerdir. Bu nanoliflerin fonksiyonel özellikleri morfolojilerinden önemli ölçüde etkilenmektedir. Bu nedenle nanoliflerde boncuklu yapıların oluşmaması ve çap dağılımının homojen olması istenmektedir. Şekil 8'de sentezlenen PLA biyopolimeri temelli ZIF-67 yüklü nanoliflerin taramalı elektron mikroskobu ile elde edilen morfolojisi gösterilmiştir. Elde edilen nanoliflerde boncuklu yapı gözlenmemiş, homojen ve düzenli bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 8). ZIF-67 nanoparçacıkları nanoliflerinin yüzeyinde istenildiği gibi tutunduğu gözlenmiştir. PLA'nın polimer ağırlığı üzerinden %0.2 (a/a) oranında ZIF-67 nanoparçacıklarının ilave edilmesinin tüm yüzeyleri kaplamadığı ve yeterli olmadığı belirlenmiştir (Şekil 8a). Önümüzdeki dönemde yapılacak çalışmalarda kullanılan ZIF-67 nanoparçacıklarının miktarı (%) artırılması gerekmektedir.



Şekil 8. Elektroçirime yöntemi ile elde edilen PLA biyopolimeri temelli ZIF-67 yüklü nanoliflerin morfolojisi (a) ve çap dağılımı (b)

Figure 8. Morphology (a) and particle diameter distributions with average fiber diameter of ZIF-67 loaded nanofibers based on PLA biopolymer obtained by electrospinning (b)

**SONUÇ**

Yapılan bu çalışma sonucunda sentez parametrelerinin ZIF-67 malzemelerinin morfolojileri, yüzey alanları, kimyasal yapıları ve kristallikleri üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Ayrıca, elektroçirime yöntemi kullanılarak ZIF-67 yüklü nanolifler elde edilmiş ve morfolojileri incelenmiştir. Sentez parametrelerinde

değişiklikler yapılmasıyla ZIF-67'lerin karakteristik özelliklerinin etkileneceği ve farklı morfolojilerde malzemelerin elde edilebileceği görülmüştür. Sentez parametrelerinin kontrol edilmesiyle ZIF-67 malzemelerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin iyileştirilebileceği belirlenmiştir. Elde edilen malzemelerin dodekahedron morfolojide, yüksek kristallikte ve

gözenekli yapıya sahip olmasının farklı gıda uygulamaları açısından fayda sağlayacağı düşünülmektedir. ZIF-67 malzemelerinin dâhil edildiği nanofiblerin gıda kirleticilerinin adsorblanması, gıda paketleme sistemlerinin (aktif ve akıllı) geliştirilmesi ve biyosensör uygulamaları için ilham vereceği öngörülmektedir.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince (BAP), 2021-1-TP3-4179 nolu proje ile desteklenmiştir. Elif Atay, 100/2000 ve 2211-A BİDEB Doktora Burs Programı kapsamındaki finansal desteklerinden dolayı Yüksek Öğretim Kurulu'na (YÖK) ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) içtenlikle teşekkür etmektedir.

### KAYNAKLAR

Akbari, A., Majumder, M., Tehrani, A. (2015). Polylactic acid (PLA) carbon nanotube nanocomposites, *Handbook of Polymer Nanocomposites. Processing, Performance and Application*, 283-297, doi.org/10.1007/978-3-642-45229-1\_45.

Altan, A., Yılmaz, M. (2021). Advances in biosensors based on electrospun micro/nanomaterials for food quality control and safety. *Biosensors in Agriculture: Recent Trends and Future Perspectives*, 243-274, doi: 10.1007/978-3-030-66165-6\_13.

Alvarez, K., Fama, L., Gutiérrez, T. J. (2017). Physicochemical, antimicrobial and mechanical properties of thermoplastic materials based on biopolymers with application in the food industry, In M. Masuelli & D. Renard (Eds.), *Advances in Physicochemical Properties of Biopolymers*, Part 1: 358–400, Bentham Science Publishers, doi: 10.2174/9781681084534117010015.

Arif, D., Hussain, Z., Sohail, M., Liaqat, M. A., Khan, M. A., Noor, T. (2020). Non-enzymatic electrochemical sensor for glucose detection based on Ag@TiO<sub>2</sub>@ metal-organic framework (ZIF-67) nanocomposite. *Frontiers in Chemistry*, 8:573510, doi.org/10.3389/fchem.2020.573510.

Atay, E. Altan, A. (2021). Nanoencapsulation of black seed oil by coaxial electrospraying: characterisation, oxidative stability and *in vitro* gastrointestinal digestion. *International Journal of Food Science & Technology*, 56, 4526, doi.org/10.1111/ijfs.15209.

Bracone, M., Merino, D., Gonz'alez, J., Alvarez, V. A., Gutiérrez, T. J. (2016). Nanopackaging from natural fillers and biopolymers for the development of active and intelligent films. In S. Ikram, & S. Ahmed (Eds.), *Natural Polymers: Derivatives, Blends and Composites* (pp. 119–155), New York: Nova Science Publishers, ISBN: 978-1-63485-853-3.

Campagnol, N., Souza, E. R., De Vos, D. E., Binnemans K., Fransær, J. (2014). Luminescent terbium-containing metal–organic framework films: new approaches for the electrochemical synthesis and application as detectors for explosives. *Chemical Communications*, 2014, 50, 12545-12547, doi.org/10.1039/C4CC05742B.

Chen, B., Yang, Z., Zhu, Y., Xia, Y. (2014). Zeolitic imidazolate framework materials: recent progress in synthesis and applications. *Journal of Materials Chemistry A*, 2, 16811, doi.org/10.1039/C4TA02984D.

Chen, H., Qiu, Q., Sharif, S., Ying, S., Wang, Y., Ying, Y. (2018). Solution-phase synthesis of platinum nanoparticle-decorated metal-organic framework hybrid nanomaterials as biomimetic nanoenzymes for biosensing applications. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10 (28), 24108–24115, doi.org/10.1021/acsami.8b04737.

Dong, W., Liu, X. D., Shi, W., Huang, Y. (2015). Metal–organic framework MIL-53(Fe): facile microwave-assisted synthesis and use as a highly active peroxidase mimetic for glucose biosensing. *RSC Advances*, 5, 17451–17457, doi.org/10.1039/C4RA15840G.

Feng, D., Liu, T.-F., Su, J., Bosch, M., Wei, Z., Wan, W. vd. (2015). Stable metal-organic frameworks containing single-molecule traps for enzyme encapsulation. *Nature Communications*, 6 (1), doi.org/10.1038/ncomms6979.

Flihh, S. M., Ammar, S. H. (2021). Fabrication and photocatalytic degradation activity of

- core/shell ZIF-67@CoWO<sub>4</sub>@CoS heterostructure photocatalysts under visible light. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 16, 100595, doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100595.
- Geçgel, C. (2020). Fonksiyonelleştirilmiş metal organik kafes yapıların sentezi, karakterizasyonu ve katalitik etkileri, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Mersin.
- Guo, C., Xing, T., Lou, Y., Chen, J. (2016). Controlling ZIF-67 crystals formation through various cobalt sources in aqueous solution. *Journal of Solid State Chemistry*, 235, 107-112, doi.org/10.1016/j.jssc.2015.12.021.
- Gutierrez, T. J. (2018a). Active and intelligent films made from starchy sources/blackberry pulp. *Journal of Polymers and the Environment*, 26 (6), 2374–2391, doi.org/10.1007/s10924-017-1134-y.
- Gutierrez, T. J. (2018b). Processing nano- and microcapsules for industrial applications. In C. M. Hussain (Ed.), *Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications*, 989–1011. Elsevier Publishers, doi.org/10.1016/B978-0-12-813351-4.00057-2.
- Gutierrez, T. J. 2019. Antibiofilm enzymes as an emerging technology for food quality and safety. In M. Kuddus (Ed.), *Enzymes in Food Biotechnology: Production, Applications, and Future Prospects*, 321–342. doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00019-0.
- Gutierrez, T. J., Alvarez, K. (2017). Biopolymers as microencapsulation materials in the food industry. In M. Masuelli & D. Renard (Eds.), *Advances in Physicochemical Properties of Biopolymers*, Part 2: 296–322. Bentham Science Publishers, doi: 10.2174/9781681085449117010009.
- Gutierrez, T. J., Ponce, A. G., Alvarez, V. A. (2017). Nano-clays from natural and modified montmorillonite with and without added blueberry extract for active and intelligent food nanopackaging materials. *Materials Chemistry and Physics*, 194, 283–292, doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.03.052.
- Hatamluyi, B., Rezayi, M., Beheshti, H. R., Boroushaki, M. T. (2020). Ultra-sensitive molecularly imprinted electrochemical sensor for patulin detection based on a novel assembling strategy using Au@Cu-MOF/N-GQDs. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 318, 128219, doi.org/10.1016/j.snb.2020.128219.
- Khan, I. U., Othman, M. H. D., Jilani, A., Ismail, A. F., Hashim, H., Jaafar, J., Rahman, M. A., Rehman, G. U. (2018). Economical, environmental friendly synthesis, characterization for the production of zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8) nanoparticles with enhanced CO<sub>2</sub> adsorption. *Arabian Journal of Chemistry*, 11 (7), 1072-1083, doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.07.012.
- Konno, H., Nakasaka, Y., Yasuda, K., Omata, M., Masuda, T. (2020). Surfactant-assisted synthesis of nanocrystalline zeolitic imidazolate framework 8 and 67 for adsorptive removal of perfluorooctane sulfonate from aqueous solution. *Catalysis Today*, 352, 220-226, doi.org/10.1016/j.cattod.2019.12.036.
- Krokidas, P., Castier, M., Moncho, S., Sredojevic, D. N., Brothers, E. N., Kwon, H., Jeong, H., Lee, J., Economou, I. G. (2016). ZIF-67 framework: A promising new candidate for propylene/propane separation. Experimental data and molecular simulations. *The Journal of Physical Chemistry C*, 120, 8116–8124, doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b00305.
- Lai, L. S., Yeong, Y. F., Che Ani, N., Lau, K. K., Azmi, M. S. (2014). Effect of the solvent molar ratios on the synthesis of zeolitic imidazolate framework 8 (ZIF-8) and its performance in CO<sub>2</sub> adsorption. *Trans Tech Publications*, 625, 69–72, doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.625.69.
- Li, X., Li, J., Shi, Y., Zhang, M., Fan, S., Yin, Z., Qin, M., Lian, T., Li, X. (2018). Rational design of cobalt and nitrogen co-doped carbon hollow frameworks for efficient photocatalytic degradation of gaseous toluene. *Journal of Colloid and Interface Science*, 528, 45-52, doi.org/10.1016/j.jcis.2018.05.067.
- Li, Y., Zhou, K. He, M., Yao, J. (2016). Synthesis of ZIF-8 and ZIF-67 using mixed-base and their dye adsorption. *Microporous and Mesoporous*

- Materials*, 234, 287-292, doi.org/10.1016/j.micromeso.2016.07.039.
- Liu, L., Zhou, Y., Liu, S., Xu, M. (2018). The applications of metal-organic frameworks in electrochemical sensors. *ChemElectroChem*, 5, 6-19. doi.org/10.1002/celec.201700931.
- Liu, W., Yin, X.-B. (2016). Metal-organic frameworks for electrochemical applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 75, 86-96, doi.org/10.1016/j.trac.2015.07.011.
- Liu, X., Wang, B., Cheng, J., Meng, Q., Song, Y., Li, M. (2020). Investigation on the capture performance and influencing factors of ZIF-67 for hydrogen sulfide. *Separation and Purification Technology*, 250, 117300, doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117300.
- Liu, Y., Huo, Y., Wang, X., Yu, S., Ai, Y., Chen, Z., Zhang, P., Chen, L., Song, G., Alharbi, N. S., Rabah, S. O., Wang, X. (2021). Impact of metal ions and organic ligands on uranium removal properties by zeolitic imidazolate framework materials. *Journal of Cleaner Production*, 278, 123216, doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123216.
- Ma, P., Zhang, J., Liu, P., Wang, Q., Zhang, Y., Song, K., vd. (2020). Computer-assisted design for stable and porous metal-organic framework (MOF) as a carrier for curcumin delivery. *LWT-Food Science and Technology*, 120, 108949, doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108949.
- Magri, A., Petriccione, M., Gutierrez, T.J. (2021). Metal-organic frameworks for food applications: A review. *Food Chemistry*, 354, 129533, doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129533.
- Meshkat, S., Kaliaguine, S., Rodrigue, D. (2020). Comparison between ZIF-67 and ZIF-8 in Pebax® MH-1657 mixed matrix membranes for CO<sub>2</sub> separation. *Separation and Purification Technology*, 235, 116150, doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116150.
- Mostafazadeh, N., Ghoreyshi, A. A., Pirzadeh, K. (2018). Optimization of solvothermally synthesized zif-67 metal organic framework and its application for CR (VI) adsorption from aqueous solution. *Iranian Journal of Chemical Engineering*, 15 (4), 27-47, doi.org/20.1001.1.17355397.2018.15.4.3.6.
- Navarro-Sanchez, J., Almora-Barrios, N., Lerma-Berlanga, B., Ruiz-Pernía, J. J., Lorenz-Fonfria, V. A., Tunon, I., Martí-Gastaldo, C. (2019). Translocation of enzymes into a mesoporous MOF for enhanced catalytic activity under extreme conditions. *Chemical Science*, 10 (14), 4082-4088, doi.org/10.1039/C9SC00082H.
- Pahang, F., Amini, S., Ebrahimzadeh, H., Kandeh, S. H. (2023). Electrospun poly(ST-Co-AC)/Co-ZIF-67@Chitosan composite nanofibers as a sorbent with superior reusability for pesticide residues analysis in food samples. *Microchemical Journal*, 188, 108476, doi.org/10.1016/j.microc.2023.108476.
- Qin, W., Yang, C., Yi, R., Gao, G. (2011). Hydrothermal synthesis and characterization of single-crystalline  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanocubes. *Journal of Nanomaterials*, 159259, doi:10.1155/2011/159259.
- Riaz, M.A., Yuan, Z., Mahmood, A., Liu, F., Sui, X., Chen, J., Huang, Q., Liao, X., Wei, L., Chen, Y. (2020). Hierarchically porous carbon nanofibers embedded with cobalt nanoparticles for efficient H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detection on multiple sensor platforms. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 319, 128243, doi.org/10.1016/j.snb.2020.128243.
- Samui, A., Happy, Sahu, S. K. (2020). Integration of  $\alpha$ -amylase into covalent organic framework for highly efficient biocatalyst. *Microporous and Mesoporous Materials*, 291, 109700, doi.org/10.1016/j.micromeso.2019.109700.
- Schlesinger, M., Schulze, S., Hietschold, M., Mehring, M. (2010). Evaluation of synthetic methods for microporous metal-organic frameworks exemplified by the competitive formation of [Cu<sub>2</sub>(btc)<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>] and [Cu<sub>2</sub>(btc)(OH)(H<sub>2</sub>O)]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 132 (1-2), 121-127, doi.org/10.1016/j.micromeso.2010.02.008.
- Sharanyakanth, P. S., Radhakrishnan, M. (2020). Synthesis of metal-organic frameworks (MOFs) and its application in food packaging: A critical review. *Trends Food Science and Technology*, 104, 102-116, doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.004.

- Son, W.J., Kim, J., Ahn, W.S. (2008). Sonochemical synthesis of MO5. *Chemical Communications*, 6336–6338, doi.org/10.1039/B814740J.
- Tezerjani, A. A., Halladj, R., Askari, S. (2021). Different view of solvent effect on the synthesis methods of zeolitic imidazolate framework-8 to tuning the crystal structure and properties. *RSC Advances*, 11, 19914–19923, doi.org/10.1039/D1RA02856A.
- Tranchemontagne, D. J., Hunt, J. R., Yaghi, O.M. (2008). Room temperature synthesis of metal-organic frameworks: MOF-5, MOF-74, MOF-177, MOF-199, and IRMOF-0. *Tetrahedron*, 64, 8553–8557, doi.org/10.1016/j.tet.2008.06.036.
- Yan, Y., Wang, Z., Ding, T., Zhang, H. (2022). Preparation and application of Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> catalysts from ZIF-67 membranes over paper-like stainless steel fibers in isopropanol combustion. *Journal of Solid State Chemistry*, 308, 122880, doi.org/10.1016/j.jssc.2022.122880.
- Yin, J., Tang, H., Liu, D., Huang, T., Zhu, L. (2021). Application of ZIF-67 as a crosslinker to prepare sulfonated polysulfone mixed-matrix membranes for enhanced water permeability and separation properties. *Water Science & Technology*, 84, 1, 144, doi.org/10.2166/wst.2021.202.
- Yin, K., Zhang, H., Yan, Y. (2019). High efficiency of toluene adsorption over a novel ZIF-67 membrane coating on paper-like stainless steel fibers. *Journal of Solid State Chemistry*, 279, 120976, doi.org/10.1016/j.jssc.2019.120976.
- Zhang, J., Tan, Y., Song, W.-J. (2020). Zeolitic imidazolate frameworks for use in electrochemical and optical chemical sensing and biosensing: A review. *Microchimica Acta*, 187: 234, doi.org/10.1007/s00604-020-4173-3.
- Zhang, M., Zhao, X., Zhang, G., Wei, G., Su, Z. (2017). Electrospinning design of functional nanostructures for biosensor applications. *Journal of Materials Chemistry*, 5 (9), 1699 – 1711, doi.org/10.1039/C6TB03121H.
- Zhang, R., Belwal, T., Li, L., Lin, X., Xu, Y., Luo, Z. (2020). Nanomaterial-based biosensors for sensing key foodborne pathogens: Advances from recent decades. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 19, 1465–1487, doi.org/10.1111/1541-4337.12576.
- Zhao, J., Wei, F., Xu, W., Han, X. (2020). Enhanced antibacterial performance of gelatin/chitosan film containing capsaicin loaded MOF's for food packaging. *Applied Surface Science*, 510, 145418, doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.145418.
- Zhong, G., Liu, D., Zhang, J. (2018). The application of ZIF-67 and its derivatives: Adsorption, separation, electrochemistry and catalysts. *Journal of Materials Chemistry A*, 6: 1887–1899, doi.org/10.1039/C7TA08268A.
- Zhong, R., Liao, H., Deng, Q., Zou, X., Wu, L. (2022). Preparation of a novel composite photocatalyst BiOBr/ZIF-67 for enhanced visible-light photocatalytic degradation of RhB. *Journal of Molecular Structure*, 1259, 132768, doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132768.

## ULTRASES PROSESİNİN BİTKİSEL ATIK VE YAN ÜRÜNLERDEN PROTEİN ELDESİNDE KULLANIMI VE PROTEİNLERİN FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Sümeyye Gümüş<sup>1,2</sup>, Semanur Yıldız<sup>1,2\*</sup>

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

<sup>2</sup> Sakarya Üniversitesi, Sürdürülebilir Gıda İşleme Laboratuvarı (SUPROLAB), Sakarya

Geliş/ Received: 21.09.2023; Kabul/ Accepted: 02.01.2024; Online baskı/ Published online: 09.01.2024

Gümüş, S., Yıldız, S. (2024). Ultrases prosesinin bitkisel atık ve yan ürünlerden protein eldesinde kullanımı ve proteinlerin fonksiyonel özellikleri üzerine etkisi. GIDA (2024) 49 (1) 68-87 doi: 10.15237/gida.GD23115

Gümüş, S., Yıldız, S. (2024). Use of ultrasound process to obtain protein from plant-based waste and by-products and its effect on functional properties of proteins. GIDA (2024) 49 (1) 68-87 doi: 10.15237/gida.GD23115

### ÖZ

Değişen çevresel ve yaşamsal koşullar, artan dünya nüfusu, sınırlı besin kaynakları ve çeşitlenen beslenme tercihleri sebebiyle gıda kaynaklarının etkin kullanımını ve sürdürülebilir gıda üretim sistemlerinin geliştirilmesini hedefleyen farklı stratejilerin araştırılması günümüzde dikkat çeken güncel araştırma konuları arasındadır. Bitkisel proteinler ise artan nüfusun beslenme ihtiyacını karşılayabilmek için alternatif bir kaynak olarak karşımıza çıkmakta olup bitkisel atık ve yan ürünlerin proteinlerinin değerlendirilerek döngüsel ekonomi politikası çerçevesinde yeniden ekonomiye kazandırılması beslenme kaynaklarının etkin kullanımı için önem arz etmektedir. Bitkisel protein üretimindeki geleneksel yaklaşımlara alternatif olarak yenilikçi ekstraksiyon stratejileri geliştirilmekte olup ultrases destekli protein ekstraksiyonu bu yöntemlerden birisidir. Ultrases prosesi lignoselülozik bileşenlerin olduğu bitkisel matriksten proteinlerin ekstraksiyonunda daha yüksek verim elde edilmesini sağlamanın yanı sıra aynı zamanda proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirme yönünde etki gösterme potansiyelinden dolayı dikkat çekmektedir. Bu derleme ise, bitkisel atık ve yan ürünlerden ultrases prosesiyle protein ekstraksiyonu ve proteinlerin fonksiyonel özellikleri üzerindeki olası etkileri konularındaki güncel gelişmeleri değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Ultrases destekli ekstraksiyon, bitkisel protein, bitkisel yan ürün, protein ekstraksiyonu, fonksiyonel özellikler, protein modifikasyonu, sürdürülebilirlik

## USE OF ULTRASOUND PROCESS TO OBTAIN PROTEIN FROM PLANT-BASED WASTE AND BY-PRODUCTS AND ITS EFFECT ON FUNCTIONAL PROPERTIES OF PROTEINS

### ABSTRACT

Investigation of different strategies for the effective use of food resources and the development of sustainable food production systems are among the current research topics due to the changing environmental and living conditions, increasing world population, limited food resources, and diversified nutritional preferences. Plant-based proteins emerge as an alternative source to meet the

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding Author

✉: semanury@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 5853

☎: (+90) 264 295 5601

Sümeyye Gümüş; ORCID no: 0000-0002-1086-9231

Semanur Yıldız; ORCID no: 0000-0002-1845-78131

growing nutritional needs. The utilization of proteins from plant-based waste and by-products within the framework of a circular economy policy becomes important for the efficient use of food resources. Innovative extraction strategies, such as ultrasound-assisted extraction, are being developed in plant-based protein production. The ultrasound not only ensures higher efficiency in the extraction of proteins from plants containing lignocellulosic components but also enhance the functional properties of proteins. This review aims to evaluate the recent developments in ultrasound-assisted protein extraction from plant-based waste and by-products, as well as the potential effects on the functional properties of proteins.

**Keywords:** Ultrasound-assisted extraction, plant protein, plant by-product, protein extraction, functional properties, protein modification, sustainability

### GİRİŞ

Günümüz bilimsel araştırmalarının motivasyonu gıda, su ve doğal kaynakların sınırlılığı, açlık, iklim değişikliği, sanayi tabanlı uygulamaların çevresel etkileri, karbon ayak izi, sürdürülebilir üretim yöntemleri gibi konulara dayanmaktadır. Artan dünya nüfusu ve değişen yaşam koşulları sebebiyle gıda kaynaklarının ve ürünlerinin zenginleştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Dünya nüfusunun yılda %1.13 artış hızıyla 2050 yılında 9.6 milyar seviyelerine ulaşacağı tahmin edilirken (Tripathi vd., 2019) bir başka kaynak ise 2050 yılında 9.8 milyar popülasyonun beslenme ihtiyacını karşılayabilmek için mevcut gıda üretiminin iki katına çıkarılması gerektiğini ifade etmektedir (Van Dijk vd., 2021). Gıda endüstrisi, sınırlı gıda kaynaklarına alternatifler üretmek için hem tüketicilerin beslenme tercihlerini hem de çevresel etkiyi azaltan yaklaşımları göz önünde bulundurmaktadır. Artan bu farkındalık araştırmacıları ve beslenme uzmanlarını çevre dostu ve sürdürülebilir protein kaynakları arayışına teşvik etmiştir. Bu kapsamda özellikle insan yaşamının temel unsuru olan proteinin elde edilmesinde hayvansal kaynaklara alternatif olarak bitkisel kaynakların kullanılması popülerlik kazanmıştır (Lam vd., 2018). Hayvansal proteinler sınırlı arz ve yüksek fiyat, olumsuz çevresel etkiler, iklim değişikliği, biyoçeşitlilik kaybı ve insan hastalıklarıyla sıklıkla ilişkilendirilmekte buna karşılık bitkisel proteinler ise sürdürülebilirlik, ulaşılabilirlik ve çevreye olumsuz etkisinin daha az olması açısından son zamanlarda alternatif beslenme kaynağı olarak dikkat çekmektedir (Ochoa-Rivas vd., 2017; Kumar vd., 2021).

Sürdürülebilirlik kavramı çevre, gıda, tarım ve ekonomi gibi farklı alanlarda son zamanlarda karşımıza sıkça çıkmaktadır. Bu kavramlardan

herhangi birinin sürdürülebilir sayılabilmesi için kendini yenileyebiliyor olması veya mevcut durumunu devam ettirebilmesi gerekmektedir. Sürdürülebilirlik düşüncesinin kavramsallaşma süreci farklı kurum ve kuruluşlarca yapılan çalışmalarla zamanla ortaya çıkmıştır. Birleşmiş Milletler Dünya Çevre ve Kalkınma Komisyonu sürdürülebilirliği "*Bugünün gereksinimlerini, gelecek kuşakların da kendi gereksinimlerini karşılayabilme olanağından ödün vermeksizin karşılamak*" şeklinde tanımlamaktadır (Hermundsdottir ve Aspelund., 2021). Birleşmiş Milletler'in 2015 yılında yayınlanan "2030 BM Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri" bildirisi doğrultusunda yoksulluk ve açlığı sonlandırmak, çevresel sürdürülebilirliği sağlamak, nitelikli eğitime ulaşabilmek gibi 17 maddeden oluşan çevresel, toplumsal ve ekonomik açıdan sürdürülebilirlik kavramları ele alınmaktadır (United Nations, 2015). Gıda üretim sistemlerinin de sürdürülebilirlik stratejileri çerçevesinde geliştirilmesi ve uygun modifikasyonların yapılması önem arz etmektedir. Bu stratejiler kapsamında; gıda üretiminde verimlilik ve katma değer artırılması, insan ve ekosistem ilişkisinin güçlendirilerek doğal kaynakların korunması/arttırılması ve geçim kaynaklarının iyileştirilerek gıda alanında ekonomik büyümenin sağlanması hedeflenmektedir.

Sürdürülebilir gıda sistemi; doğal kaynaklar üzerinde olumsuz bir etki yapmadan, oluşan gıda atık ve yan ürünlerini değerlendirerek ve iklim krizini önlemeye çalışarak herkesin ihtiyaç duyduğu güvenli gıdaya ulaşmasını hedeflemektedir (McClements, 2020). Sürdürülebilirlik kavramının en önemli amacı gelecek nesillerin temel besin ihtiyaçlarının devamlılığını sağlayabilmektir. Gıda ürünleri elde



edilirken tarladan çatala ulaşıncaya kadar geçen süreçte birçok atık ve yan ürün açığa çıkmaktadır. Genel olarak gıda atıkları hammaddelerin gıdaya dönüştürülürken açığa çıkan organik kalıntılar; yan ürünler ise gıda işleme ve üretim sırasında açığa çıkan ve market değeri taşıyan sekonder ürünler olarak tanımlanmaktadır (Tiwari ve Khawas, 2021). Türkiye’de gıda sanayii atıklarının tüm imalat sanayileri atıklarının %5’ini oluşturduğu bilinmektedir (TÜİK, 2021). Mevcut kaynakların korunması ve sürdürülebilirliğin devam edebilmesi için gıda üretiminden tüketimine kadar geçen süreçte gıda kayıplarının azaltılması ve oluşan gıda atıklarının doğru bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir (Özkan vd., 2022). Atık ve yan ürünlerden karbonhidrat, yağ, protein, biyoaktif bileşenler gibi katma değeri yüksek ürünler elde edilebilmektedir. Özellikle proteinler biyolojik aktiviteleri ve esansiyel aminoasit bileşenleri sayesinde önemli bir bileşen olarak görülmektedir.

Proteinler bir canlının yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmesi için önem arz etmektedir. Büyüme, gelişme, enzim faaliyetlerinin devamlılığı için vücutta kullanılan makro besinlerdir. Bu yaşamsal döngünün devamı için uygun kalitede ve miktarda protein tüketilmesi gerekmektedir (Burd vd., 2019). Tarımsal atıklardan ya da gıda sanayi yan ürünlerinden elde edilen proteinin kaliteli kabul edilebilmesi için esansiyel aminoasit içeriğinin zengin olması ve toksik maddelerden uzaklaştırılmış protein içeriğine sahip olması gerekmektedir (Kamal vd., 2021). Protein ekstraksiyon yöntemlerinde geleneksel olarak alkali ekstraksiyon/izoelektrik çökeltme, tuz varlığında ekstraksiyon/diyaliz, misel çöktürme gibi metotlar kullanılmaktadır. Ancak geleneksel ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan organik çözücüler, asitler ve bazlar çevreye zarar vermektedir. Bununla birlikte ekstraksiyon süresinin uzun olması ve düşük protein verimi elde edilmesi de dezavantajları olarak sayılmaktadır. Tarımsal atıklar ve gıda sanayi yan ürünlerinde selüloz, hemiselüloz, pektin, lignin gibi bileşenler bulunmaktadır. Bu lignoselülozik yapılar ekstraksiyon işlemi sırasında proteinlerin sıvı ortama geçmesini zorlaştırarak protein veriminin düşük kalmasına sebep olmaktadır

(Kumar vd., 2021). Geleneksel ekstraksiyonlarda bitki dokusundaki lignoselülozik yapının bozulması daha az gerçekleştiği için bitki matriksinden protein salınımı zorlaşmaktadır. Yüksek protein verimi elde edebilmek için solvent kullanımı, sıcaklık, ekstraksiyon süresi gibi birçok faktör göz önünde bulundurularak optimizasyon ve validasyon çalışmaları yapılmaktadır. Bu kapsamda, kısa sürede yüksek verim ve yüksek protein kalitesi sağlayabilmek için çevre dostu ve alternatif yöntemler önemli bir araştırma konusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yenilikçi yöntemler arasında ultrases, mikrodalga, vurgulu elektrik alanı, yüksek basınç ve enzim destekli ekstraksiyon prosesleri yer almaktadır (Sari vd., 2013; Kumar vd., 2021). Bu uygulamalarla hem kimyasal kullanımının azaltılması hem de termal etkilerden kaynaklanabilecek kalite kayıplarının elimine edilmesi hedeflenmektedir. Ultrases teknolojisi bu amaçla yaygın olarak kullanılan ve gıda bilimi ve teknolojisi alanında dikkat çeken proseslerden birisidir (Jahan vd., 2022).

Ultrases, insan işitme aralığının (20 Hz – ~20 kHz) üzerindeki frekanslardaki ses dalgalarıdır (Demirdöven ve Baysal, 2020; Bernardi vd., 2021). Ultrases prosesi gıda bilimi alanındaki uygulamalarında başvuru frekans ve güç yoğunluğuna bağlı olarak düşük yoğunluklu ve yüksek yoğunluklu olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır. Düşük yoğunluklu ultrases düşük genlik seviyelerinde ve yüksek frekanslarda (>1 MHz) uygulanmakta olup güç düzeyi tipik olarak 1 W/cm<sup>2</sup>’nin altında kalmaktadır. Yüksek yoğunluklu ultrases (10 – 1000 W/cm<sup>2</sup>) ise daha yüksek genliklerde ve düşük frekanslarda (20 – 100 kHz) uygulanmakta olup “power ultrasound” olarak adlandırılmakta ve materyalin yapısına ve fizikokimyasal özelliklerine etki etmektedir (Tiwari ve Mason, 2012). Ultrases prosesinin uygulama alanları arasında ekstraksiyon, ambalajlama, dondurma, kurutma, emülsiyon oluşturma, boyut küçültme ve homojenizasyon yer almaktadır (Bhargava vd., 2021; Barbosa-Canovas vd. 2022). Ultrases destekli ekstraksiyon ise geleneksel yöntemlere alternatif olarak geliştirilen ve gıda bilimi ve teknolojisi alanındaki çalışmalarda yaygın olarak kullanılan uygulamalarından birisi haline gelmiştir. Bu

teknolojiden çeşitli gıda matrikslerinden protein, yağ, fenolik bileşikler, vitaminler, mineral ve aroma maddeleri gibi bileşenleri elde etmek amacıyla faydalanılmaktadır (Görgüç vd., 2019; Kumar vd., 2021). Uygulanan ekstraksiyon yöntemleri hedeflenen bileşenin ekstraksiyon verimini ve geri kazanımını arttırmanın yanı sıra ürünün fizikokimyasal, fonksiyonel ve biyoaktif özelliklerini de etkileyebilmektedir. Bu derleme kapsamında ise bitkisel atık ve yan ürünlerden ultrases prosesiyle protein ekstraksiyonu sonucunda protein eldesi ve üretilen proteinlerin fonksiyonel özellikleri ele alınacaktır.

### **BİTKİSEL BİYOKÜTLEDEN PROTEİN ÜRETİMİ**

Bitkisel protein üretiminde kullanılabilir olan tarımsal atık ve gıda sanayi yan ürünleri arasında meyvelerin kabuk ve çekirdekleri, mayşe, yağ sanayi atıkları, tahılların kepek kısımları, yağı ayrılmış bitki tohumları gibi çeşitli bitki matriksleri yer almaktadır. Protein kaynağının özelliklerine ve içerdiği proteinin türüne bağlı olarak uygun ekstraksiyon yönteminin seçilmesi ve optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi önem arz etmektedir. Proteinlerin çözünürlüklerine göre sınıflandırması için Thomas Burr Osborne tarafından yapılan gruplandırma esas alınmaktadır. Bu sınıflandırmada proteinler çözünebildikleri çözücüye göre; albüminler (suda), gluteninler (alkalide), prolaminler (alkolde) ve globülinler (tuzda) olmak üzere dört tipe ayrılmaktadır (Osborne, 1908). Etkin bir protein ekstraksiyon işlemi için proteinlerin türü, yapısal özellikleri ve bulunduğu matriks önemli faktörler arasında yer almaktadır. Bitkisel proteinlerin geleneksel yollarla ekstraksiyonu için çoğunlukla alkali ekstraksiyon/izoelektrik çöktürme ve tuz ile ekstraksiyon/diyaliz yöntemleri kullanılmaktadır. Ekstraksiyon işlemi sonucunda ekstraksiyon ürünleri protein saflığına bağlı olarak protein unu (<%60 protein), protein konsantratu (%60-90 protein) ve protein izolatu (>%90 protein) olarak adlandırılmaktadır (Soto-Sierra vd., 2018; Loveday, 2019). Ürün formülasyonlarının geliştirilebilmesi ve hedeflenen kalite özelliklerinde üretim yapılabilmesi için bitkisel proteinlerin türünü ve miktarını bilmek önem arz etmektedir. Ticari olarak üretilen bitkisel

proteinler yaygın olarak alkali ekstraksiyonla elde edilmektedir.

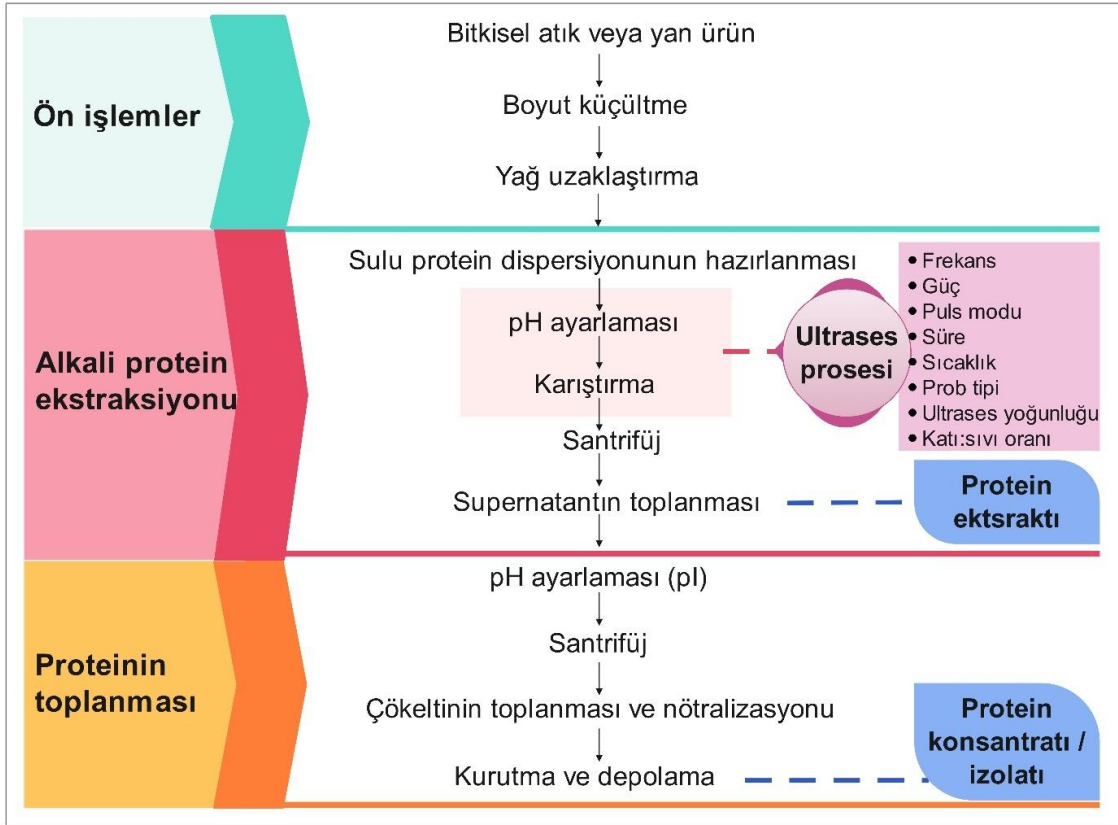
Alkali ekstraksiyon/izoelektrik çöktürme yöntemi bitkisel proteinlerde en yaygın kullanılan kimyasal ekstraksiyon çeşididir (Qiaoyun vd., 2017). Bu yöntemde alkali koşullarda proteinlerin çözünürlüğünden yararlanılmaktadır. Ayrıştırılmak istenen hammaddeden pH değeri 8-11 aralığında ayarlanmış alkali bir çözelti hazırlanmakta ve Şekil 1'de belirtilen aşamalar takip edilmektedir. Proteinler belirli bir sıcaklık ve sürede alkali koşullarda ekstrakte edilmekte, santrifüj ve filtrasyon yöntemleriyle ayrılmakta ve izoelektrik noktada çöktürülerek santrifüjle protein peletleri elde edilmektedir (Tanger vd., 2020). Kurutma işleminin ardından protein içeriğine bağlı olarak protein unu, protein konsantratu veya protein izolatu olarak toz formda üretim sağlanmaktadır. Her proteinin izoelektrik noktası değişkenlik göstereceği için matrikste bulunan proteinlere ait pI değerinin belirlenmesi etkin bir ekstraksiyon işlemi için önem arz etmektedir. Sodyum, potasyum ya da kalsiyum hidroksit gibi alkaliler ekstraksiyon işleminde yaygın olarak tercih edilmektedir. Oluşturulan alkali ortam sayesinde izoelektrik noktadan daha yüksek bir pH seviyesinde protein çözünürlüğü artmakta ve bu sayede proteinlerin alkali ortama kütle transferi gerçekleşmektedir (Sari vd., 2015). Yaptıkları bir çalışmada Cui vd. (2020), bezelye bitkisinde farklı pH'larda alkali ekstraksiyonla pH değerini 8.5'dan 10'a arttırdıklarında hem protein veriminin %81'e yükseldiğini hem de bazı fonksiyonel özelliklerinin (köpürme kapasitesi ve stabilitesi) geliştiğini gözlemlemişlerdir.

### **ULTRASES DESTEKLİ EKSTRAKSİYON TEKNOLOJİSİ**

Geleneksel yöntemlerle protein ekstraksiyonunda protein ekstraksiyon verimi düşük kalabilmektedir. Bu durumun temel nedeni bitki dokusunda bulunan karbonhidratların kompleks bir matris oluşturması ve proteinlerin bu yapı içerisinde gömülü kalmasıyla ilişkilendirilmektedir (Rahman ve Lamsal, 2021). Bitki hücre dokusunun yapısal bileşenleri olan selüloz, hemiselüloz, pektin ve lignin gibi bileşenler bitkisel proteinlerin ekstraksiyonunda bariyer

görevi görmektedir (Görgüç vd., 2019). Bitkisel dokuların parçalanarak daha etkin ve yüksek verimde ekstraksiyon gerçekleştirilebilmesi için enzim, elektrik alanı ve ultrases gibi uygulamalardan faydalanılmaktadır. Bu derleme

kapsamında ultrases prosesi değerlendirmeye alınmış olup geleneksel alkali protein ekstraksiyonu / izoelektrik çöktürme yöntemine entegrasyonu Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. Geleneksel alkali protein ekstraksiyonunun akım şeması ve ultrases prosesinin ekstraksiyon sürecine entegrasyonunun şematik gösterimi (Jahan vd., 2022 çalışmasından modifiye edilmiştir)

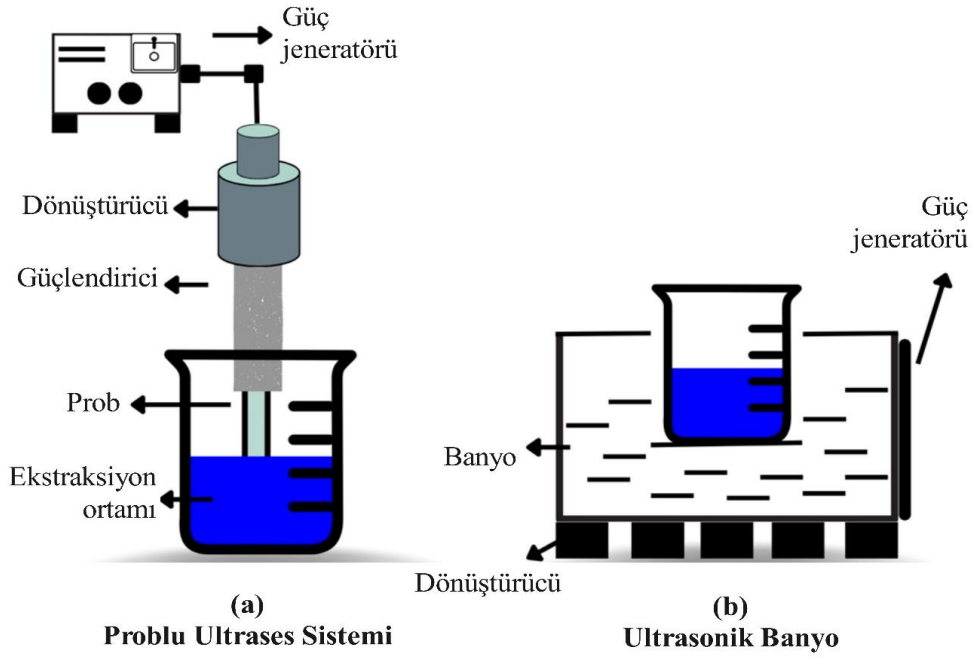
### Ultrases prosesinin temelleri

Ultrases teknolojisi, geleneksel gıda işleme yöntemlerinde uygulanan sıcaklığın ürün üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için geliştirilmiş ısı olmayan teknolojilerden birisidir. Ultrases destekli ekstraksiyon (USDE) ise daha yüksek verimde ekstraksiyon yapabilme olanağı tanıyan yenilikçi yaklaşımlardandır. USDE hem düşük ekstraksiyon sıcaklıklarında çalışabilmeye olanak sağlaması hem de daha az çözücü ve enerji kullanılması sebebiyle basit, uygulanabilir, etkili ve çevre dostu bir yöntem olarak kabul edilmektedir.

USDE için ultrasonik banyo ve prob tipi ultrases sistemi kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilebilmektedir (Şekil 2). Ultrasonik banyolar kolay uygulanabilirliği, ekonomik açıdan uygun olması ve çok sayıda numunenin aynı anda işleme alınabilmesi gibi avantajlar sunarken düşük güç seviyesi ve değiştirilemeyen ultrases genliği gibi proses koşulları banyo tipi cihazların uygulama alanını kısıtlamaktadır. Probu ultrases sistemleri ise jeneratör, güçlendirici, dönüştürücü ve prob olmak üzere dört ana bileşen yardımıyla ses dalgalarını ortama yaymaktadır (Jahan vd., 2022). Ekstraksiyon uygulamalarında genellikle probu ultrasonik sistemler tercih edilmekte olup

bu sistemler farklı güç seviyelerinde çalışabilmeleri ve daha etkili kavitasyon sağlayabilmeleri sebebiyle verim açısından daha avantajlı olmaktadır. Bu yöntemde, ultrases prob ucu ekstraksiyon kabına daldırılmakta ve bitkisel

dokular uygun süre ve ultrases yoğunluklarında ekstraksiyona tabii tutulmaktadır (Chemat vd., 2017; Kumar vd., 2021; Kamal vd., 2023; Karabulut vd., 2023).

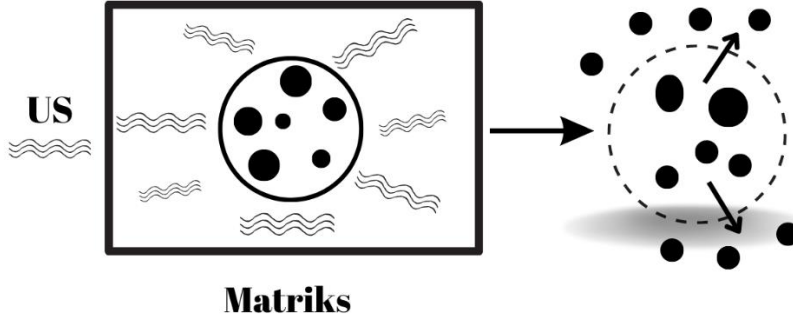


Şekil 2. Protein ekstraksiyonu için problu ultrases sistemi (a) ve ultrasonik banyonun (b) şematik gösterimi

Ses dalgaları herhangi bir ortamda moleküller arası itici dalgalarla iletilmektedir. Sıvı akışında çok kısa süre içerisinde oluşan basınç kaymasıyla moleküller arası sıkışıklık ya da boşluk oluşturarak kabarcıklar meydana gelmekte ve bu kabarcıklar kavitasyon baloncukları olarak adlandırılmaktadır (Tiwari ve Mason, 2012). Oluşan kabarcıklar bir süre sonra boyut küçültmek için çökerek patlamaktadır. Kavitasyon kabarcıklarının oluşumu, büyümesi ve çökmesi fiziksel ve kimyasal değişim göstererek ortaya büyük bir enerji çıkartmaktadır (Yao vd., 2020). Ortaya çıkan bu enerji ultrases sisteminde mekanik titreşimin oluşmasına sebep olarak prosesin bitkisel dokulara etki ederek ekstraksiyon amacıyla uygulanmasını mümkün kılmaktadır (Kumar vd.,

2021). Akustik kavitasyon olarak adlandırılan bu etki ultrases destekli ekstraksiyon proseslerinin temel mekanizması olarak adlandırılmaktadır.

Ultrases destekli protein ekstraksiyonunda; ses dalgaları sayesinde bitkisel matrikste hücre duvarının yapısı bozularak tahrip edilmektedir. Daha sonra ekstraksiyon solventi, oluşan duvar boşluklarından hücreye nüfuz ederek hücre içindeki hedef bileşenlere daha kolay ulaşmakta ve çözücüye geçmelerini sağlamaktadır (Rahman vd., 2020). Akustik ses dalgalarının dokulardaki proteinlerin ekstraksiyon ortamına salınmaları sırasındaki etkileri temsili olarak Şekil 3'te gösterilmektedir.



Şekil 3. Ultrases dalgalarının ürün matriksine etkisinin ve protein ekstraksiyonunun şematik gösterimi

Ultrases destekli ekstraksiyonun etkinliği frekans, güç yoğunluğu, ekipman çeşidi, sıcaklık, süre, katı-sıvı oranı ve çözücü özellikleri gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Panda ve Manickam, 2019). Ultrases sisteminde farklı parametreler protein verimini ve fonksiyonel özelliklerini etkilemektedir. Ultrases sisteminde dağılan ultrasonik enerjiyi ifade etmek için ultrases gücü (W), ultrases yoğunluğu (W/cm<sup>2</sup>) ve akustik enerji yoğunluğu (W/ml), kavramları kullanılmaktadır. Ekstraksiyon verimi de birçok çalışmada ultrases yoğunluğunun artmasıyla birlikte önce kademeli olarak en yüksek seviyeye yükselme ve ardından azalma veya sabit kalma eğilimlerini takip etmektedir. Elde edilen protein miktarının artırılması uygulanan ultrases gücüyle önemli düzeyde ilişkilendirilmektedir (Ly vd., 2018). Ultrases gücünün hesaplanması kalorimetrik olarak yapılmakta olup ultrases gücü, yoğunluğu ve akustik enerji yoğunluğu sırasıyla Eşitlik 1, Eşitlik 2 ve Eşitlik 3 ile hesaplanmaktadır (Tiwari ve Mason, 2012):

$$\text{Ultrases gücü (W)} = m * C_p \frac{dT}{dt} \quad (1)$$

$$\text{Ultrases yoğunluğu (W/cm}^2\text{)} = \frac{\Delta P}{\pi D^2} \quad (2)$$

$$\text{Akustik enerji yoğunluğu (W/ml)} = \frac{W}{V} \quad (3)$$

Bu eşitliklerde m: kütle, P: ultrases gücü, C<sub>p</sub>: özgül ısı, dT/dt: sonikasyon sırasındaki lineer sıcaklık değişimi, D: prob çapı, V: örnek hacmi terimlerini ifade etmektedir.

Ekstraksiyon işlemi sırasında sonoreaktördeki sıcaklık diğer bir önemli faktördür. Yüksek

sıcaklıklar çözücü ve protein yapısı arasında olumsuz etkileşim göstererek proteinlerin yapısını etkileyebilmektedir. Qiu vd. (2023) yaptıkları çalışmada ultrases destekli ekstraksiyonla çay kalıntısından protein elde etmişlerdir. Bu çalışmaya göre sıcaklık parametresinin artırılmasıyla protein verimi önce artmış daha sonra düşmüştür. Ekstraksiyon sıcaklığı 25 °C'den 45 °C'ye çıkartıldığında protein veriminin arttığı ve 45 °C'de optimum düzeye ulaştığı görülmüştür. Sıcaklık seviyesinin daha yüksek değerlere çıkartılmasının verimin düşmesine ve protein yapısının zarar görmesine sebep olacağı bildirilmiştir (Qiu vd., 2023). Sıcaklık düzeyinin proteinlerde herhangi bir bozulma olmadan en yüksek ekstraksiyon verimine ulaşabilmesi için optimize edilmesi gerekmektedir (Färcaş vd., 2022). Ultrases uygulama süresi güç yoğunluğu, sıcaklık ve frekans gibi diğer parametrelerle ilişkilendirilmektedir. Ekstraksiyon süresinin uzaması bir yandan verim artışını sağlarken öte yandan ekstrakte edilmek istenen bileşenin uzun süre ultrasese maruz kalması yapısının bozulmasına sebep olabilmektedir. Bira tahılı atıklarından ultrases sistemiyle farklı sürelerde elde edilen proteinlerin incelendiği bir çalışmada sonikasyon süresinin uzamasıyla protein içeriğinin önce arttığı sonra azaldığı görülmüş olup en verimli protein ekstraksiyonuna ise 10 dakikalık işlem sonucunda ulaşıldığı gözlemlenmiştir (Li vd., 2021). Ultrases teknolojisinin bitki temelli bir kaynaktan protein eldesi için kullanımı ilk olarak soya fasulyesinde denenmiş olup daha sonra farklı bitkilerde de uygulanmıştır (Rahman ve Lamsal, 2021). Ekstraksiyon çalışmalarında tahıllardan kalan kepek kısımları, bezelye, soya fasulyesi,

kolza tohumu, bitkisel yağdan kalan posalar ya da meyve sebze ürünleri ve atıkları kullanılmaktadır. Yapılan çalışmaların ultrases destekli protein ekstraksiyonunu desteklediği görülmektedir (Kamal vd., 2021).

### SWOT analizi

SWOT analizi; bir çalışmanın, projenin, kişi ya da kurumların üzerinde etkisi bulunan iç ve dış faktörleri değerlendiren bir analiz olup ele alınan konuya ilişkin güçlü yönler, zayıf yönler, fırsatlar ve tehditler belirlenmektedir (Namugenyi vd., 2019). Güçlü ve zayıf yönleri değerlendirerek gerekli iyileştirmeler ve düzenlemeler yapılmakta, belirlenen fırsatlar sayesinde yeni stratejiler geliştirilmekte ve tehditler kapsamında ise karşılaşılabilecek olası olumsuzluklar değerlendirilerek önüne geçilebilmektedir. Bitkisel ürünlerde özellikle son dönemlerde uygulanmakta olan ultrases sisteminin SWOT analizi Şekil 4'te gösterilmektedir (Rahman ve Lamsal, 2021; Kamal vd., 2023).

Ultrases destekli ekstraksiyon, gıda işleme süreçlerinde eski ve yeni proseslere entegrasyonu açısından umut vadeden bir teknoloji olarak kabul edilmektedir. Bu ekstraksiyon işleminin geleneksel ve yenilikçi metotlarla kombine edilmesiyle daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Ultrases

prosesinin Şekil 4'teki güçlü yönleri ele alındığında geleneksel yöntemlere göre daha yüksek ekstraksiyon verimlerine daha kısa sürede ulaşılabilir olması güçlü yönü olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunun yanında daha az kimyasal kullanımına ihtiyaç duyulması ve çevre dostu özellik göstermesi ise bu teknolojinin bir diğer güçlü yönüdür. Ultrases işleminin zayıf yönleri incelendiğinde ise; ses dalgalarından etkilenmemek için bazı ekstra koruyucu ekipman gerekliliği ve yatırım maliyeti gerektirmesi göze çarpmaktadır. Öte yandan, uygulama esnasında uygun olmayan proses koşullarının yapı bozulmalarına sebep olarak protein denatürasyonuna yol açabileceği uygulama amacına bağlı olarak bir dezavantaj olarak değerlendirilmektedir. Farklı tür gıda matrikslerine uygulanabilir olması, proteinlerin tekno-fonksiyonel özelliklerini geliştirebilme potansiyeli, kolay ölçeklenebilir olması ve çevre dostu proses geliştirilme potansiyeli bu teknolojinin önemli fırsatları arasında yer almaktadır. Son olarak, uzun süre kullanımda prob ucunun deformasyonundan dolayı ekipman kaynaklı problem oluşabilmesi ve ses dalgalarının oksidasyon reaksiyonlarında rol alacak serbest radikallerin oluşmasına sebebiyet verebilmesi olası tehdit unsurları arasında sayılmaktadır.



Şekil 4. Ultrases destekli protein ekstraksiyonu için SWOT analizi

### **Bitkisel atıklar ve yan ürünlerden ultrases prosesiyle protein eldesi**

Bitkisel protein ekstraksiyon aşamasındaki faktörlerin yanı sıra ekstraksiyon öncesinde uygulanan ön işlemler de atık ve yan ürünlerden protein eldesinde önem arz etmektedir. Örneğin; Dabbour vd. (2018) ayçiçeği küspesinde geleneksel ekstraksiyonda ise protein verimi %30-50 arasında olduğunu ve bu oranın kabuk ayırma ve yağ uzaklaştırma işlemlerinin uygulanmasına göre %66'ya kadar arttığını bildirmişlerdir. Ultrases prosesi ise protein ekstraksiyonuyla eş zamanlı olarak uygulanabildiği gibi ekstraksiyondan önce ön işlem olarak da uygulanabilmektedir (Wang vd., 2020; Karabulut vd., 2023). Bu kapsamda yapılan güncel bir çalışmada tarımsal bir atık olan bezelye kabuğuna ön işlem olarak uygulanan ultrasonikasyonun bitki dokusundan protein salınımını kolaylaştırarak protein ekstraksiyon sürecine katkı sunduğu ortaya konulmuştur (Karabulut vd., 2023). Ultrases prosesi bitkisel yağ üretiminden kalan posa, tahıllardan açığa çıkan kepekli kısımlar ve meyve-sebze sanayinden kalan kabuk, mayşe, çekirdek gibi yan ürünlere protein ekstraksiyonu amacıyla uygulandığında da protein verimini önemli düzeyde arttırılabilmektedir. Bu kapsamda yapılan çalışmalar Çizelge 1'de verilmektedir. Örneğin; alkali ekstraksiyon ile ultrases destekli alkali ekstraksiyonun verimlilik açısından etkinliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada yağ alınmış pirinç kepeğinden geleneksel ekstraksiyonla 60 dakika sonunda %77 oranında protein verimi sağlanırken, aynı oranda verim ultrases prosesiyle 5 dakika gibi bir sürede elde edildiği bildirilmiştir. Aynı zamanda ultrasonik güç artırıldığında kavitasyonun etkisiyle protein veriminin anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir (Chittapalo ve Noomhorm, 2009). Kolza küspesine ultrases destekli ekstraksiyon uygulanan bir çalışmada ise proses parametreleri pH 11.71 ve %40 güç olarak belirlenmiş olup proses sonucunda geleneksel yöntemle elde edilen protein miktarından %43.3 daha fazla verim elde edildiği görülmüştür (Yagoub vd., 2017). Benzer şekilde bira endüstrisi tahıl atığından USDE (250 W, 20 dk, %60 döngü) ile protein ekstraksiyonunda verim %45.71'den %86.16 düzeyine yükselmiştir (Li vd., 2021). Naik vd.

(2022) acı kavun tohumu küspesinden geleneksel ekstraksiyonla %15.03 protein verimi elde ederken optimum USDE koşullarında (375 W, 17.5 dk ve pH 10.5) %31.05 düzeyinde protein verimi sağlanmış olup bu durum, ultrases dalgaları sayesinde çözücünün hücre matrisine daha fazla nüfuz etmesi ve kütle aktarımını arttırmasıyla ilişkilendirilmiştir. Yağ alınmış yer fıstığı posası için uygulanan başka bir çalışmada ise USDE işleminin geleneksel ekstraksiyona kıyasla protein verimini %19 oranında arttığı görülmüş olup optimum sonikasyon koşullarında (pH 6.8, 30W/g, 15 dk ve 50°C) %87.7 protein verimi elde edilmiştir. Ultrases destekli ekstraksiyonun parçacık boyutunu önemli ölçüde küçülttüğü ve 1 saat süren alkali ekstraksiyona göre zamandan 45 dk kazandırdığı görülmüştür (Nguyen ve Le, 2019). Golly vd. (2020) ise ceviz posasına geleneksel alkali ekstraksiyonu 50°C sıcaklıkta ve 60 dk işlem süresince uygulayarak %62.34 oranında protein verimi elde ettikleri çalışmalarında USDE işleminin 46.6°C sıcaklıkta 80 W güç seviyesinde ve 45 dakika süresince uygulanmasıyla protein veriminin %91.23 seviyesine yükseldiğini göstermişlerdir. Benzer bir çalışmada geleneksel ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyonun fıstık unu proteini üzerinde karşılaştırılması yapılmıştır. Bu çalışmaya göre ise ultrases prosesinin protein verimini %136 oranında arttırdığı görülerek bir önceki çalışmayı destekler nitelikte bir sonuç elde edildiği görülmüştür (Ochoa-Rivas vd., 2017). Özyurt vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada domates salçası yapımından atık olarak ayrılan domates çekirdeği USDE ile protein üretiminde kullanılmış ve protein ekstraksiyonu için optimum koşullar 210 W güç, 35 °C ve 60 dakika olarak belirlenmiş ve %35.75 protein verimi elde edilmiştir. Meyve kabuklarında bulunan değerli bileşenler ağırlıklı olarak lif, likopen ve fenolik bileşenler olduğu için meyve çekirdeğinin protein açısından daha değerli olduğu için protein kaynağı olarak değerlendirilebileceği düşünülmüştür (Mellinas vd., 2022).

Çizelge 1. Bitkisel atıklar ve yan ürünlerden ultrases destekli ekstaksiyonla protein eldesi

Protein kaynağı	Proses koşulları	Protein verimi	Kaynak
Pirinç kepeği (yağı alınmış)	100 20 kHz 5 dk 26.62±2 °C pH 11 Katı/sıvı: 1:5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %77.30</li> <li>• USDE: %76.09</li> </ul>	Chittapalo ve Noomhorn (2009)
Kolza küspesi	%40 güç 28 kHz 41 dk 16 °C pH: 10.5-11.5-12.5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %9.36</li> <li>• USDE: %13.41</li> </ul>	Yagoub vd. (2017)
Ayçiçeği küspesi	220 W 15 dk 45 °C pH:9.0	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %30-50</li> <li>• USDE: %54.26</li> </ul>	Dabbour vd. (2018)
Susam kepeği	836 W 35 kHz 98 dk 43 °C Katı/sıvı: 1:10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %24.5</li> <li>• USDE: %39.8 - %58.5</li> </ul>	Görgüç vd. (2019)
Yer fıstığı küspesi (yağı alınmış)	30 W 20 kHz 15 dk 50 °C Katı/sıvı: 1:20	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %68.7</li> <li>• USDE: %87.7</li> </ul>	Nguyen ve Le (2019)
Ceviz küspesi	80 W 45 dk 46.6 °C pH: 9.5 Katı/sıvı: 1:20	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %62.34</li> <li>• USDE: %91.23</li> </ul>	Golly vd. (2020)
Domates çekirdeği	210 W 24kHz 60 dk 35 °C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• %35.75</li> </ul>	Özyurt vd. (2021)
Acı kavun tohumu küspesi	300 W, 375 W, 450 W 0-20 dk 14±1 °C pH 3-7.5-10.5 Katı/sıvı: 1:10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• %31.05</li> </ul>	Naik vd. (2022)

AE: Alkali ekstraksiyon, USDE: Ultrases destekli alkali ekstraksiyon

### ULTRASES EKSTRAKSİYONUNUN PROTEİNLERİN FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Fonksiyonel özellikler proteinlerin gıdalardaki davranışını veya performansını ifade etmekte olup gıdada bulunan diğer bileşenlerle etkileşimini yansıtmaktadır. Proteinlerin fonksiyonel

özellikleri boyut, şekil, yük dağılımı, amino asit bileşimi ve dizilimi gibi fiziksel, kimyasal ve yapısal özelliklerle ilişkilendirilmektedir. Fonksiyonellik proteinin kaynağına, bileşimine, üretim yöntemine, sıcaklığa, pH'a, iyonik kuvvet ve tuzların varlığı gibi ortam özelliklerine bağlı olarak değişmekte olup uygun stratejilerle



modifiye edilebilmektedir (Akharume vd., 2021). Üretim aşamalarından birisi olan ekstraksiyon ise proteinlerin fonksiyonelliğini önemli düzeyde etkileyebilmektedir. Protein ekstraksiyonu için seçilen yöntem, sıcaklık, süre, solvent çeşidi, cihaz özellikleri gibi parametreler proteinin mikro yapısını etkilemektedir (Jahan vd., 2022). Ultrases ile protein ekstraksiyonu, uygulanan koşullara bağlı olarak proteinin konformasyonel yapısının değişmesine ve dolayısıyla da fonksiyonel özelliklerinin modifikasyonuna neden olabilmektedir (Ampofo ve Ngadi, 2022). Bir proteinin fonksiyonel özellikleri çözünürlük, emülsiyon oluşturma, köpük oluşturma, jelleşme ve su/yağ bağlama olarak sınıflandırılmaktadır. Bitkisel atıklardan elde edilecek proteinin çeşitli

fonksiyonel özellikler açısından geliştirilmesi farklı gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılma potansiyelini arttırmak adına önem arz etmektedir. Pirinç kepeği, susam kepeği, ayçiçeği küspesi, kolza küspesi, ceviz küspesi, domates çekirdeği ve domates/karpuz/elma kabuğu gibi birçok bitkisel atık ultrases prosesinde protein ekstraksiyonuyla değerlendirilen kaynaklar arasında yer almakta olup ultrases ile protein ekstraksiyonunun çözünürlük, emülsiyon oluşturma kapasitesi ve stabilitesi, köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi, su/yağ bağlama ve jelleşme gibi fonksiyonel özellikler üzerine etkisinin farklı matrislerde incelendiği güncel çalışmalar Çizelge 2'de verilmektedir.

Çizelge 2. Ultrases destekli ekstraksiyonun bitkisel atık ve yan ürünlerden elde edilen proteinlerin fonksiyonel özellikleri üzerine etkisi

Fonksiyonel özellik	Protein kaynağı	Proses koşulları	Temel bulgular	Kaynak
Çözünürlük	Ayçiçeği küspesi	pH 9, 220W	%74.59	Dabbour vd. (2018)
	Soğuk preslenmiş domates tohumu	pH >10, 210W	> %20	Özyurt vd. (2021)
Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi	Bira endüstrisi atığı	250W, 20dk	EAI: 40.44±1.68 m <sup>2</sup> /g ES: %84.40±0.59	Li vd. (2021)
	Kaktüs bitkisi tohumu	150W-600W	EAI: 41.58±1.19 m <sup>2</sup> /g ESI: 67.70±3.01 dk	Li vd. (2023)
Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi	Ayçiçeği küspesi	pH 5-3, 220W	KK: %41.27 KS: %30.75	Dabbour vd. (2018)
	Pirinç kepeği	pH 9.5, 100W, 200W, 300W	KK: %41.3 KS: %88.6	Sun vd. (2021)
Jelleşme	Acı kavun tohumu küspesi	0-20 dk 300W, 375W, 450W	2.5-12.5 w/v	Naik vd., (2022)
Su ve yağ bağlama kapasitesi	Bira endüstrisi atığı	250W, 20dk	SBK:4.51±0.23 g/g YBK:3.10±0.10 g/g	Li vd. (2021)

EAI: emülsiyon aktivite indeksi, ES: emülsiyon stabilitesi, ESI: emülsiyon stabilite indeksi, KK: köpük kapasitesi, KS: köpük stabilitesi, SBK: su bağlama kapasitesi, YBK: yağ bağlama kapasitesi

### Çözünürlük

Yeni protein bileşenlerinin geliştirilmesi süreçlerinde proteinlerin çözünürlüğü su bağlama kapasitesi, emülsiyon ve köpük oluşturma aktiviteleri gibi diğer fonksiyonel özellikleri direkt olarak etkilediği için ayrı bir önem arz etmektedir (Lam vd., 2018). Çözünürlük, bir protein molekülünün belirli bir çözelti içerisinde karakteristik bir çözünme yeteneğine sahip olmasını ifade etmektedir. Proteinlerin çözünürlüğü, içerisinde bulunan hidrofilik ve hidrofobik aminoasit bileşimi, pH, iyonik kuvvet ve sıcaklık gibi faktörlerden etkilenmektedir. Hidrofobik aminoasit bileşimi fazla olan proteinler çökelti oluşturma ve toplanma eğiliminde olmalarından dolayı daha az çözünmektedirler. Proteinin uygun çözünme ortamının belirlenmesi, çevresel koşulların ayarlanması, ekstraksiyon yöntemi ve parametrelerinin seçilmesi çözünürlük özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir (Alsalman vd., 2020; Jahan vd., 2022; Lu vd., 2020). Yüksek yoğunluklu ultrases prosenin çeşitli kaynaklardan elde edilen proteinlerin fonksiyonelliğini modifiye ettiği yönündeki çalışmalar hız kazanmıştır. Ultrases prosenin proteinlerin çözünürlüğü üzerine etkisi genel olarak; (i) akustik kaviteasyonun hidrojen bağlarını ve hidrofobik etkileşimleri kırarak aminoasit kalıntılarının hidrofilik gruplarını açığa çıkarması, (ii) proteinlerin partikül boyutunu küçülterek su ile temas edecek olan yüzey alanını arttırmaları, (iii) büyük protein agregatlarını daha küçük agregatlara dönüştürmeleri ile ilişkilendirilmektedir (Rahman ve Lamsal, 2021; Tang vd., 2021; Gao vd., 2022). Kaviteasyon, hidrojen ve hidrofobik bağları kırarak protein molekül ağırlığının azalmasına ve protein ile su molekülleri arasındaki etkileşimin artmasına neden olmaktadır (Resendiz-Vazquez, vd., 2017).

Bitkisel atık ve yan ürünlerden ultrases ekstraksiyonuyla elde edilen proteinlerin çözünürlük özelliğine ait bazı örnekler Çizelge 2'de gösterilmektedir. Dabbour vd. (2018) ayçiçeği küsyesinden ultrases destekli ekstraksiyonla protein elde ettikleri çalışmalarında optimum USDE koşullarını 45°C sıcaklık, 220 W güç 15 dakika süre olarak belirlenmiştir. Bu

çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, pH 5'te protein çözünürlüğünün %0.39'la en düşük olduğunu pH 9'da ise çözünürlüğün %74.59 değeriyle en yüksek sonucu verdiği tespit edilmiştir. pH değeri proteinin izoelektrik noktasına yaklaştıkça proteinlerin çözünürlüğü azaldığı için pH 6.5 değerinin üzerindeyken protein çözünürlüğünün %70'ten büyük olduğu ifade edilmiştir. Bir başka çalışmada ise, soğuk preslenmiş domates çekirdeği atıklarından ultrases destekli ekstraksiyon (210 W, 60 dk) ile üretilen protein izolatının çözünürlüğünün izoelektrik noktada (pH 4) en düşük (%5.26) pH 10'un üzerinde ise %20'den daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ultrases yoğunluğu ve katı/sıvı oranı arttıkça verimliliğin arttığı ve ortaya çıkan hidrofobik grupların etkisiyle proteinlerin çözünürlük değerlerinin yükseldiği görülmüştür (Özyurt vd., 2021). Gao vd. (2022) çalışmalarında ultrases prosenin bitkisel proteinlerin çözünürlüğü artırma mekanizmalarını kapsamlı bir şekilde çalışmış ve artan protein çözünürlüğünü proteinlerin sekonder ve tersiyerler yapılarında değişim olması, ekstraksiyon sırasında ortama geçen diyet lifi gibi diğer bileşenlerin proteinlerle etkileşimi ve eş zamanlı çözünürlük sağlanması, çözünmeyen partikülleri çözünebilir küçük formdaki agregat durumuna getirmesi ile açıklamışlardır. Çözünebilir agregat ve protein-diyet lifi kompleksinin oluşumunda hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlerin etkin olduğunu göstermişlerdir (Gao vd., 2022).

### Emülsiyon aktivitesi

Emülsiyon, yağ ve su fazı gibi birbiri içerisinde çözünmeyen iki farklı sıvı karışımı olarak ifade edilmektedir. Proteinler ise amfifilik doğaları gereğince (hem hidrofilik hem de hidrofobik yapıları sayesinde) emülsiyondaki yağ-su ara yüzeyinde adsorbe olarak ve yağ damlacıklarını kaplamakta ve dağılımlarını stabilize ederek emülsifikasyonu sağlayabilmektedirler (Aryee vd., 2018). Proteinlerin emülsiyon oluşturma ve stabilize etme özelliklerini ölçmek için emülsiyon aktivite indeksi (EAİ) ve emülsiyon stabilite indeksi (ESİ) olmak üzere iki parametre kullanılmaktadır (Day vd., 2022). EAİ birim protein başına emülsifiye edilebilecek yağ

miktarının bir ölçüsüdür. Emülsiyon stabilite indeksi (ESİ) ise, bir proteinin birim zaman içerisinde emülsiyon aktivitesini koruma yeteneğidir. EAI ve ESİ aşağıdaki formüller ile hesaplanmaktadır (Pearce ve Kinsella, 1978).

$$EAI \left( \frac{m^2}{g} \right) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times SF}{C \times \Phi \times \theta \times 10000} \quad (4)$$

$$ESİ \text{ (min)} = \frac{A_0}{A_0 - A_t} \times \Delta t \quad (5)$$

Burada SF: seyreltme faktörünü, C: Başlangıç protein konsantrasyonunu (g/mL),  $\Phi$ : ışık yolunu (1 cm),  $\theta$ : emülsiyon oluşturmada kullanılan yağın fraksiyonunu,  $A_0$ : t= 0 anındaki absorbansı ve  $A_t$  ise t süre sonundaki absorbansı ifade etmektedir.

Bir proteinin emülsiyon oluşturma aktivitesi ve stabilize etme yeteneği emülsiyon kapasitesi olarak adlandırılmaktadır. Emülsiyon kapasitesi protein yapısı, bileşimi, iyonik güç, pH, protein konsantrasyonu ve proses koşullarından olumlu ya da olumsuz şekilde etkilenmektedir. Bitkisel atık ve yan ürünlerden ultrases ekstraksiyonuyla elde edilen proteinlerin emülsiyon oluşturma aktivitesi ve stabilitesine ait bazı örnekler Çizelge 2'de gösterilmektedir. Bira endüstrisinin tahıl atığı için uygulanan USDE işleminin (220 W, %60 genlik ve 20 dk) proteinin emülsifiye edici özelliklerini arttırdığı gözlenmiştir. Emülsiyon aktivitesi, geleneksel ekstraksiyon uygulanmış tahıl atığında  $38.69 \pm 0.45$  m<sup>2</sup>/g değerindeyken USDE uygulanmış tahıl atığında bu değer  $40.44 \pm 1.68$  m<sup>2</sup>/g değerinde bulunmuştur. Emülsiyon stabilitesi ise aynı şartlarda ekstraksiyon yapıldığında geleneksel ekstraksiyon uygulanan tahıl atığının değeri  $\%65.55 \pm 1.01$  düzeyindeyken USDE uygulamasından sonra  $\%29$ 'a yakın bir artışla  $\%84.40 \pm 0.59$  değerine ulaşmıştır. Ultrases destekli ekstraksiyonun incelenen tahıl atığının hem emülsiyon aktivitesinde hem de emülsiyon stabilitesinde olumlu bir artış sağladığı gözlemlenmiştir (Li vd., 2021). Kaktüs bitkisinin tohumundan ultrases ekstraksiyonuyla elde edilen proteinlerin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini inceleyen başka bir çalışmada ise ultrases yoğunluğundaki artışın emülsiyon aktivitesini ve stabilitesini arttırdığı görülmüştür. Kontrol grubunda sırasıyla EAI ve ESİ değeri sırasıyla  $20.32 \pm 1.1$  m<sup>2</sup>/g ve

$30.35 \pm 5.21$  dk olarak belirlenirken gücün 150 W düzeyinden 600 W düzeyine artırılmasıyla EAI değerinin  $26.37 \pm 2.31$ 'den  $41.58 \pm 1.19$  m<sup>2</sup>/g seviyesine; ESİ değerinin ise yaklaşık 41 dk'dan 68 dk'ya yükseldiği belirlenmiştir (Li vd., 2023). Emülsifikasyon içecek, dondurma, sos ve çırpılmış ürünlerin geliştirilmesinde önemli bir özellik olup ultrases prosesiyle emülsifikasyon özelliği iyileştirilmiş protein üretimi bitkisel proteinlerin farklı ürün kategorilerinde kullanım olanaklarını artırma potansiyeli taşımaktadır.

### Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi

Proteinlerin köpük oluşturma özellikleri gıda endüstrisinde fırın ürünleri, kremler, alkollü-alkolsüz içecek çeşitlerinde önemli bir etkiye sahiptir. Köpürme özellikleri proteinin yapısı, hidrofobiklik, pH ve iyonik güç ve çözünürlük gibi parametrelere bağlıdır (Sheng vd., 2018). Köpük oluşturma kapasitesi (KK), hava ya da gaz varlığında mekanik bir etki sonucu proteinin film oluşturma yeteneğini göstermektedir. Köpük stabilitesi (KS) zaman içerisinde oluşan köpük miktarının korunma yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Bu özelliklerin belirlenmesi için protein solüsyonu bir homojenizatör yardımıyla mekanik olarak karıştırılmakta ve homojenizasyonla oluşan köpük seviyesi ve stabilitesi belirlenmektedir. Köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi sırasıyla Eşitlik 6 ve Eşitlik 7 ile hesaplanmaktadır (Karabulut ve Yemiş, 2022).

$$KK(\%) = \frac{V_0 - V}{V} \times 100 \quad (6)$$

$$KS(\%) = \frac{(V_t - V)}{(V_0 - V)} \times 100 \quad (7)$$

Bu eşitliklerde  $V_0$  homojenizasyonun hemen sonrasındaki protein solüsyonunun hacmini,  $V_t$  t süre sonundaki protein solüsyonunun hacmini ve  $V$  ise başlangıçta hazırlanan protein solüsyonunun hacmini ifade etmektedir.

Bitkisel proteinlerin köpük oluşturma özellikleri protein kaynağına, çeşidine, yetiştirilme koşullarına, ekstraksiyon prosesi ve ekstraksiyon sonrasındaki uygulamalara bağlı olarak değişmektedir (Amagliani vd., 2021). Bitkisel atıklardan US ile elde edilen proteinlerin KK ve

KS özellikleriyle ilgili yapılan güncel çalışmalar Çizelge 2'de gösterilmektedir. Pirinç kepeğinden ultrases ekstraksiyonu ile protein elde edilen bir çalışmada KK değeri 200 W ve 20 dakikalık bir çalışmada KS değeri ise 100 W ve 20 dk çalışma koşullarında %88.6 olarak en yüksek seviyesine ulaşmaktadır. Kontrol grubunda ise KK ve KS değerleri sırasıyla %32.5 ve %65.5 olarak bulunmuş olup ultrases destekli ekstraksiyonunun protein izolasyonunun köpürme özellikleri üzerinde olumlu yönde etkilediği gözlemlenmiştir (Sun vd., 2021). Ayçiçeği küspesinden ultrases destekli ekstraksiyonla elde edilen proteinlerin farklı pH (3, 5, 7, 9, 11) seviyelerindeki köpürme özellikleri %19.52 – %41.27 arasında değişmekte olup minimum EA pH 5 değerinde ve maksimum EA ise pH 3 değerinde elde edilmiştir. KS ise pH farklılığından önemli düzeyde etkilenecek 0.41 – 30.75 aralığında değişim göstermiştir. pH 5 seviyesinde KS maksimum iken pH değeri yükseldikçe köpük stabilitesinin azaldığı görülmüştür. Bu durum, izoelektrik noktaya en yakın olan pH değerinde hava-su arayüzüne proteinlerin adsorpsiyonu ve viskoelastikliği ile açıklanmış olup aynı zamanda izoelektrik noktaya yakın olan pH seviyelerindeki düşük yüzey yükü ile ilişkilendirilmiştir (Dabbour vd., 2018). Ultrases dalgalarının protein izolasyonunun köpük oluşturma aktivitesi üzerine etkisi sonikasyon sonrasında protein yapısının kısmi olarak açılması hidrofobik bölgelerin açığa çıkması ve oluşan hava-su ara yüzüne proteinlerin adsorbe olmalarıyla ilişkilendirilmekte olup bu şekilde daha viskoelastik filmlerin oluşmasıyla da köpük stabilitesinin geliştiği bildirilmektedir (Xiong vd., 2018)

### Jelleşme

Proteinlerin jel oluşturma özelliği gıdaların dokusal özelliklerinde belirleyici rol oynadığı için gıda endüstrisi için önem arz etmektedir. Proteinlerin jelleşmesi proteinin açılması, ayrışması, birleşmesi ve toplanmasının bir sonucu olarak üç boyutlu, çapraz bağlı bir protein ağına oluşmasıyla gerçekleşmektedir (Bangar vd., 2022). Isı kaynaklı jelleşmede, öncelikle ısıtılmış bir çözücü içerisindeki çözünmüş proteinlerin üç boyutlu yapısının bozulması başlamakta ve

ardından katlanmış yapısı açılan proteinlerin belli bir konsantrasyona ulaştığında büyük yapılar halinde kümeleşmesi meydana gelmektedir (Jahan vd., 2022). Ultrases dalgaları proteinlerin jelleşme özelliğini modifiye edebilmekte; ancak, modifikasyonun seviyesi frekans, güç, ultrases modu, işlem süresi ve ekstraksiyon ortam özelliklerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Proteinlerin ses dalgalarına maruz kalmasıyla katmanlarının açılması ve sıcaklık varlığında denatürasyona kadar varan yapısal değişikliklerin olması söz konusudur. Akustik kaviteye baloncuklarının çökmesi sonucu bölgesel olarak açığa çıkan yüksek sıcaklıklar da konformasyonel değişikliklere sebep olmaktadır. Bu sebeple, proteinlerin ikincil ve üçüncül yapılarındaki değişiklik jelleşme özelliklerinin değişmesinin ana mekanizması olarak açıklanmaktadır (Bangar vd., 2022). Ultrases dalgalarının etkisi protein katmanlarının açılması ve protein yapısında gömülü olarak bulunan hidrofobik bölgelerin ve fonksiyonel grupların açığa çıkmasıyla moleküler düzeyde yeni hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlerin görülmesine ve en sonunda üç boyutlu jel ağ yapısının oluşmasıyla ilişkilendirilmiştir (Resendiz-Vazquez vd., 2017). Ultrases prosesi akustik kaviteye etkisiyle daha iyi hidrodinamik özelliğe sahip sıkı ve yoğun jel oluşumu sağlamaktadır (Téllez-Morales, 2020). Örneğin, 20 kHz frekansta 200 – 600 W güç aralığında 20 dakika süreyle uygulanan ultrases işlemiyle erik çekirdeği protein izolasyonunun jel gücünün ultrases uygulanmayan kontrol örneklerle kıyasla %5 – 28 düzeyinde arttığı rapor edilmiştir (Xue vd., 2018). Jel gücündeki değişim protein çözünürlüğünün artması ve partikül boyutunun azalmasıyla ilişkilendirilmekte olup bu durumda daha iyi dayanıklılığa sahip yoğun ve homojen jel ağlarının oluşması söz konusu olabilmektedir. Ultrases işleminin etkisiyle proteinin hidrofobik kısımları açığa çıktığı için jel oluşturma sırasında uygulanan ısı ile birlikte protein-protein agregatlarının oluşumu kolaylaşmakta ve daha fazla dayanıklılığa sahip jel ağları oluşabilmektedir (Rahman ve Lamsal, 2021). Bir diğer ifadeyle, çözünürlüğü yüksek daha küçük protein parçacıklarının içindeki hidrofobik etkileşimlerin ve disülfid bağlarının artması jelleşme kuvvetini

iyileştirebilmektedir (Gharibzahedi ve Smith, 2020). Naik vd. (2021) darbeleri ultrases destekli ekstraksiyon ile acı kavun tohumu küspesinden protein elde ederek fonksiyonel özelliklerini geleneksel ekstraksiyonla karşılaştırmıştır. Darbeleri ultrases destekli ekstraksiyonda minimum 2.5 w/v konsantrasyonunda güçlü jel oluşumu başlarken geleneksel ekstraksiyonda ise minimum 7.5 w/v konsantrasyonda jel oluşumu başladığı gözlemlendiği için ultrases dalgalarının protein parçacıklarını etkileyerek jel oluşumunu olumlu yönde etkilediğini ve acı kavun tohumu küspesi protein izolatının jelleştirici madde olarak kullanıma uygun olduğunu bildirmişlerdir.

### Su ve yağ bağlama

Proteinlerin su bağlama kapasitesi (SBK) ve yağ bağlama kapasitesi (YBK) proteinlerin sırasıyla birim başına ne kadar su ve yağ tutabileceklerinin bir ölçütüdür. Bu özellikler farklı gıda ürünlerinde sululuk, pişirilebilirlik, tekstür, sineresis ve hidrasyon gibi özellikleri etkilemektedir. SBK ve YBK'nın belirlenmesi için protein kütesinin damıtılmış su veya bitkisel yağ içinde dağıtılması, kuvvetli bir şekilde karıştırılması, karışımın santrifüjlenmesi ve fazla su ve yağın ayrılması aşamaları takip edilmektedir. Santrifüjlemeden önce ve sonra numunenin kütesindeki fark, proteinin ne kadar su veya yağ tutabileceğini belirlemek için kullanılmakta ve sonuçlar g su/g protein veya g yağ/g protein olarak ifade edilmektedir (Ma vd., 2022). Ultrases prosesinin artan güç ve uygulama süresiyle proteinlerin SBK değerini azalttığı yönünde bulgular elde edilmiştir. Örneğin; USDE işleminin bira tahıl atığının proteinleri için 150 – 300 W güç ile 5 – 25 dk arasında değişen uygulama koşullarında güç seviyesi arttıkça ve uygulama süresi uzadıkça proteinlerin su bağlama özelliklerinde azalmalar görüldüğü rapor edilmiş olup bu bulgu ultrasesle birlikte proteinin polipeptit katlarının açılarak hidrofobik bölgelerinin açığa çıkması ve hidrofilik etkileşimlerin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (Li vd., 2021). Bir başka çalışmada ise, ayçiçek proteininin SBK seviyesi 1.40 – 1.52 g su/ g protein olarak bildirilirken (Malik ve Saini, 2017), ayçiçeği küspesinden ultrasesle elde edilen proteinlerin SBK değerinin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (0.985 g su/g protein) (Dabbour

vd., 2018) (Çizelge 2). Bu durum ultrasesle proteinlerin partikül boyutunun küçülmesi, çözünürlüğünün artması ve SBK testi sırasında daha kolay çözünmesi ve dolayısıyla da daha düşük SBK değerlerinin belirlenmesiyle açıklanmıştır (Dabbour vd., 2018). Su bağlama bir proteinin suyu emme ve tutma yeteneğini göstermektedir. SBK protein yapısı, yük dağılımı, hidrofilik ve hidrofobik bölgelerin varlığı gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Yüksek su bağlama kapasitesine sahip proteinler nemi tutarak gıda ürünlerinde sululuk ve hidrasyona katkıda bulunabilmektedir. Yağ bağlama ise bir proteinin yağı emme ve tutma yeteneği olup benzer şekilde protein yapısından ve açıkta kalan hidrofobik bölgelerin varlığından etkilenmektedir (Feyzi vd., 2015; Yılmaz ve Hüriyet, 2017). SBK özelliğinin aksine ultrasesle küçülen partikül boyutları proteinlerin yüzey alanının artmasından dolayı yağ fazı ile etkileşime girme olasılığını yükseltmekte ve böylece proteinlerin yağ bağlama özellikleri gelişebilmektedir (Liu vd., 2019). Bira endüstrisinin tahıl atığı proteinlerinin yağ bağlama kapasitesi geleneksel ekstraksiyonla 2.85 g/g seviyesindeyken USDE işlemleriyle 3.10 g/g seviyesine yükselmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Li vd., 2021). Yağ bağlama özelliğinde lipitler ve proteinler etkileşime girdiği için hidrofobik özelliği daha yoğun olan proteinlerin YBK daha yüksek olmaktadır. Hedeflenen ürün grubuna ve amaca uygun olacak şekilde optimal USDE koşullarının belirlenmesi gerekmektedir.

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu derleme, ultrases teknolojisiyle bitkisel atık ve yan ürünlerden protein elde edilmesi ve ultrases destekli ekstraksiyonla proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin modifikasyonu üzerine yapılan güncel çalışmaları kapsamaktadır. Protein içeriği yüksek olan tarımsal ve endüstriyel atık ve yan ürünlerin değerlendirilerek döngüsel ekonomi çerçevesinde yeniden ekonomiye kazandırılması hayvansal proteinlere alternatif protein geliştirme ve yeni gıda katkı maddeleri üretme stratejilerine önemli düzeyde katkı sunacak niteliktedir. Bu kaynaklardaki lignoselülozik matriks yapısı dokuda bulunan proteinlerin ekstrakte edilebilirliğini sınırlayabildiği için ultrases gibi bitki

dokusuna etki edebilecek yeni yöntemlerle daha kısa sürede daha yüksek verimde protein eldesi söz konusu olabilmektedir. Uygun optimizasyon ve validasyon çalışmalarıyla yüksek yoğunluklu ultrases prosenin ekstraksiyon süreçlerine entegrasyonunun yapılması eş zamanlı olarak çözünürlük, emülsiyon oluşturma, köpük oluşturma, su/yağ bağlama, jelleşme gibi fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesine ve farklı gıda sistemleri için yeni protein bazlı gıda katkı maddelerinin üretilmesine yön verebilecektir.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI

Bu makalede yazarların, başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

### YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yazımına katkıda bulunmuş, son halini okuyarak onaylamıştır.

### KAYNAKÇA

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.

Alsaman, F.B., Tulbek, M., Nickerson, M., Ramaswamy, H.S. (2020). Evaluation and optimization of functional and antinutritional properties of aquafaba. *Legume Science*, 2(2): e30.

Amagliani, L., Silva, J. V., Saffon, M., Dombrowski, J. (2021). On the foaming properties of plant proteins: Current status and future opportunities. *Trends in Food Science & Technology*, 118, 261-272.

Ampofo, J., Ngadi, M. (2022). Ultrasound-assisted processing: Science, technology and challenges for the plant-based protein industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, 105955.

Aryee, A.N.A., Agyei, D., Udenigwe, C.C. (2018). Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins. In: *Proteins in Food Processing*, Rickey Y. Yada (ed.), 2<sup>nd</sup> edition. Woodhead Publishing, pp. 27-45.

Bangar, S.P., Esua, O.J., Sharma, N., Thirumdas, R. (2022). Ultrasound-assisted modification of

gelation properties of proteins: A review. *Journal of Texture Studies*, 53(6), 763-774.

Barbosa-Cánovas, G.V., Donsi, F., Yildiz, S., Candoğan, K., Pokhrel, P.R., Guadarrama-Lezama, A.Y. (2022). Nonthermal processing technologies for stabilization and enhancement of bioactive compounds in foods. *Food Engineering Reviews*, 1-37.

Bernardi, S., Lupatini-Menegotto, A.L., Kalschne, D.L., Moraes Flores, É.L., Bittencourt, P.R.S., Colla, E., Canan, C. (2021). Ultrasound: A suitable technology to improve the extraction and techno-functional properties of vegetable food proteins. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76, 1-11.

Bhargava, N., Mor, R.S., Kumar, K., Sharanagat, V.S. (2021). Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105293.

Burd, N.A., McKenna, C.F., Salvador, A.F., Paulussen, K.J., Moore, D.R. (2019). Dietary protein quantity, quality, and exercise are key to healthy living: a muscle-centric perspective across the lifespan. *Frontiers in Nutrition*, 83.

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560.

Chittapalo, T., Noomhorm, A. (2009). Ultrasonic assisted alkali extraction of protein from defatted rice bran and properties of the protein concentrates. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(9), 1843-1849.

Cui, L., Bandillo, N., Wang, Y., Ohm, J. B., Chen, B., Rao, J. (2020). Functionality and structure of yellow pea protein isolate as affected by cultivars and extraction pH. *Food Hydrocolloids*, 108, 106008.

Dabbour, M., He, R., Ma, H., Musa, A. (2018). Optimization of ultrasound assisted extraction of protein from sunflower meal and its physicochemical and functional

- properties. *Journal of Food Process Engineering*, 41(5), e12799.
- Day, L., Cakebread, J.A., Loveday, S.M. (2022). Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 428-442.
- Demirdöven, A. Baysal, T. (2020). Ultrases. *Gıda Mübendisliğinde Isıl Olmayan Teknolojiler*, Baysal, T. ve İçier, F. (eds.), Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., Ankara, 2. Baskı, s. 197-218.
- Fărcaș, A.C., Socaci, S.A., Nemeș, S.A., Salanță, L.C., Chiș, M.S., Pop, C.R., Borșa, A., Diaconeasa, Z., Vodnar, D.C. (2022). Cereal Waste Valorization through Conventional and Current Extraction Techniques—An Up-to-Date Overview. *Foods*, 11(16), 2454.
- Feyzi, S., Varidi, M., Zare, F., Varidi, M.J. (2015). Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seed protein isolate: extraction optimization, amino acid composition, thermo and functional properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(15), 3165-3176.
- Gao, K., Rao, J., Chen, B. (2022). Unraveling the mechanism by which high intensity ultrasound improves the solubility of commercial pea protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 131, 107823.
- Gharibzahedi, S.M.T., Smith, B. (2020). The functional modification of legume proteins by ultrasonication: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 107-116.
- Golly, M.K., Ma, H., Yuqing, D., Dandan, L., Quaisie, J., Tuli, J.A., Mintah, B.K., Dzah, C.S. Agordoh, P.D. (2020). Effect of multi-frequency countercurrent ultrasound treatment on extraction optimization, functional and structural properties of protein isolates from walnut (*Juglans regia* L.) meal. *Journal of Food Biochemistry*, 44(6), e13210.
- Görgüç, A., Bircan, C., Yılmaz, F.M. (2019). Sesame bran as an unexploited by-product: Effect of enzyme and ultrasound-assisted extraction on the recovery of protein and antioxidant compounds. *Food Chemistry*, 283, 637-645.
- Hermundsdottir, F., Aspelund, A. (2021). Sustainability innovations and firm competitiveness: A review. *Journal of Cleaner Production*, 280, 124715.
- Jahan, K., Ashfaq, A., Younis, K., Yousuf, O., Islam, R.U. (2022). A review of the effects of ultrasound-assisted extraction factors on plant protein yield and functional properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(4), 2875-2883.
- Kamal, H., Ali, A., Manickam, S., Le, C.F. (2023). Impact of cavitation on the structure and functional quality of extracted protein from food sources—An overview. *Food Chemistry*, 407, 135071.
- Kamal, H., Le, C.F., Salter, A.M., Ali, A. (2021). Extraction of protein from food waste: An overview of current status and opportunities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(3), 2455-2475.
- Karabulut, G., Yemiş, O. (2022). Modification of hemp seed protein isolate (*Cannabis sativa* L.) by high-intensity ultrasound treatment. Part 1: Functional properties. *Food Chemistry*, 375, 131843.
- Karabulut, G., Yıldız, S., Karaca, A.C., Yemiş, O. (2023). Ultrasound and enzyme-pretreated extraction for the valorization of pea pod proteins. *Journal of Food Process Engineering*, e14452.
- Kumar, M., Tomar, M., Potkule, J., Verma, R., Punia, S., Mahapatra, A., ... Kennedy, J.F. (2021). Advances in the plant protein extraction: Mechanism and recommendations. *Food Hydrocolloids*, 115, 106595.
- Lam, A.C.Y., Can Karaca, A., Tyler, R.T., Nickerson, M.T. (2018). Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality. *Food Reviews International*, 34(2), 126-147.
- Li, X., Qi, B., Zhang, S., Li, Y. (2023). Effects of ultrasonic treatment on the structural and functional properties of cactus (*Opuntia ficus-indica*) seed protein. *Ultrasonics Sonochemistry*, 106465.
- Li, W., Yang, H., Coldea, T. E., Zhao, H. (2021). Modification of structural and functional

- characteristics of brewer's spent grain protein by ultrasound assisted extraction. *LWT*, 139, 110582
- Liu, Y., Ma, X. Y., Liu, L. N., Xie, Y. P., Ke, Y. J., Cai, Z. J., Wu, G.J. (2019). Ultrasonic-assisted extraction and functional properties of wampee seed protein. *Food Science and Technology*, 39, 324-331.
- Loveday, S.M. (2019). Food proteins: technological, nutritional, and sustainability attributes of traditional and emerging proteins. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10, 311-339.
- Lu, Z.X., He, J.F., Zhang, Y.C., Bing, D.J. (2020). Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(15), 2593-2605.
- Ly, H.L., Tran, T.M.C., Tran, T.T.T., Ton, N.M.N., Le, V.V.M. (2018). Application of ultrasound to protein extraction from defatted rice bran. *International Food Research Journal*, 25(2), 695-701.
- Ma, K.K., Greis, M., Lu, J., Nolden, A.A., McClements, D.J., Kinchla, A.J. (2022). Functional performance of plant proteins. *Foods*, 11(4), 594.
- Malik, M.A., Saini, C.S. (2017). Gamma irradiation of alkali extracted protein isolate from dephenolized sunflower meal. *LWT*, 84, 204-211.
- McClements, D.J. (2020). Future foods: Is it possible to design a healthier and more sustainable food supply?. *Nutrition Bulletin*, 45(3), 341-354.
- Mellinas, C., Solaberrieta, I., Pelegrín, C.J., Jiménez, A., Garrigós, M.C. (2022). Valorization of Agro-Industrial Wastes by Ultrasound-Assisted Extraction as a Source of Proteins, Antioxidants and Cutin: A Cascade Approach. *Antioxidants*, 11(9), 1739.
- Naik, M., Natarajan, V., Modupalli, N., Thangaraj, S., Rawson, A. (2022). Pulsed ultrasound assisted extraction of protein from defatted Bitter melon seeds (*Momordica charantia* L.) meal: Kinetics and quality measurements. *LWT*, 155, 112997.
- Namugenyi, C., Nimmagadda, S.L., Reiners, T. (2019). Design of a SWOT analysis model and its evaluation in diverse digital business ecosystem contexts. *Procedia Computer Science*, 159, 1145-1154.
- Nguyen, T.H., Le, V.V.M. (2019). Effects of technological parameters of ultrasonic treatment on the protein extraction yield from defatted peanut meal. *International Food Research Journal*, 26(3), 1079-1085.
- Ochoa-Rivas, A., Nava-Valdez, Y., Serna-Saldívar, S.O., Chuck-Hernández, C. (2017). Microwave and ultrasound to enhance protein extraction from peanut flour under alkaline conditions: Effects in yield and functional properties of protein isolates. *Food and Bioprocess Technology*, 10, 543-555.
- Osborne TB. (1908). Our present knowledge of plant proteins. *Science* 28:417-427
- Özkan, G., Subaşı, B.G., Beştepe, S.K., Güven, E.Ç. (2022). Sürdürülebilir Gıda ve Tarımsal Atık Yönetimi. *Çevre İklim ve Sürdürülebilirlik*, 23(2), 145-160.
- Özyurt, V.H., Tetik, I., Ötleş, S. (2021). Influence of process conditions on ultrasound-assisted protein extraction from cold pressed tomato seed waste. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(12), e16079.
- Panda, D., Manickam, S. (2019). Cavitation technology—The future of greener extraction method: A review on the extraction of natural products and process intensification mechanism and perspectives. *Applied Sciences*, 9(4), 766.
- 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.
- Qiaoyun, C., Xinghong, N.I., Liang, Z., Zheng, T., Jin, L., Kang, S., Xuan, C., Xinghui, L. (2017). Optimization of protein extraction and decoloration conditions for tea residues. *Horticultural Plant Journal*, 3(4), 172-176.
- Qiu, M., Wang, N., Pend, J., Li, Y., Li, L., Xie, X. (2023). Ultrasound-assisted reverse micelle extraction and characterization of tea protein



- from tea residue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(8), 4068-4076.
- Rahman, M.M., Byanju, B., Grewell, D., Lamsal, B.P. (2020). High-power sonication of soy proteins: Hydroxyl radicals and their effects on protein structure. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 105019.
- Rahman, M.M., Lamsal, B.P. (2021). Ultrasound-assisted extraction and modification of plant-based proteins: Impact on physicochemical, functional, and nutritional properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1457-1480.
- Resendiz-Vazquez, J.A., Ulloa, J.A., Urías-Silvas, J.E., Bautista-Rosales, P.U., Ramírez-Ramírez, J.C., Rosas-Ulloa, P., González-Torres, L. (2017). Effect of high-intensity ultrasound on the technofunctional properties and structure of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed protein isolate. *Ultrasonic Sonochemistry*. 37, 436-444.
- Sari, Y.W., Bruins, M.E., Sanders, J.P. (2013). Enzyme assisted protein extraction from rapeseed, soybean, and microalgae meals. *Industrial Crops and Products*, 43, 78-83.
- Sari, Y.W., Mulder, W.J., Sanders, J.P., Bruins, M.E. (2015). Towards plant protein refinery: review on protein extraction using alkali and potential enzymatic assistance. *Biotechnology Journal*, 10(8), 1138-1157.
- Sheng, L., Wang, Y., Chen, J., Zou, J., Wang, Q., Ma, M. (2018). Influence of high-intensity ultrasound on foaming and structural properties of egg white. *Food Research International*, 108, 604-610.
- Soto-Sierra, L., Stoykova, P., Nikolov, Z. L. (2018). Extraction and fractionation of microalgae-based protein products. *Algal Research*, 36, 175-192.
- Sun, L.H., Yu, F., Wang, Y.Y., Lv, S.W., He, L.Y. (2021). Effects of ultrasound extraction on the physicochemical and emulsifying properties of rice bran protein. *International Journal of Food Engineering*, 17(5), 327-335.
- Tang, S.Q., Du, Q.H., Fu, Z. (2021). Ultrasonic treatment on physicochemical properties of water-soluble protein from *Moringa oleifera* seed. *Ultrasonics Sonochemistry*, 71, 105357.
- Tanger, C., Engel, J., Kulozik, U. (2020). Influence of extraction conditions on the conformational alteration of pea protein extracted from pea flour. *Food Hydrocolloids*, 107, 105949.
- Téllez-Morales, J. A., Hernández-Santo, B., Rodríguez-Miranda, J. (2020). Effect of ultrasound on the techno-functional properties of food components/ingredients: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 61, 104787.
- Tiwari, A., Khawas, R. (2021). Food waste and agro by-products: A step towards food sustainability. In: *Innovation in the food sector through the valorization of food and agro-food by-products*, Ana Novo de Barros and Irene Gouvinhas (eds), IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.96177
- Tiwari, B.K., Mason, T.J. (2012). Ultrasound processing of fluid foods. In: *Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods*, Academic Press, pp. 135-165.
- Tripathi, A.D., Mishra, R., Maurya, K.K., Singh, R.B., Wilson, D.W. (2019). Estimates for world population and global food availability for global health. In: *The role of functional food security in global health*, Academic Press, pp. 3-24.
- TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu), (2021). Atık İstatistikleri, 2020. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Atik%20İstatistikleri-2020-37198>. (Erişim tarihi: 27.03.2023).
- United Nations (2015). United Nations - The Millennium Development Goals Report. [https://www.un.org/millenniumgoals/2015\\_MDG\\_Report/pdf/MDG%202015%20rev%20\(July%201\).pdf](https://www.un.org/millenniumgoals/2015_MDG_Report/pdf/MDG%202015%20rev%20(July%201).pdf). Erişim Tarihi: 01.08.2023
- Van Dijk, M., Morley, T., Rau, M. L., Saghai, Y. (2021). A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food*, 2(7), 494-501.
- Wang, F., Zhang, Y., Xu, L., Ma, H. (2020). An efficient ultrasound-assisted extraction method of pea protein and its effect on protein functional properties and biological activities. *LWT*, 127, 109348.

Xiong, T., Xiong, W., Ge, M., Xia, J., Li, B., Chen, Y. (2018). Effect of high intensity ultrasound on structure and foaming properties of pea protein isolate. *Food Research International*, 109, 260-267.

Xue, F., Zhu, C., Liu, F., Wang, S., Liu, H., Li, C. (2018). Effects of high-intensity ultrasound treatment on functional properties of plum (*Pruni domesticae* semen) seed protein isolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(15), 5690-5699.

Yagoub, A.A., Ma, M., Zhou, C. (2017). Ultrasonic-assisted extraction of protein from rapeseed (*Brassica napus* L.) meal: Optimization

of extraction conditions and structural characteristics of the protein. *International Food Research Journal*, 24(2), 621.

Yao, Y., Pan, Y., Liu, S. (2020). Power ultrasound and its applications: A state-of-the-art review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 62, 104722.

Yılmaz, E., Hürriyet, Z. (2017). Physico-chemical and functional properties of extracted capia pepperseed (*Capsicum annum* L.) proteins. *Waste and Biomass Valorization*, 8, 871-881.



**DRYING OF CHERRY LAUREL JUICE USING FOAM MAT DRYING  
TECHNIQUE AND INVESTIGATING THE EFFECT OF DRYING  
TEMPERATURE ON DRYING CHARACTERISTICS AND BIOACTIVE  
COMPONENTS**

**Mehmet Güldane<sup>1\*</sup>, Hamza Bozkır<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Sakarya University of Applied Sciences, Pamukova Vocational School, Department of Chemistry and Chemical Processing Technologies, Sakarya, Turkey

<sup>2</sup> Sakarya University of Applied Sciences, Pamukova Vocational School, Department of Food Processing, Sakarya, Turkey

Received /Geliş: 01.09.2023; Accepted /Kabul: 25.12.2023; Published online /Online baskı: 09.01.2024

Güldane, M., Bozkır, M. (2024). Drying of cherry laurel juice using foam mat drying technique and investigating the effect of drying temperature on drying characteristics and bioactive components. *GIDA* (2024) 49 (1) 88-100 doi: 10.15237/gida.GD23099

Güldane, M., Bozkır, M. (2024). Karayemiş özütünün köpük mat kurutma yöntemiyle kurutulması ve kurutma sıcaklığının kuruma karakteristikleri ve biyoaktif bileşenler üzerine etkisinin araştırılması. *GIDA* (2024) 49 (1) 88-100 doi: 10.15237/gida.GD23099

**ABSTRACT**

This study aimed to optimize the foam properties for the foam mat drying (FMD) process and investigate the effect of drying temperatures (60, 70, and 80 °C) on the cherry laurel juice's drying characteristics and bioactive properties. Egg white protein (EWP), carboxymethyl cellulose (CMC), and mixing time (MT) variables were optimized using the Taguchi method to achieve the juice foam with maximum foam capacity and stability. The optimal conditions determined were 10% EWP, 0.3% CMC, and 12 min of MT. The drying times and effective moisture diffusivities ( $D_{eff}$ ) for 60, 70, and 80 °C were recorded as 160, 120 and 90 min and  $6.09 \times 10^{-9}$ ,  $7.74 \times 10^{-9}$  and  $11.33 \times 10^{-9}$  m<sup>2</sup>/s, respectively. As the drying temperature increased, the total phenolic and total monomeric anthocyanin contents, and antioxidant activity values increased, but ascorbic acid content decreased. This research demonstrates that the FMD process can successfully be applied to dry juices with pronounced bioactive properties.

**Keywords:** Ascorbic acid, phenolic, foam capacity and stability, Taguchi optimization

**KARAYEMİŞ ÖZÜTÜNÜN KÖPÜK MAT KURUTMA YÖNTEMİYLE  
KURUTULMASI VE KURUTMA SICAKLIĞININ KURUMA  
KARAKTERİSTİKLERİ VE BİYOAKTİF BİLEŞENLER ÜZERİNE ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**ÖZ**

Bu çalışmada, köpük mat kurutma (KMK) prosesi için köpük özelliklerinin optimize edilmesi ve farklı kurutma sıcaklıklarının (60, 70 ve 80 °C) ürünün kuruma karakteristikleri ve biyoaktif özelliklerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Optimum köpük kapasitesi ve stabilitesine sahip karayemiş

\* Corresponding author/ Sorumlu yazar

✉: mehmetguldane@subu.edu.tr

☎: (+90) 264 616 08 00

Mehmet Güldane; ORCID no: 0000-0001-7321-0496

Hamza Bozkır; ORCID no: 0000-0002-8868-697X

özütü köpüğü elde etmek için yumurta akı proteini (EWP), karboksimetil selüloz (CMC) ve mikseleme süresi (MS) değişkenleri Taguchi yöntemiyle optimize edilmiştir. Optimal koşullar %10 EWP, %0.3 CMC ve 12 dk. MS olarak belirlenmiştir. KMK işleminde 60, 70 ve 80 °C için kuruma süreleri ve efektif nem yayımları sırasıyla 160, 120 ve 90 dk ve  $6.09 \times 10^{-9}$ ,  $7.74 \times 10^{-9}$  ve  $11.33 \times 10^{-9}$  m<sup>2</sup>/s olarak saptanmıştır. Bununla birlikte, kurutma sıcaklığının yükseltilmesiyle toplam fenolik madde ve toplam monomerik antosiyanin içerikleri ile antioksidan aktivite değerleri artmış askorbik asit içeriği ise azalmıştır. Bu çalışma, KMK işleminin belirgin biyoaktif özelliklere sahip meyve sularına başarıyla uygulanabileceğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Askorbik asit, fenolik, köpük kapasitesi ve kararlılığı, Taguchi optimizasyon

### INTRODUCTION

Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* L.) is the fruit of a tree belonging to the Rosaceae family, primarily consumed in the Eastern Black Sea region in Türkiye, where it grows naturally (Vahapoğlu et al., 2018). Also known as "Taflan", this fruit has a unique taste and its beneficial health properties are an important factor in its preference (Aktürk Gümüşay and Yıldırım Yalçın, 2019). In folk medicine, the fruits, leaves, and seeds of cherry laurel are utilized for their health-promoting properties. However, the bioactive compound content and the composition of cherry laurel fruits vary due to genetic, environmental factors, and post-harvest processing conditions (Kolaylı et al., 2003). For instance, the total anthocyanin, phenolic, carotenoid, and ascorbic acid contents, and DPPH radical scavenging activities of 11 different cherry laurel varieties collected from the Rize region varied between 123-205 mg C3G/100 g, 364-503 mg GAE/100 g, 207-278 mg/100 g, 3.7-6.8 mg/100 g and 21.2-32.2 µmol Trolox/g, respectively (Celik et al., 2011). Cherry laurel fruit, usually consumed as fresh fruit in June-July, is spoiled easily due to its high water content. Therefore, various preservation methods are employed to extend shelf life and enable consumption throughout the year (Beyhan, 2010). Cherry laurels can be processed into further processing products such as jam, marmalade, molasses, and fruit juice. This fruit, which is also processed into brine, is generally preserved by traditional drying methods (Beyhan, 2010; Liyana-Pathirana et al., 2006).

Drying, a common preservation method for foods with high water content (>75%), reduces storage, packaging, and transportation costs, ensuring microbiological and chemical stability (Bozkir, 2020). For this purpose, the hot air

drying method is widely utilized. However, the waxy film layer formed on the upper surface of the dried material in this method causes prolonged drying time (Zielinska et al., 2018). As a consequence, as it leads to a reduction in bioactive components, alternative drying techniques are required (Bozkir et al., 2021). Altuntas et al. (2022) noted a drying time of 22.5 h at 50 °C in the hot air drying process for cherry laurel. In a study conducted by Güleç Özdemir (2017), the drying times for Taflan were determined as 20 min for microwave drying, 90 min for infrared drying, and 30 h for conventional (sun) drying. Turkmen et al. (2020) revealed that freeze drying was better than both hot air drying and ultrasound-assisted vacuum drying in terms of preserving the bioactive components found in cherry laurel fruit.

Foam mat drying (FMD) can also be preferred for products rich in bioactive ingredients due to its low investment cost and short drying time (Kanha et al., 2022). The basic principle of FMD involves converting fruit juice or puree into foam form by whipping with the help of foaming agents. The mixing process increases the surface area, facilitating effective drying by entrapping air within the product. Foaming agents play a crucial role in maintaining a stable foam throughout the drying process. The resulting foam is spread in a thin layer on a mat and then subjected to drying using methods such as hot air, freeze, and microwave drying. During the drying process, water vapors can easily escape to the external environment through the microchannels formed between the air cells, thus significantly reducing the drying time (Aslan and Ertaş, 2021; Azizpour et al., 2017; Osama et al., 2022).

Taguchi method is an optimization technique that provides robust design solutions by reducing the number of experiments. The most important advantage of this approach is that experimental studies are carried out at a lower cost, and practical solutions are produced in a shorter time compared to one factor at a time technique. In addition, process parameters that have insignificant effects on the process can be detected in this method (Güldane, 2023; Guldane and Dogan, 2022). Ana Maria et al. (2019) obtained instant cocoa powder enriched with lavender extract by FMD method. The researchers successfully optimized lavender extraction conditions using the Taguchi method. Similarly, using the Taguchi approach, Berktaş et al. (2023) optimized the drying process of quince slices coated with  $\text{CaCl}_2$  and pectin by hot air and microwave methods. In another study, the drying parameters for hot air drying for tomato slices were optimized by the Taguchi technique (Hussein et al., 2021). The purpose of this study was to optimize the foam mat drying process of cherry laurel juice using the Taguchi approach. In addition, the effect of drying temperature on the drying characteristics of the optimal foams and the bioactive properties of the powder products were also investigated.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Cherry laurel fruits were harvested from the Sakarya University campus in the first week of August and stored at +4 °C. Foaming agents, such as egg white protein (EWP) and carboxymethyl cellulose (CMC) powders, were purchased from Tito (Turkiye). All chemicals and reagents utilized were of analytical purity and were obtained from Merck (Germany).

### Methods

#### *Preparation of cherry laurel juice*

The fruits were washed after removing stems, branches, rotten fruits, and other non-fruit components by hand, and the fruit puree was then obtained using a solid fruit juicer. The puree and fruit pieces were transferred to a clean muslin cloth and pressed using a standard cheese press weighing 20 kg to extract the fruit juice. After the

Brix value of the resulting cherry laurel juice was fixed at 10 °B, the juice was transferred into a brown glass bottle and stored at +4 °C.

#### *Preparation of foaming agents*

To prepare the stock EWP (20% w/v) and CMC (1% (w/v)) solutions, the powder samples were dissolved and hydrated completely by stirring with a magnetic stirrer at 200 rpm. The protein solution was stirred for 2 hours and stored at +4 °C, while the foam stabilizer solution was stirred continuously overnight at room conditions.

#### *Cherry laurel foam production*

100 g of fruit juice and the required amount of EWP (5, 10, 15%) and CMC (0.1, 0.3, 0.5%) were added to a beaker and mixed in a magnetic stirrer at 200 rpm for 15 min. Then, the foaming solution was transferred to the mixer bowl (Kenwood KM070, UK) and whipped at 160 rpm for different times (4, 8, and 12 min). Foam capacity and foam stability analyses were performed on the foam sample produced. Cherry laurel foam production was carried out according to the Taguchi  $L_9$  experimental design presented in Table 2. The foam sample made under optimum conditions was used in the FMD of cherry laurel juices.

#### *Foam mat drying of cherry laurel foam*

The  $105 \pm 0.01$  g of cherry laurel juice produced under optimal conditions was transferred to a rectangular aluminum tray (130 mm × 60 mm × 5 mm). The foam surface was gently leveled with a plastic spatula. The laying thickness of the foam was measured as  $0.80 \pm 0.01$  cm. The drying tray was then transferred to a hot-air dryer (Neodry Drier Machine, Turkey). The cherry laurel foam was dehydrated at different temperatures (60, 70, and 80 °C) and a constant air velocity of 2 m/s. The literature studies (Güldane, 2023a; Iasnaia Maria de Carvalho et al., 2017; Maria de Carvalho Tavares et al., 2019) and laboratory pre-trial results were taken into consideration to determine these parameters. Throughout drying, the trays were weighed every 10 min using an electronic balance (Radwag PS 4500, Poland). The drying process was maintained until the samples reached 5% (wet basis (w.b)) moisture level. Following

drying, the pieces were removed from the dryer and homogenized by a blender. The samples were then stored in airtight packages at +4 °C.

*Experimental design*

The Taguchi optimization method optimized the quality characteristics of cherry laurel juice foam, such as foam capacity and foam stability. The study was designed using Minitab 19.0 software. The studies were conducted based on Taguchi L<sub>9</sub> experimental design consisting of three factors

and three levels (Table 2). In the optimization of foam properties, EWP (5, 10, and 15 %), CMC (0.1, 0.3, and 0.5 %), and MT (4, 8, and 12 min) variables were considered as control parameters (Table 1). Literature reviews (Asokapandian et al., 2016; Gao et al., 2022; Nemati et al., 2022; Salahi et al., 2015; Santos and Martins, 2022; Varhan et al., 2019) and laboratory preliminary trial reports were utilized to determine the process variables and their levels.

Table 1. Process variables and levels for cherry laurel foam production

Variables	Unit	Symbol	Level 1	Level 2	Level 3
Egg white protein (EWP)	%	A	5	10	15
Carboxymethyl cellulose (CMC)	%	B	0.1	0.3	0.5
Mixing time (MT)	min	C	4	8	12

Table 2. Taguchi L<sub>9</sub> (3<sup>3</sup>) orthogonal design, experimental results, and S/N ratio values

Run	Variables			Responses			
	A	B	C	Foam capacity (%)	S/N ratio (dB)	Foam stability (min)	S/N ratio (dB)
1	5	0.1	4	52.00 ± 1.63	34.32	75.67 ± 0.47	37.58
2	10	0.1	8	67.00 ± 1.41	36.52	92.33 ± 1.70	38.31
3	15	0.1	12	63.33 ± 0.94	36.03	85.67 ± 2.05	38.66
4	5	0.3	8	100.33 ± 1.25	40.03	123.33 ± 0.47	42.09
5	10	0.3	12	108.00 ± 1.63	40.67	137.00 ± 2.49	42.73
6	15	0.3	4	83.33 ± 0.47	38.42	103.00 ± 2.16	40.26
7	5	0.5	12	102.33 ± 2.05	40.20	124.67 ± 1.41	41.98
8	10	0.5	4	87.00 ± 2.16	38.79	103.33 ± 0.47	40.28
9	15	0.5	8	88.33 ± 0.47	38.92	105.33 ± 0.47	40.45

The Taguchi technique is an optimization method capable of providing robust design solutions with few experiments. In this method, the response variables "larger is better", nominal is better," and "smaller is better" are optimized according to the Signal (S)/Noise (N) data. In this study, the "larger is better" option (Equation 1), which corresponds to the maximum levels of S/N ratios for each of the responses, was preferred since it is aimed to maximize the foam capacity and foam stability responses (Güldane, 2023).

$$S/N = -10 \log \left[ \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{1}{y_{ij}^2} \right] \quad (1)$$

Where y<sub>ij</sub> is the i. result of the j. factor experiment and n is the number of replicate tests of i.

**Analyzes**

*Foam properties of cherry laurel foam*

Foam capacity (FC)

Foam capacity, which represents foamability, was determined by Equation 2 according to Güldane and Dogan (2022).

$$FC (\%) = \frac{M_L - M_F}{M_F} \times 100 \quad (2)$$

where M<sub>L</sub> ve M<sub>F</sub> indicates the weight of pre-foam solution and foam, respectively.

Foam stability (FS)

In this study, the FS of the samples was evaluated using the drainage half-life values. The analysis was carried out using a method proposed by

Güldane (2023). Briefly, 40 g of cherry laurel foam was transferred into a plastic container (280 cm<sup>3</sup>), which contained a hole about 6 mm in diameter at the bottom surface. The container was positioned on a level surface at a 45° C angle. The reduction in foam mass was measured every 5 min, and the time required to remove 20 g of liquid from the foam structure was calculated as the drainage half-life.

### Determination of drying characteristics

#### Drying rate (DR)

The samples' drying rate (DR) was calculated by Equation 3 using the method proposed by Bozkir et al. (2021).

$$DR = \frac{M_{t+dt} - M_t}{dt} \quad (3)$$

where  $M_{t+dt}$  is the moisture content at  $t+dt$ , and  $t$  represents the time.

#### Moisture ratio (MR)

The moisture content of cherry laurel juice foams was determined by Equation 4 (Dehghannya et al., 2019).

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_i - M_e} \quad (4)$$

where  $M_t$  is the moisture content at any time ( $t$ ).  $M_i$  and  $M_e$  are initial and equilibrium moisture contents, respectively.

#### Effective moisture diffusivity ( $D_{eff}$ )

Effective moisture diffusivity ( $D_{eff}$ ) values for drying cherry laurel juice foams were determined by calculating the  $D_{eff}$  value employing Equation 5 in accordance with Fick's second law (Watharkar et al., 2021).

$$\ln(MR) = \ln\left(\frac{8}{\pi^2}\right) - (\pi^2 \frac{D_{eff}}{4L^2} t) \quad (5)$$

where  $L$  and  $t$  indicate the foam thickness and drying time, respectively.

### Determination of bioactive properties

#### Extraction of bioactive components

The method proposed by Michalska-Ciechanowska et al. (2020) was partially modified and employed for extracting bioactive compounds from powdered samples. Briefly, 25 mL of methanol (80% (v/v)) was added to 1 g of

cherry laurel extract foam powder, which was then mixed using a magnetic stirrer at 200 rpm for 15 min. Following this, the samples were filtered with filter paper and centrifuged at 5000 rpm for 10 min with a centrifuge (K242R, Centurion Scientific, UK). The resulting supernatant was stored in a brown glass bottle at +4 °C until further analysis.

#### Total phenolic matter (TPM) content

The total phenolic content of the samples was determined by the Folin-Ciocalteu (FC) colorimetric method proposed by Aktürk Gümüşay and Yıldırım Yalçın (2019). For this purpose, 200 µL FC reagent and 2 mL distilled water were added to 100 µL extract in a test tube. The tube was incubated for 3 min at room conditions, then 1 mL of 20 (%)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  was added, vortexed, and kept in the dark for 1 hour. Subsequently, the absorbance of the samples was measured at 765 nm using a UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu UV-1240, Japan). The TFM content of the samples was calculated in mg gallic acid equivalent (GAE) per 100 g of sample dry matter (dm) using a calibration curve plotted against standard gallic acid solutions.

#### Total monomeric anthocyanin (TMA) content

The TMA content of cherry laurel foam powder samples was determined using the pH differential method (Celik et al., 2011). To carry out this analysis, the sample extracts were diluted with both potassium chloride (pH=1) and sodium acetate (pH=4.5) buffer solutions. Following the dilution, the absorbance of the samples was measured at 515 and 700 nm after incubating for 15 min at room temperature. The final absorbance ( $Abs$ ) for each sample was calculated using Equation 6.

$$Abs = (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{pH 1.0} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{pH 4.5} \quad (6)$$

TMA contents of cherry laurel powder samples were calculated according to Equation 7.

$$TMA \left( \frac{mg}{kg} \right) = \frac{Abs * M_w * DF * 1000}{\epsilon * l} \quad (7)$$

where  $M_w$  is the molecular weight (445.2),  $DF$  is the dilution factor value, and  $\epsilon$  is the molar

absorbitivity constant (26,900) for cyanidin-3-glucoside (C3G).

#### *Antioxidant activity assay*

The antioxidant activities of the sample extracts were determined by calculating DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity (Equation 8) according to the methodology proposed by Aktürk Gümüşay and Yıldırım Yalçın (2019). This method involved mixing 3 mL of DPPH methanolic solution (0.1 mM) with 200 µL of the sample. The absorbance of the sample was then measured at 517 nm after waiting for 30 min in a dark environment.

$$DPPH(\%) = \left( \frac{Abs_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \right) * 100 \quad (8)$$

$A_{control}$  and  $A_{sample}$  represent the absorbance value for the DPPH solution and sample extract, respectively.

#### *Ascorbic acid content*

The ascorbic acid content of the cherry laurel extract powders was determined using a modified method proposed by Hışıl (2004). For this purpose, 9 mL oxalic acid solution (4% (w/v)) was added to 1 g of the sample and mixed at 200 rpm using a magnetic stirrer for 15 min. The mixture was then filtered through Whatman no:1 filter paper and stored in a brown glass bottle at +4 °C. For analysis, 9 mL of dye solution (2,6-dichlorophenolindophenol) was added to 1 mL of the sample in a test tube and vortexed. For the control sample, 1 mL of sample and 9 mL of distilled water were transferred to another test tube and mixed. The absorbance of the sample was measured at 518 nm using a UV-VIS spectrophotometer and adjusted to zero with the control sample. The vitamin C content of the sample was determined using a calibration curve generated from standard ascorbic acid solutions at different concentrations.

#### **Statistical analysis**

Analysis of variance (ANOVA) was performed using Minitab (Version 19.0, Minitab Inc., State College, PA, USA) software to determine the effects of production variables on the optimization of cherry laurel extract foam. Moreover, the differences in the analyzed results

of the samples dried at different temperatures (60, 70, and 80 °C) were evaluated utilizing Duncan's comparison test with a 95% confidence interval.

## **RESULTS AND DISCUSSIONS**

### **Taguchi optimization of cherry laurel foams**

The FC and FS results of cherry laurel juice foams according to the Taguchi  $L_9$  experimental design matrix and the average S/N ratios corresponding to each result are summarized in Table 2. The results indicate that the FC and FS values of the foam samples exhibited an improvement of approximately 108% and 81%, respectively, compared to the initial process parameters ( $A_1B_1C_1$ ). In addition, the mean values of S/N ratios for FC and FS in cherry laurel foam production ranged between 34.42-40.67 dB and 37.58-42.73 dB, respectively. The effect of the process variables (EWP (%), CMC (%), and MT (min)) on the observed results is depicted in the S/N ratio average response graph, presented in Figure 1 a-b. It can be seen from the figures that the process variables have a similar impact on both FC and FS values. Since the main objective of the study was to maximize the FC and FS values, the highest S/N ratio average value for each process variable in the response graphs was utilized to determine the optimum production conditions. Based on the experimental results, a sample with optimum foam properties could be produced by whipping cherry laurel juice containing 10% EWP and 0.3% CMC at room temperature for 12 min ( $A_2B_2C_3$ ).

In the production of cherry laurel juice foam, an increase in the EWP concentration from 5% to 10% significantly affected foam properties. However, higher protein concentrations (15%) did not lead to a substantial improvement in both FC and FS responses. Similar observations could be made regarding the CMC variable as a foam stabilizer. On the other hand, an increase in mixing time had a positive contribution to foam properties. Furthermore, the model ANOVA data, with a high coefficient of determination ( $R^2 > 0.99$ ), indicated that the influence of the process parameters on both responses was statistically significant ( $P < 0.05$ ). EWP showed the most significant effect on cherry laurel foam



production, with a higher contribution rate (80.13% for FC and 68.09% for FS), followed by

MT (15.36% for FC and 22.90% for FS) and CMC (4.42% for FC and 8.68% for FS) (Table 3).

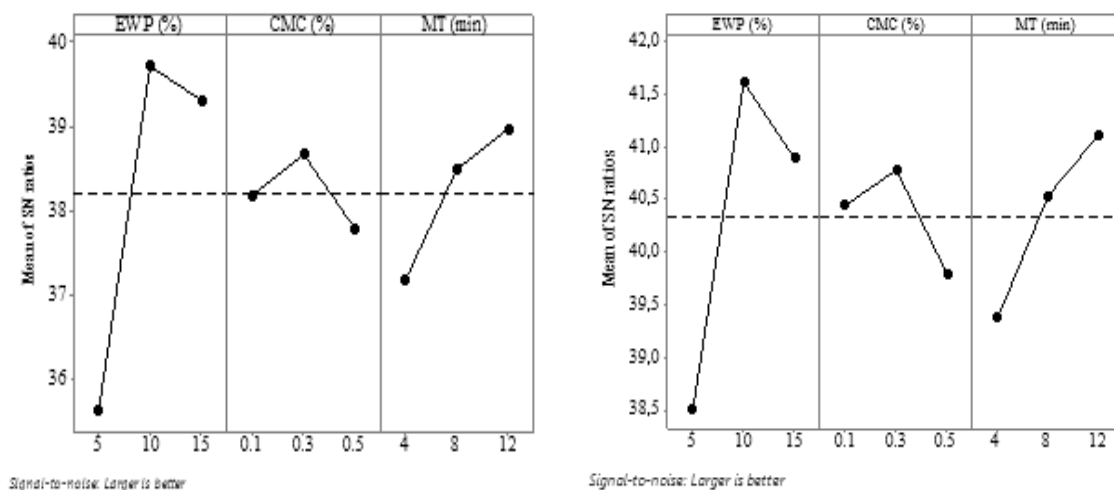


Figure 1. S/N response graphs for foam capacity (a) and foam stability (b)

Table 3. ANOVA results for foam capacity and foam stability responses

Source	DF	Foam capacity (FC)				Foam stability (FS)			
		Sum of squares	F-Value	<i>p</i> -Value	Contribution ratio (%)	Sum of squares	F-Value	<i>p</i> -Value	Contribution ratio (%)
A	2	2359.80	752.54	0.001*	80.13	2141.51	203.12	0.005*	68.09
B	2	129.95	41.44	0.024*	4.41	272.91	25.89	0.037*	8.68
C	2	452.25	144.22	0.007*	15.36	720.32	68.32	0.014*	22.90
Error	2	3.14			0.10	10.54			0.33
Total	8	2945.14				3145.28			
R <sup>2</sup>		99.89				99.66			

\* significant ( $P < 0.05$ ).

In the literature, there are conflicting results on the effect of process variables on foam properties in models designed for FMD. For instance, Watharkar et al. (2021) reported that an increase in skim milk powder concentration in the production of ripe banana puree foam resulted in a decrease in foam density without influencing FS. Similarly, Macedo et al. (2021) reported that the concentration of foaming agent (Emustab) and mixing time did not significantly affect FS but improved the foaming property in FMD of white and red dragon fruit. On the other hand, Thuy et al. (2022) observed a significant improvement ( $P < 0.05$ ) in both FC and FS responses with an increase in albumin content and mixing time during the production of Magenta leaf extract

foam. Salahi et al. (2015) noted that an increase in EWP concentration from 1% to 3% and an increase in MT from 120 s to 10 min led to reduced foam density and liquid drainage from the foam structure.

Overall, these varying observations highlight that the impact of process variables and their levels on foam properties in FMD models is product-specific and might yield different observations depending on the particular characteristics of the material being processed.

### Drying characteristics

Drying time, drying rate (DR), moisture content (MC), and effective moisture diffusivity ( $D_{\text{eff}}$ ) were determined from the FMD process of cherry

laurel juice foam produced under optimum conditions. The moisture variation of the fruit juice foam during drying is given in Figure 2a. The figure shows that the drying time of foam samples decreased with the increasing temperature, as expected. In the drying study, the drying times of the samples dried at 60, 70, and 80 °C were 160, 120, and 90 min, respectively (Figure 2a). The drying time decreased by 43.75% when the temperature increased from 60 to 80 °C. This situation can be attributed to the decrease in the internal resistance of water diffusion in the product due to the increased drying temperature

(Macedo et al., 2021; Salahi et al., 2015). In addition, the decrease in the relative humidity of the drying air with increasing temperature is also a practical factor contributing to the reduction in drying time (Kılıç and Tabanlıgil Calam, 2020). Turkmen et al. (2020) reported the drying time of cherry laurels decreased by about 63.11% when the drying temperature increased from 60 to 70 °C. These results indicate that the FMD process significantly increases the moisture diffusion rate depending on the product characteristics.

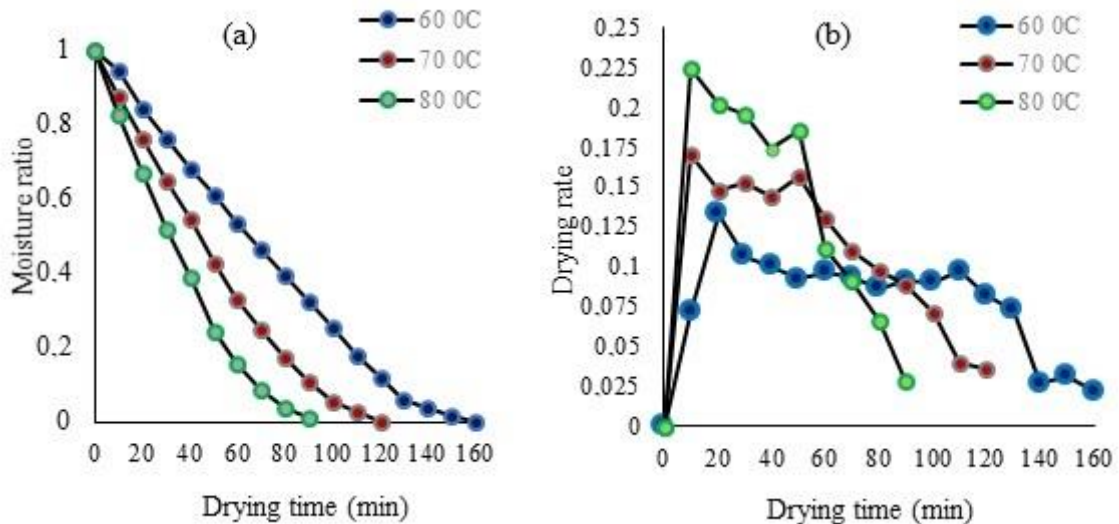


Figure 2. The effect of drying temperature on moisture ratio (a) and drying rate (b)

The variation in DR based on temperature for cherry laurel juice foam dried at different temperatures is shown in Figure 2b. When the figure is analyzed, it can be seen that the drying rate for cherry laurel foam is notably high in the initial stage of the drying process. This situation can be attributed to the easy evaporation of water from surfaces with higher moisture content. However, in the later stages of drying, the drying rate decreases, primarily attributed to internal resistance in removing moisture from the inner regions (Salahi et al., 2015).

The  $D_{eff}$  of cherry laurel foam in the FMD process was calculated using Equation 5, and the values at 60, 70, and 80 °C were determined as

$6.09 \times 10^{-9}$ ,  $7.74 \times 10^{-9}$  and  $11.33 \times 10^{-9}$   $m^2/s$ , respectively.  $D_{eff}$ , which defines mass transfer properties within foods concerning observed internal moisture mobility, generally vary between  $10^{-12}$   $m^2/s$  and  $10^{-8}$   $m^2/s$  (Whatarkar et al. 2021). In addition, it has been reported that the  $D_{eff}$  value changed between  $10^{-8}$   $m^2/s$  and  $10^{-10}$  in various foam mat-dried products, and the temperature variable was identified as the most crucial factor influencing moisture transfer in FMD (Dehghannya et al., 2019; Khodifad and Kumar, 2020; Salahi et al., 2015; Thuy et al., 2022). The results of the present study were found to be consistent with the literature data.

### Bioactive properties

The TFM, TMA, ascorbic acid contents, and DPPH (%) radical scavenging activity results of both the control sample and cherry laurel juice foam powders, dried at different temperatures (60, 70, and 80 °C), are presented in Table 4. The results demonstrated statistically significant differences in the bioactive contents of the cherry laurel juice containing foaming agents and the samples subjected to the drying process ( $P < 0.05$ ). Furthermore, it was observed that the TFM and TMA contents as well as DPPH (%) values of the samples increased, and ascorbic acid content decreased due to the increase in drying temperature in the FMD process.

Polyphenols are secondary metabolites in plants and possess various biological effects, including antioxidant, antibacterial, and anticancer properties. In our study, the TFM contents of cherry laurel powders ranged between  $124.46 \pm 4.46$  and  $299.24 \pm 0.37$  mg GAE/100 g. The values obtained were lower than the TFM content of the control sample ( $444.43 \pm 0.18$ ). The previous research conducted by Gümüşay and Yalçın (2019) determined the TFM content of cherry laurel fruit dried by freeze drying as  $1552.74 \pm 44.02$  mg GAE/100 g, considerably higher than our results. This condition may be related to product variations (Beyhan, 2010) and the incorporation of maltodextrin and foaming agents into the formulation, which may dilute and reduce the phenolic content, leading to lower TFM (Fauziyah et al., 2022). However, Celik et al. (2011) reported different cherry laurel genotypes with TFM contents between 364-503 mg GAE/100 g on a wet weight basis. In the FMD process, the TFM content of the samples tended to increase as the drying temperature increased. This phenomenon could be attributed to the reduction in drying time due to elevated drying temperature, thereby limiting the degradation of phenolic compounds by minimizing the time the product is placed in the dryer (Brar et al., 2020). In our study, the TFM content improved by approximately 140% due to increasing the temperature from 60 °C to 80 °C. Similarly, Turkmen et al. (2020) reported an 86% increase in TFM content due to increasing the drying

temperature from 60 to 70 °C in hot air drying of cherry laurel fruit. Also, a similar enrichment in phenolic substances was observed in the FMD of peaches due to increased drying temperatures (Brar et al., 2020).

Anthocyanins are natural pigments responsible for the diverse colors in plants ranging from red to blue. It was found that cherry laurel juice was enriched with monomeric anthocyanins due to drying with the FMD process, especially with increasing temperatures. The TMA content in cherry laurel powders showed a substantial decrease (~54%) when the drying temperature was decreased from 80 to 60 °C (Table 4). This result may be attributed to the prolonged exposure of anthocyanin compounds to oxygen during relatively low-temperature drying and their subsequent degradation facilitated by polyphenol oxidase enzymes. In a similar study, the TMA contents decreased from  $76.22 \pm 2.67$  to  $39.93 \pm 2.17$  in mg C3G/100 g dm as a result of reducing the drying temperature from 70 to 50 °C during the hot air drying of cherry laurel fruit (Turkmen et al., 2020). These comparable results could be attributed to the diluting effects of the foaming agents (EWP, CMC, and MT) used in the FMD process. In addition, it was reported that the anthocyanin content of cranberry dried in a convective dryer at 70 °C was higher than 50 °C (Tontul et al., 2018). Similar trends were observed by Kanha et al. (2022) in FMD of black rice bran extract. These studies emphasize the importance of considering the degradation of complex anthocyanins into their monomeric forms, especially under high-temperature drying conditions.

Oxygen, an essential element for human life, triggers oxidative stress by causing the formation of reactive oxygen species within cells. Antioxidant substances serve as a defense mechanism against the effects of this stress, making the consumption of antioxidant-rich food products crucial for maintaining health (Aktürk Gümüşay and Yıldırım Yalçın, 2019). The DPPH radical scavenging assay is widely used to evaluate the ability of antioxidants to scavenge free radicals. The binding potential of antioxidants

with free radicals determines the scavenging activity of a sample (Liyana-Pathirana et al., 2006). The DPPH (%) values of foam mat dried cherry laurel powders ranged between  $27.09 \pm 0.14\%$  and  $53.81 \pm 0.17\%$ . Although the antioxidant activity of the powder samples was lower than the control ( $78.50 \pm 0.11\%$ ), the antioxidant activity of the samples increased significantly ( $P < 0.05$ ) due to the increase in drying temperature in the production of cherry laurel juice powder.

The vitamin C content in cherry laurel powders, obtained through the FMD method, varied between  $1.0 \pm 0.07$  and  $3.72 \pm 0.02$  in mg C3G/100 g sample dm. It was observed that the ascorbic acid content in these samples decreased significantly ( $P < 0.05$ ) with increasing drying temperature. This decline may be attributed to the higher degradation of ascorbic acid at higher temperatures. Comparable results were noted in the FMD of papaya pulp (Abd El-Salam et al., 2021) and tomato (Kadam et al., 2012).

Table 4. Bioactive properties of foam mat dried cherry laurel foam powders

Property	Drying temperature (°C)			
	Control*	60	70	80
TFM (mg GAE/100 g dm)	$444.43 \pm 0.18^a$	$124.46 \pm 4.46^d$	$237.41 \pm 3.57^c$	$299.24 \pm 0.37^b$
TMA (mg C3G/100 g dm)	$128.75 \pm 1.02^a$	$45.59 \pm 0.17^d$	$87.81 \pm 0.46^c$	$98.90 \pm 0.88^b$
DPPH (%)	$78.50 \pm 0.11^a$	$27.09 \pm 0.14^d$	$50.67 \pm 0.27^c$	$53.81 \pm 0.17^b$
Ascorbic acid (mg/100 g dm)	$4.38 \pm 0.13^a$	$3.72 \pm 0.02^b$	$1.97 \pm 0.00^c$	$1.0 \pm 0.07^d$

Results are given as mean  $\pm$  standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ( $P < 0.05$ ). \*Control sample refers to the optimal pre-foam solution.

## CONCLUSION

In this study, cherry laurel juice, which has prominent bioactive properties, was dried using the foam mat drying method. The optimal foam, obtained by whipping cherry laurel juice containing 10% egg white protein and 0.3% carboxymethyl cellulose for 12 min, was spread in an aluminum tray and dried at 60, 70, and 80 °C at an air velocity of 2 m/s. The effect of drying temperature on drying characteristics and bioactive components was investigated. The results revealed an improvement in drying factors such as drying rate and effective moisture diffusion with increasing temperature during the foam mat drying process. In addition, it was observed that the total phenolic content, total monomeric anthocyanin, and DPPH (%) radical scavenging activity values increased by approximately 140%, 117%, and 99%, respectively. On the other hand, the vitamin C content decreased by about 73% when the drying temperature increased from 60 to 80 °C. The results demonstrated that the foam mat drying technique can be successfully applied in producing fruit powders with high bioactive content.

## CONFLICT OF INTEREST

The author(s) declares no conflict of interest.

## AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Mehmet Güldane: Literature review, Methodology, Data Curation, Analysis, Writing-original draft. Hamza Bozkır: Methodology Review and Editing. All authors approved the final manuscript and accepted to be held responsible for the content.

## REFERENCES

- Abd El-Salam, E. A. E. S., Ali, A. M., Hammad, K. S. (2021). Foaming process optimization, drying kinetics and quality of foam mat dried papaya pulp. *Journal of Food Science and Technology*, 58(4), 1449–1461. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04657-2>
- Aktürk Gümüşay, Ö., Yıldırım Yalçın, M. (2019). Effects of Freeze-Drying Process on Antioxidant and Some Physical Properties of Cherry Laurel and Kiwi Fruits. *Akademik Gıda*, 17(1), 9–15. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.543985>
- Altuntaş, E., Taşova, M., Polatçı, H., Saraçoğlu, O. (2022). Effects of Genotypes and Drying Temperatures on Color and Thin Layer Drying

- Models of Cherry Laurel (*Laurocerasus Officinalis* L.) Fruits. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 22(1), 24–32. <https://doi.org/10.17475/kastorman.1095719>
- Ana Maria, B., Tamara, J., Ana Jurinjak, T., Davor, V., Jasenka Gajdoš, K., Maja, B. (2019). Applicability of Foam Mat Drying Process for Production of Instant Cocoa Powder Enriched with Lavender Extract. *Food Technology and Biotechnology*, 57(2), 159–170. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-82688-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-82688-8_1)
- Aslan, M., Ertaş, N. (2021). Foam drying of aquafaba: Optimization with mixture design. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), 1–11. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15185>
- Asokapandian, S., Venkatachalam, S., Swamy, G. J., Kuppusamy, K. (2016). Optimization of Foaming Properties and Foam Mat Drying of Muskmelon Using Soy Protein. *Journal of Food Process Engineering*, 39(6), 692–701. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12261>
- Azizpour, M., Mohebbi, M., Yolmeh, M., Abbasi, E., Sangatash, M. M. (2017). Effects of different hydrocolloids on foaming properties of shrimp puree: a cluster analysis. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 1892–1898. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9571-9>
- Berktaş, S., Cam, M., Salum, P., Erbay, Z. (2023). Microwave drying of quince coated with seed gum and pectin: A Taguchi optimization, techno-functional properties, and aromatic compounds. *Journal of Food Science, May*, 2919–2932. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16660>
- Beyhan, O. (2010). A Study on selection of promising native cherry laurel (*Prunus Laurocerasus* L.) Genotypes from Sakarya, Turkey. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 20(4), 231–233.
- Bozkir, H. (2020). Effects of hot air, vacuum infrared, and vacuum microwave dryers on the drying kinetics and quality characteristics of orange slices. *Journal of Food Process Engineering*, 43(10), 1–12. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13485>
- Bozkir, H., Tekgül, Y., Erten, E. S. (2021). Effects of tray drying, vacuum infrared drying, and vacuum microwave drying techniques on quality characteristics and aroma profile of orange peels. *Journal of Food Process Engineering*, 44(1). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13611>
- Brar, A. S., Kaur, P., Kaur, G., Subramanian, J., Kumar, D., Singh, A. (2020). Optimization of Process Parameters for Foam-Mat Drying of Peaches. *International Journal of Fruit Science*, 20(S3), S1495–S1518. <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1812017>
- Celik, F., Ercisli, S., Yilmaz, S. O., Hegedus, A. (2011). Estimation of certain physical and chemical fruit characteristics of various cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* roem.) genotypes. *HortScience*, 46(6), 924–927. <https://doi.org/10.21273/hortsci.46.6.924>
- Dehghannya, J., Pourahmad, M., Ghanbarzadeh, B., Ghaffari, H. (2019). Heat and mass transfer enhancement during foam-mat drying process of lime juice: Impact of convective hot air temperature. *International Journal of Thermal Sciences*, 135(December 2017), 30–43. <https://doi.org/10.1016/j.ijthermalsci.2018.07.023>
- Fauziyah, N., Ifie, I., Syarief, O., Darniadi, S. (2022). Impact of hydrocolloid and foaming agent on the physicochemical, microstructural and bioactive characteristics of foam-mat freeze-dried tapai (fermented black glutinous rice) powder. *Food Science and Nutrition, May*, 1–12. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3098>
- Gao, R., Xue, L., Zhang, Y., Liu, Y., Shen, L., Zheng, X. (2022). Production of blueberry pulp powder by microwave-assisted foam-mat drying: Effects of formulations of foaming agents on drying characteristics and physicochemical properties. *Lwt*, 154, 112811. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112811>
- Güldane, M. (2023a). Optimizing foam mat drying process for cornelian cherry pulp using response surface methodology and artificial neural networks. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 22(3), 1–14. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim2386>

- Güldane, M. (2023b). *Optimizing foam quality characteristics of model food using Taguchi-based fuzzy logic method*. *Journal of Food Process Engineering*, 46(8), e14384. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14384>
- Guldane, M., Dogan, M. (2022). Multi-response optimization of process parameters of saponin-based model foam using Taguchi method and gray relational analysis coupled with principal component analysis. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(5), 1–14. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16553>
- Güleç, F., Özdemir, G. D. T. (2017). Investigation of drying characteristics of Cherry Laurel (*Laurocerasus officinalis* Roemer) fruits. *Akademik Ziraat Dergisi*, 6(1), 73–80.
- Hussein, J. B., Oke, M. O., Abiona, O. O., Adebayo, Q. (2021). Optimization of processing parameters for drying of tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.var) slices using Taguchi technique. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(2), 0–2. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15149>
- Iasnaia Maria de Carvalho, T., Nogueira, T. Y. K., Mauro, M. A., Gómez-Alonso, S., Gomes, E., Da-Silva, R., Hermosín-Gutiérrez, I., Lago-Vanzela, E. S. (2017). Dehydration of jambolan [*Syzygium cumini* (L.)] juice during foam mat drying: Quantitative and qualitative changes of the phenolic compounds. *Food Research International*, 102(September), 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.068>
- Kadam, D. M., Wilson, R. A., Kaur, S., Manisha. (2012). Influence of foam mat drying on quality of tomato powder. *International Journal of Food Properties*, 15(1), 211–220. <https://doi.org/10.1080/10942911003763701>
- Kanha, N., Regenstein, J. M., Laokuldilok, T. (2022). Optimization of process parameters for foam mat drying of black rice bran anthocyanin and comparison with spray- and freeze-dried powders. *Drying Technology*, 40(3), 581–594. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1819824>
- Khodifad, B. C., Kumar, N. (2020). Foaming properties of custard apple pulp and mathematical modelling of foam mat drying. *Journal of Food Science and Technology*, 57(2), 526–536. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04082-0>
- Kılıç, F., Tabanlıgil Calam, T. (2020). Kırmızı Kapyra Biberlerinin (*Capsicum Annuum* L.) Kurutma ve Rehidrasyon Kinetiklerinin Belirlenmesi, Kurutma İşleminin Termodinamik Analizi. *Deu Mubendislik Fakültesi Fen ve Mubendislik*, 22(65), 343–352. <https://doi.org/10.21205/deufmd.2020226503>
- Liyana-Pathirana, C. M., Shahidi, F., Alasalvar, C. (2006). Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. *Food Chemistry*, 99(1), 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.046>
- Macedo, L. L., Corrêa, J. L. G., Araújo, C. da S., Vimercati, W. C., Pio, L. A. S. (2021). Process optimization and ethanol use for obtaining white and red dragon fruit powder by foam mat drying. *Journal of Food Science*, 86(2), 426–433. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15585>
- Maria de Carvalho Tavares, I., Bonatto Machado de Castilhos, M., Aparecida Mauro, M., Mota Ramos, A., Teodoro de Souza, R., Gómez-Alonso, S., Gomes, E., Da-Silva, R., Hermosín-Gutiérrez, I., Silva Lago-Vanzela, E. (2019). BRS Violeta (BRS Rúbea × IAC 1398-21) grape juice powder produced by foam mat drying. Part I: Effect of drying temperature on phenolic compounds and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 298(June), 124971. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124971>
- Michalska-Ciechanowska, A., Majerska, J., Brzezowska, J., Wojdyło, A., Figiel, A. (2020). The influence of maltodextrin and inulin on the physico-chemical properties of cranberry juice powders. *ChemEngineering*, 4(1), 1–12. <https://doi.org/10.3390/chemengineering4010012>
- Nemati, A., Motamedzadegan, A., Milani, J. M. (2022). Evaluating the effect of different foam mat drying methods on the properties of orange beverage powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(6), 1–13. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16539>

- Osama, K., Younis, K., Qadri, O. S., Parveen, S., Siddiqui, M. H. (2022). Development of under-utilized kadam (*Neolamarkia cadamba*) powder using foam mat drying. *Lwt*, *154*, 112782. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112782>
- Salahi, M. R., Mohebbi, M., Taghizadeh, M. (2015). Foam-Mat Drying of Cantaloupe (*Cucumis melo*): Optimization of Foaming Parameters and Investigating Drying Characteristics. *Journal of Food Processing and Preservation*, *39*(6), 1798–1808. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12414>
- Santos, L. G., Martins, V. G. (2022). Recovery of phenolic compounds from purple onion peel using bio-based solvents: Thermal degradation kinetics and color stability of anthocyanins. *Journal of Food Processing and Preservation*, *46*(12), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.17161>
- Thuy, N. M., Tien, V. Q., Tai, N. Van, Minh, V. Q. (2022). Effect of Foaming Conditions on Foam Properties and Drying Behavior of Powder from Magenta (*Peristrophe roxburghiana*) Leaves Extracts. *Horticulturae*, *8*(6). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8060546>
- Tontul, I., Eroğlu, E., Topuz, A. (2018). Convective and refractance window drying of cornelian cherry pulp: Effect on physicochemical properties. *Journal of Food Process Engineering*, *41*(8), 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12917>
- Turkmen, F., Karasu, S., Karadağ, A. (2020). Effects of Different Drying Methods and Temperature on the Drying Behavior and Quality Attributes of Cherry Laurel Fruit. *Processes*, *2*, 1–15.
- Vahapoğlu, B., Altan, E. N., Gülseren, İ. (2018). Karayemiş meyvesinin Biyoaktif Özellikleri ve Fonksiyonel Gıdalarda Kullanım Potansiyeli. *Gıda*, *43*(5), 751–764. <https://doi.org/10.15237/gida.gd18055>
- Varhan, E., Elmas, F., Koç, M. (2019). Foam mat drying of fig fruit: Optimization of foam composition and physicochemical properties of fig powder. *Journal of Food Process Engineering*, *42*(4), 1–13. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13022>
- Watharkar, R. B., Chakraborty, S., Srivastav, P. P., Srivastava, B. (2021). Foaming and foam mat drying characteristics of ripe banana [*Musa balbisiana* (BB)] pulp. *Journal of Food Process Engineering*, *44*(8). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13726>
- Zielinska, M., Ropelewska, E., Zapotoczny, P. (2018). Effects of freezing and hot air drying on the physical, morphological and thermal properties of cranberries (*Vaccinium macrocarpon*). *Food and Bioproducts Processing*, *110*, 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.04.006>

**CİVANPERÇEMİ VE KARAHİNDİBA İLE ZENGİNLEŞTİRİLEN  
EKMEKLERİN BAZI FİZİKOKİMYASAL VE IN-VITRO BİYOALINABİLİR  
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Merve Sabuncu<sup>1</sup> Gözde Özdemir<sup>2</sup>, Dilek Dülger Altınır<sup>3\*</sup>, Yasemin Şahan<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

<sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye

<sup>3</sup>Kocaeli Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Kocaeli, Türkiye

<sup>4</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

Geliş/Received: 11.03.2023; Kabul /Accepted: 05.01.2024; Online baskı /Published online: 11.01.2024

Sabuncu, M., Özdemir, G., Dülger Altınır, D., Şahan, Y. (2024). Civanperçemi ve karahindiba ile zenginleştirilen ekmeklerin bazı fizikokimyasal ve in-vitro biyoalınabilir özelliklerinin araştırılması. GIDA (2024) 49 (1) 101-118 doi: 10.15237/ gida.GD23030

*Sabuncu, M., Özdemir, G., Dülger Altınır, D., Şahan, Y. (2024). Investigation of some physicochemical and in-vitro bioaccessibility properties of bread enriched with yarrow and dandelion. GIDA (2024) 49 (1) 101-118 doi: 10.15237/ gida.GD23030*

**ÖZ**

Bu çalışmada, civanperçemi (*Achillea millefolium* L.) ve karahindiba (*Taraxacum officinale* L.) tozu ile 3 farklı oranlarda (%1, %2, %3) zenginleştirilen ekmeklerin bazı fizikokimyasal, antioksidan özellikleri ile in-vitro biyoalınabilirlikleri belirlenmiştir. CUPRAC metoduna göre antioksidan kapasite, %3 civanperçemi ilaveli ekmeklerde 20.50 µmol TE/g olarak belirlenirken, %3 karahindiba ilaveli ekmekte ise 19.75 µmol TE/g elde edilmiştir. Toplam fenolik miktarı, kontrol grubunda 45.76 mg GAE/100g iken %3 civanperçemi ve %3 karahindiba ilaveli ekmeklerde ise sırasıyla 62.23 ve 61.40 mg GAE/100g olarak bulunmuştur. In-vitro ortamda enzimatik ekstraksiyon işlemine tabi tutulan ekmeklerin fenolik bileşiklerinin biyoalınabilirlik değerlerinin %69-73 arasında değiştiği belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, olumlu etkileri olduğu bilinen tıbbi bitkilerle zenginleştirilmiş ekmeklerin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek kül, toplam fenolik miktarı ve antioksidan kapasite değerine sahip olduğu görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Biyoalınabilirlik, fonksiyonel gıda, antioksidan kapasite, civanperçemi, karahindiba

**INVESTIGATION OF SOME PHYSIOCHEMICAL AND IN-VITRO  
BIOACCESSIBILITY PROPERTIES OF BREAD ENRICHED WITH YARROW  
AND DANDELION**

**ABSTRACT**

In this study, some physicochemical, antioxidant properties and in-vitro bioaccessibility of bread enriched with yarrow and dandelion powder at three different ratios (1%, 2%, 3%) were determined.

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉:dilek.dulger@kocaeli.edu.tr

☎ (+90) 262 353 346

☎ (+90) 262 353 4511

Merve Sabuncu; ORCID no: 0000-0001-8771-0643

Gözde Özdemir; ORCID no: 0000-0001-6258-6260

Dilek Dülger Altınır; ORCID no: 0000-0002-7043-2883

Yasemin Şahan; ORCID no: 0000-0003-3457-251X

Not: Bu çalışma ikinci yazarın yüksek lisans tezinden türetilmiş olup, ekmek üretimi ikinci yazarın yüksek lisans tezi kapsamında yapılmış olmakla birlikte, analizler tez kapsamı dışında yürütülmüştür. Tez danışmanları: Doç. Dr. Dilek Dülger Altınır, Prof. Dr. Yasemin Şahan



The antioxidant capacity was determined as 20.50 µmol TE/g in the bread with 3% yarrow addition and 19.75 µmol TE/g in the bread with 3% dandelion addition according to the CUPRAC method. The total phenolic content was 45.76 mg GAE/100g in the control group and 62.23 and 61.40 mg GAE/100g in the bread with 3% yarrow and dandelion, respectively. It was detected that the bioaccessibility values of the phenolic compounds of the bread subjected to the enzymatic extraction process ranged between 69-73%. The study revealed that the bread enriched with medicinal plants, known for their positive effects, exhibited higher levels of ash, total phenolic content, and antioxidant capacity in comparison to the control group.

**Keywords:** Bioaccessibility, functional food, antioxidant capacity, yarrow, dandelion

## GİRİŞ

Tıbbi bitkiler, yapılarında bulunan bileşenler sayesinde hastalıkların tedavisinde önemli yararlar sağlayan bitkiler olarak tanımlanmakta ve ilk kayıtları M.O. 5000'lerde Mezopotamya uygarlığına kadar dayanmaktadır (Sevindik vd., 2017; Mohammed vd., 2019; Arslan vd., 2021). Tıbbi bitkiler baharat, bitkisel çay, gıda takviyesi ve gıda katkı maddesi olarak gıda sanayinde kullanılmaktadır. Fenolik bileşenlerce zengin olan tıbbi bitkilerin yüksek antioksidan aktivite, antimikrobiyal, antifungal, antialerjik, antihistamik, antikanser, antiinflamatuvar ve antihipertansif etkileri (Yakoub vd., 2018; Mohammed vd., 2018; Aftab, 2019) olduğu bildirilmektedir. Beslenme rejimlerinde tıbbi bitkilerin tüketimi sınırlı olsa da içerisinde bulunan biyoaktif bileşenler ve doğal antioksidanlar nedeniyle fonksiyonel gıda uygulamalarında önemli bir yere sahiptir (Varlı vd., 2020).

Geniş coğrafyalarda yetişen ve ülkemizde bilinen tıbbi bitkilerden birisi olan karahindiba (*Taraxacum officinale*) Asteraceae (papatyagiller) familyasında yer alan çiçekli, tek yıllık otsu bir bitki olup, ülkemiz florasında 16 tanesi endemik olmakla birlikte 51 türü olduğu bilinmektedir (Demirezer vd., 2019; Küçükboyacı ve Şahan, 2020; Özdemir vd., 2020). Karahindiba, başlıca A, B, C ve D vitaminini ile sodyum, kalsiyum, magnezyum, demir, çinko fosfor, bakır ve manganez bakımından oldukça zengin bir kaynaktır (Jedrejek vd., 2019). Ayrıca yapısında bulunan luteolin, saponin, gallik, sinapik, kafeik asit, kumarik asit, karatonoid, tanen ve flavonoidler gibi çeşitli ikincil metabolitler sayesinde antioksidatif, antidiyabetik, antihipertansif ve antidepresan etkileri bulunmaktadır (Hu vd., 2005; Gül, 2014; Gao vd.,

2019). Antidiyabetik etkisi yüksek olduğu bilinen inülin bakımından da oldukça zengin olan karahindiba, bu sebeple iyi bir prebiyotik kaynağıdır (Mudannayake ve Jayasena, 2022). Ayrıca, geleneksel tıpta özellikle mide ve bağırsak kaynaklı hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Akyol, 2016).

Özellikle ülkemizin doğu kesimlerinde bilinen bir tıbbi bitki olan Civanperçemi (*Achillea millefolium* L.), Asteraceae (papatyagiller) familyasında yer alan büyük sarıçiçekli bir bitkidir (Howyzeh vd., 2019). Civanperçemi bitkisinin yapısında başlıca fenolik bileşikler, organik asitler, flavonoidler, C vitamini, fosfor ve potasyum bulunmaktadır (Turan, 2014). Yapısındaki zengin biyoaktif bileşikler nedeniyle antidiyabetik (Nisari, 2019), antiinflamatuvar, antioksidatif, antimikrobiyal ve antikanserojen etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Edreva vd., 2019; Ahmadi-Dastgerdi vd., 2019; Howyzeh vd., 2019). Civanperçemi geleneksel tıpta yaraların, cilt hastalıklarının, solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Günümüzde, tüketicilerin biyoaktif bileşenlerce zenginleştirilmiş fonksiyonel gıdalara olan talebi gün geçtikçe artmaktadır. Bu amaçla biyoaktif bileşenlerce zengin meyve, sebze, baharatlar ve tıbbi bitkiler, insanların günlük beslenmesinde sıklıkla tüketildiği unlu mamüllere eklenerek zenginleştirme işlemi yapılmaktadır (Aydın ve Göçmen, 2015; Kırbas vd., 2019; Dülger vd., 2021). Ülkemizde ekmeğin uygun fiyatlı, doyurucu ve kolay ulaşılabilir olması nedeniyle günlük beslenmemizin önemli bir parçasıdır (Badem, 2021). Ekmeğin fonksiyonel özellik kazandırılabilmesi ve daha sağlıklı hale getirilebilmesi amacıyla çok sayıda uygulama yapılmaktadır. Bu amaçla, baklagiller (mercimek,

nohut, fasulye, mısır), yüksek protein içeriğine sahip gıdalar (kinoa, teff, soya), fenolik bileşikler bakımından zengin gıdalar (yeşil çay, spirulina, zerdeçal, zencefil, ığde unu, üzüm çekirdeği, kahve çekirdeği zarı, siyah havuç, nar kabuğu, dut, balkabağı, şalgam vb.), yüksek lif içeriğine sahip gıdalar (hindiba, yer elması, çavdar, hurma, bamya, yeşil muz) ve yağ asitleri bakımından zengin tohumlar (susam, çörekotu, keten tohumu) un haline getirilip buğday ununa ikame edilerek kullanılmaktadır (El-Megeid vd., 2009; Peng vd., 2010; Lim vd., 2011; Das vd., 2012; Dziki vd., 2014; Gül ve Şen, 2017; Tuluk, 2017; Tuluk vd., 2018; Özgören vd., 2018; Meral ve Karaoğlu 2019; İlhan vd., 2020; Khoozani vd., 2020; Pekmez ve Yılmaz, 2020; Çetin vd., 2021; Türkoğlu ve Gerçekaslan, 2022; Aroufai vd., 2022).

Zenginleştirme çalışmalarında sıklıkla kullanılan bu bileşiklerin içerdiği biyoaktif bileşenlerin kimyasal formu, uygulama şekli ve miktarı ile metabolizmada izlediği yol, etkinlikleri açısından oldukça önemlidir (Karabulut ve Yemiş, 2019). Zenginleştirmede kullanılan bileşiklerin etkinliklerinin belirlenmesinde farklı in-vivo ve in-vitro yöntemler kullanılmakla birlikte biyoalınabilirlik bunların başında gelmekte olup, gıdada bulunan bileşenlerin gastrointestinal sistemden geçtikten sonra emilen kısmının in-vitro bir şekilde belirlenmesi olarak tanımlanmaktadır (Konak vd., 2017). In-vitro gastrointestinal sindirim modelleri, fenolik bileşenlerin biyoalınabilirliklerinin belirlenmesinde hem taze hem de işlenmiş gıdalara uygulanabilmesinin yanısıra in-vivo sistemlere kıyasla daha ucuz, hızlı ve basittir (McDougall, 2005a,b; Fernández-García vd., 2009; Correa-Betanzo vd., 2014; Minekus vd., 2014; Lucas-González vd., 2018). Gıdalarda bulunan biyoaktif bileşiklerin (fenolik bileşikler, terpenoidler, alkaloidler, siyanojenik glikozitler, antioksidanlar vs.) miktarları ile ilgili yapılan birçok çalışma bulunmasına rağmen (Hepsağ ve Esmer, 2022; Yörüüş, 2022), bu bileşiklerin biyoalınabilirlikleri ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Unlu mamuller alanında yapılan biyoalınabilirlik çalışmalarından bazıları, chia tohumu (Dündar vd., 2021) ve kakak

çekirdeği (Altınar vd., 2021) ile zenginleştirilmiş kraker, kahve çekirdeği zarı (Göşmen vd., 2019), ığde unu (Sahan vd., 2019) ve balkabağı unu ile zenginleştirilmiş bisküvidir (Aydın, 2014).

Bu çalışmanın amacı, civanperçemi ve karahindiba kullanılarak zenginleştirilen ekmeklerin fizikokimyasal kompozisyonu ile birlikte, antioksidan özelliklerinin ve in-vitro biyoalınabilirliklerinin belirlenmesidir. Çalışma kapsamında kullanılan tıbbi bitki unları ve bu unlarla zenginleştirilmiş ekmeklerde üç farklı ekstraksiyon yöntemi (ekstrakte, hidrolize ve biyoalınabilir) kullanılarak hazırlanan fraksiyonlarda toplam fenolik miktarı (Folin-Ciocalteu) ve antioksidan kapasite (CUPRAC, DPPH ve FRAP) analizleri gerçekleştirilmiştir.

## MATERYAL VE METOT

### Materyal

Ekmeğin zenginleştirilmesi için seçilen civanperçemi ve karahindiba, Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Kullanılabilecek Bitkiler ve Bitkisel Preparatlar Tebliği' Ek-4 ve Ek-5'de yer alan bitki listelerinde pozitif listede (TGK, 2016) yer alan bitkiler olduğu için tercih edilmiş ve kurutulmuş şekilde Arifoğlu markasından satın alınmıştır. Bitkiler, ekmek formülasyonunda ikameye uygun olması amacıyla kahve öğütücüsünde (Fakir, Türkiye) öğütülüp ardından 60 mesh çaplı elekten geçirilerek un haline getirilmiştir. Elde edilen unlar ekmek üretimi ve un analizleri yapıncaya kadar hava almayan kaplarda, buzdolabında +4°C' de saklanmıştır. Çalışmanın 2. aşamasında tıbbi bitki unları 3 farklı oranda (%1, %2 ve %3) buğday unu ile ikame edilerek zenginleştirilmiş ekmek formülasyonlarında kullanılmıştır. Formülasyonda kullanılan diğer hammaddeler (un, tuz ve maya) bölgede yer alan marketlerden, etiket bilgileri bulunacak şekilde satın alınmıştır.

### Metot

#### Ekmeğin Üretimi

Ekmeğin üretimi için formülasyon, Akgün (2007) ve Pala (2012)'nin metotları modifiye edilerek elde edilmiştir. Ön denemeler sonucunda duyuşal özellikleri etkilemeyecek şekilde bitki unlarının %1, %2 ve %3 oranlarında katılmasının uygun olduğuna karar verilmiştir (Özdemir vd., 2021).

Sonuçların değerlendirilebilmesi amacıyla içerisinde bitki unu bulunmayan ve %100 buğday unu kullanılarak hazırlanan kontrol ekmeği de

üretimiştir. Ekmek üretim formülasyonu ve analizlerde kullanılan örnek kodları Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Ekmek Formülasyonu  
Table 1. Bread Formulation

Ürün Adı <sup>1</sup> <i>Product Name</i>	Ürün Kodu <i>Product Code</i>	Buğday Ununa İkame Oranı <i>Substitution ratio for wheat flour</i>	Un Miktarı (g) <sup>2</sup> <i>Flour amount</i>	Bitkisel Un Miktarı (g) <i>Plant flour amount</i>	Maya (g) <i>Yeast</i>	Tuz (g) <i>Salt</i>	Su (ml) <i>Water</i>
Kontrol ekmeği <i>Control bread</i>	Kontrol <i>Control</i>	%0	300	0	6	4.5	200
Karahindiba unlu zenginleştirilmiş ekmeği <i>Bread enriched with dandelion flour</i>	K1	%1	297	3	6	4.5	201
	K2	%2	294	6	6	4.5	202
	K3	%3	291	9	6	4.5	203
Civanperçemi unlu zenginleştirilmiş ekmeği <i>Bread enriched with yarrow flour</i>	C1	%1	297	3	6	4.5	200
	C2	%2	294	6	6	4.5	200
	C3	%3	291	9	6	4.5	202

<sup>1</sup>Bileşenler 21±1°C; <sup>2</sup>%14 rutubet esasına göre

<sup>1</sup> *Ingredients 21±1°C; <sup>2</sup> %14 moisture basis*

Ekmek üretiminde, Ödeş (2018)’in direkt hamur metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla, öncelikle elde edilen hamur kitle fermantasyonuna (40°C/30 dakika) bırakılmış, daha sonra şekil verilerek pişirme kaplarında parça fermantasyonu (40°C/90 dakika) gerçekleştirilmiştir. Ekmekler 250°C/15 dakika fırında (Luxell) pişirildikten sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Ardından poşetlere alınarak analizleri yapılana kadar 4°C’de buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir.

#### Fizikokimyasal analizler

Tıbbi bitkiler ve zenginleştirilmiş ekmeği örneklerine ait nem (AOAC, 925.40), kül (AOAC, 950.49), pH (AOAC, 981.12) ve toplam asitlik (AOAC, 935.57) analizleri AOAC’a göre yapılmıştır (AOAC, 2000). Örneklerinin renk ölçümü, CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  renk sistemine dayalı olarak Minolta Spektrofotometre CM-139 3600d (Osaka, Japonya) ile saptanmıştır. Sonuçlar CIE Lab sistemi kullanılarak belirtilen parametrelere göre ifade edilmiştir:  $L^*$  ( $L^*= 0$  siyah,  $L^*= 100$

beyaz),  $a^*$  - yeşil renk payı ( $a^* < 0$ ) veya kırmızı ( $a^* > 0$ ),  $b^*$ - payı mavi ( $b^* < 0$ ) veya sarı ( $b^* > 0$ ). Tüm analizler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

#### Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Toplam fenolik madde miktarı (TFM) ve antioksidan kapasite analizlerinde kullanılmak üzere Vitali (2009) yöntemi modifiye edilerek üç farklı ekstraksiyon (Ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoalınabilir) metodu kullanılarak fraksiyonlar hazırlanmıştır.

Ekstrakte edilebilir fraksiyon (EEF) için, 2.0 g örnek (taze ağırlık) üzerine 20 mL HCl %37/metanol /su (1:80:10 v/v) çözeltisi eklenmiştir. Karışım döner çalkalayıcı (JB50-D, Shanghai, Çin) kullanılarak 250 rpm’de 20°C 2 saat çalkalamaya bırakılmıştır. Elde edilen ekstraktlar 4°C’de 3500 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir (Sigma 3K 30, Almanya). Tüpteki berrak üst faz alınıp -16°C’de analizlerde kullanılmaya kadar muhafaza edilmiştir.

Hidrolize edilebilir fraksiyon (HEF) için, tüpte kalan alt faz üzerine 20 mL metanol / H<sub>2</sub>SO<sub>4-kons</sub> (10:1) ilave edilmiş ve çalkalayıcı su banyosunda 85°C/20 saat tutulmuştur. Süre sonunda ekstraktlara 4°C/3500 rpm/10 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir (Sigma 3 K 30, Almanya). Hazırlanan ekstraktların üst fazı Hidrolize edilebilir fraksiyon (HEF) olarak değerlendirilmiş ve -16 °C'de analizlerde kullanılmaya kadar muhafaza edilmiştir. Biyoalınabilir fraksiyon için ise gastro-intestinal sistem koşullarını taklit eden ardışık bir *in-vitro* enzimatik ekstraksiyon sistemi uygulanmıştır (Bouayed vd., 2012). Bu amaçla; Mide ortamı: 2 g örneğin üzerine 10 mL saf su ilavesinden sonra pH 2'ye (HCl kullanılarak) getirilerek üzerine 0.5 mL %2'lik pepsin ilave edilmiş ve çalkalamalı su banyosunda 37°C/2 saat tutulmuştur.

Bağırsak ortamı: Süre sonunda pH'ları 7.2'ye ayarlanarak, 2.5 mL NaCl/KCl ve 2.5 mL bile/pankreatin eklenmiştir. Örnekler, çalkalamalı su banyosunda 37°C/2.5 saat tutulmuştur. Ardından ekstraktlar 3500 rpm/10 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirilmiş ve üst faz alınmıştır. Elde edilen tüm ekstraktlar -24°C'de saklanmıştır. Ekstraktlar en az üç paralel olacak şekilde hazırlanmıştır.

### *Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFM)*

Bu amaçla, Folin-Ciocalteu kolorimetrik metodu kullanılmıştır (Apak vd., 2008). Spektrofotometrede (Optizen 3220 UV-Mecasys) 750 nm'de okuma yapılmıştır. Hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltileri okunarak kalibrasyon grafiği oluşturularak, sonuçlar mg gallik asit eşdeğerleri (GAE)/ 100 g taze ağırlık (TA) olarak hesaplanmıştır. Toplam fenolik madde miktarı ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir fraksiyonların toplamı olarak verilmiştir. Biyoalınabilirlik sonuçları toplam fenolik miktarının yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Analizler üçer tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve ±SS olarak gösterilmiştir.

### *Antioksidan kapasite*

Tıbbi bitkiler ve zenginleştirilmiş ekmek örneklerinin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla CUPRAC (Kuprik

indirgeyici antioksidan kapasite), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve FRAP (Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü) metotları kullanılmıştır.

*DPPH*: Boskou vd. (2010)'na göre; 3.90 ml DPPH çözeltisi (6 x10<sup>-5</sup> M) ile 100 µl örnek ekstraktı tüplere alınarak karanlık ortamda 30 dk bekletilmiştir. Süre sonunda spektrofotometrede (Optizen, 3220 UV-Mecasys) 515 nm'de absorbans değerleri belirlenmiştir.

*CUPRAC*: Apak vd. (2008)'ne göre; Bakır(II)klorür çözeltisi (1.0x10<sup>-2</sup> M), neokuproin çözeltisi (7.5x10<sup>-3</sup> M), amonyum asetat tampon çözeltilerinin (1.0 M), her birinden 1'er mL ve x mL örnek ekstraktı deney tüpüne alınarak (4-x) mL damıtık su ilave edilmiştir. Karanlık ortamda 30 dakika bekletildikten sonra, spektrofotometrede (Optizen marka 3220 UV-Mecasys) 450 nm'deki absorbansları ölçülmüştür.

*FRAP*: Sun vd. (2017)'ne göre; 250 ml TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine), 250 ml FeCl<sub>3</sub> ve 62.5 ml asetat tampon çözeltileri karıştırıldıktan sonra FRAP solüsyonu hazırlanmıştır. X ml örnek, (4-x) ml saf su ve 3 ml hazırlanan FRAP çözeltisi deney tüpünde karıştırılarak 37°C/15 dk su banyosunda bekletilmiştir. Süre sonunda spektrofotometrede (Optizen, 3220 UV-Mecasys) 595 nm'deki absorbans değerleri saptanmıştır.

Antioksidan kapasite sonuçları hesaplanırken Trolox çözeltisi standart olarak kullanılarak kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur ve sonuçlar 1 µmol Trolox Eşdeğeri (TE)/ mg örnek olarak verilmiştir. Analizler üçer tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve ±SS olarak gösterilmiştir.

### *% Biyoalınabilirliğin belirlenmesi*

Zenginleştirilmiş ekmek örneklerine ait %biyoalınabilirliğinin belirlenmesinde Baenas vd. (2020)'nin eşitliği (1) kullanılarak hesaplama yapılmıştır. Buna göre %biyoalınabilirlik, biyoalınabilir fraksiyonlara ait sonuçların, ekstrakte ve hidrolize edilebilir fraksiyona ait sonuçların toplamına oranının % olarak ifade edilmesidir.

$$\% \text{Biyoalınabilirlik} = \left( \frac{\text{Biyoalınabilir fraksiyon}}{\text{Ekstrakte} + \text{Hidrolize fraksiyon}} \right) \times 100 \quad (1)$$

**İstatistiksel Analiz**

Verilerin istatistiksel analizinde JMP IN 7.0.0 (Statistical Discovery from SAS Institute Inc. 2007) uygulanarak değerlendirme yapılmıştır. Sonuçların ortalamaları arasındaki istatistiksel farklılığın belirlenmesinde, “LSD (*Least Significant Difference*) testi”  $P < 0.05$  anlamlılık düzeyinde uygulanmıştır. 3 tekrarlı olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür.

**BULGULAR VE TARTIŞMA****Fizikokimyasal Bileşim**

Buğday unu (BU), karahindiba unu (KU), civanperçemi unu (CU) ve bu tıbbi bitkiler ile zenginleştirilmiş ekme örneklerine (K1, K2, K3-C1, C2, C3) ait kimyasal analiz sonuçları Çizelge 2’de verilmiştir. Nem içeriği BU, KU ve CU için sırasıyla %9.81, %10.71 ve %8.05 bulunmuştur. Becker vd. (2016) civanperçeminin nem içeriğinin ortalama %11.03 olduğunu bildirmiştir.

Çizelge 2. Un ve ekme örneklerinin kimyasal bileşimi\*1  
Table 2. Chemical compositions of flour and bread samples\*1

Un Örnekleri Flour Samples	Nem (%) Moisture (%)	Kül (%) Ash (%)	Toplam Asitlik (%) Total acidity (%)	pH pH
BU	9.81±0.10 <sup>b</sup>	0.55±0.15 <sup>c</sup>	0.72±0.00 <sup>a</sup>	6.20±0.01 <sup>a</sup>
KU	10.71±0.18 <sup>a</sup>	6.29±0.56 <sup>b</sup>	0.05±0.00 <sup>b</sup>	5.65±0.04 <sup>b</sup>
CU	8.05±0.22 <sup>c</sup>	7.45±0.88 <sup>a</sup>	0.05±0.00 <sup>b</sup>	5.26±0.01 <sup>c</sup>
Ekme Örnekleri Bread Samples	Nem (%) Moisture (%)	Kül (%) Ash (%)	Toplam Asitlik (%) Total acidity (%)	pH pH
Kontrol Control	34.87±1.27 <sup>g</sup>	1.24±0.02 <sup>g</sup>	0.17±0.00 <sup>c</sup>	6.19±0.01 <sup>a</sup>
K1	42.37±0.10 <sup>f</sup>	2.08±0.16 <sup>f</sup>	0.17±0.00 <sup>c</sup>	6.11±0.04 <sup>b</sup>
K2	43.70±2.20 <sup>e</sup>	2.51±0.06 <sup>e</sup>	0.17±0.00 <sup>c</sup>	6.06±0.01 <sup>c</sup>
K3	43.68±2.11 <sup>d</sup>	3.11±0.24 <sup>c</sup>	0.22±0.06 <sup>a</sup>	5.93±0.01 <sup>f</sup>
C1	44.19±1.62 <sup>c</sup>	2.88±0.11 <sup>d</sup>	0.17±0.00 <sup>c</sup>	6.03±0.02 <sup>d</sup>
C2	44.88±0.97 <sup>b</sup>	3.40±0.30 <sup>b</sup>	0.21±0.06 <sup>b</sup>	6.00±0.01 <sup>e</sup>
C3	45.65±1.32 <sup>a</sup>	3.86±0.22 <sup>a</sup>	0.21±0.06 <sup>b</sup>	5.88±0.02 <sup>g</sup>

\*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır ( $P \leq 0.05$ ). Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir. (BU: Buğday unu, KU: Karahindiba unu, CU: Civanperçemi unu, Kontrol: Kontrol ekmeği; K1, K2 ve K3: Karahindiba unu katkılı ekmeğler; C1, C2 ve C3: Civanperçemi unu katkılı ekmeğler)

\*Mean values represented by the same letters within the same column are not significantly different at  $P \leq 0.05$ . Data are expressed as means  $\pm$  standard deviations. (BU: Wheat Flour, KU: Dandelion flour, CU: Yarrow flour, Control: control bread; K1, K2 and K3: bread enriched with dandelion flour; C1, C2 and C3: bread enriched with yarrow flour)

Zenginleştirilmiş ekmeğlerde ise kontrol grubu %34.87 ile en düşük nem içeriğine sahipken K1, K2, K3 ekmeğlerinde ortalama %43.0 ve C1, C2, C3 ekmeğlerinde ise ortalama %44.0 nem içeriği tespit edilmiştir. Tıbbi bitkilerin diyet lif bakımından zengin olması ve kontrol grubuna göre nem miktarının yüksek olması, bitkisel liflerin su tutma kapasitesinin yüksek olmasından kaynaklanmaktadır (Arslan ve Erbaş, 2014; Hançer, Karabulut ve Gökbulut, 2022).

Cingöz vd. (2022), ekmeğlere diyet lif kaynağı olarak kullandığı kaba kepek ilavesi oranı arttıkça,

yapıda fazla su tutulmasına neden olduğunu ve kontrol grubuna göre son ürünün nem miktarında önemli artışa sebep olduğunu bildirmiştir. Benzer olarak Göçmen vd. (2019), buğday unu ile üretilen kontrol grubu bisküvilerde belirlenen %6.41 olan nem içeriğini kahve çekirdeği zarı ilavesi ile %7.89’e yükselttiğini rapor etmişlerdir.

Kül içeriği açısından değerlendirildiğinde, en yüksek kül içeriğine CU (%7.45) sahip iken bunu KU (%6.29) izlemiş ve BU’nun %0.55 ile en düşük içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Bu sonuçlarla paralel olarak, ekmeğ

örneklerinde en düşük kül içeriği kontrol (%1.24) grubunda bulunurken, ilave edilen CU ve KU miktarı ile kül miktarları arasında doğrusal bir artış olduğu ayrıca en yüksek kül değerini veren örneklerin %3 katkılı ekme (C3, K3) olduğu tespit edilmiştir. Dias vd. (2013) civanperçemi bitkisinin kül içeriğini kuru ağırlık üzerinden, yabani türlerde 6.43 g/100 g, ticari türlerde ise %8.54 olarak saptamışlardır. Becker vd. (2016) ise civanperçeminin kül içeriğinin %5.13 olduğunu bildirmiştir. Bu sonuçlar yaptığımız çalışma ile benzerlik göstermektedir. Literatürde ekme ile ilgili yapılan zenginleştirme çalışmalarında da çalışmamız ile benzer şekilde zenginleştirilen ürünlerin kül miktarı kontrol örneklerine kıyasla daha yüksek değerler vermiştir (Hayıt ve Hülya, 2019; Cömert ve Gün 2020; Furkan Erdoğan, 2022). Bunun sebebinin zenginleştirmek amacıyla kullanılan içeriklerin, genellikle buğday ununa kıyasla çok daha yüksek kül içeriğine sahip olması ve bunun sonucu olarak ikame oranı arttıkça son ürünlerin kül içeriklerinde de artışa sebep olduğu düşünülmektedir (Altınar, 2020; Demir ve Olcay, 2020).

Zenginleştirilen ekme örneklerinin pH değerleri incelendiğinde, kontrol grubunun 6.19, zenginleştirilen ekmelelerde ise bu değer 5.88-6.11 aralığında değiştiği görülmektedir. Buğday ununun tıbbi bitkilere kıyasla daha yüksek pH değerine sahip olması nedeniyle kontrol ekmeğinin değerinin daha yüksek çıkması beklenen bir sonuçtur. pH değerleri literatürdeki diğer ekme sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Yıldız vd., 2021; Badem ve Koyuncu, 2022).

Renk, gıdaların temel fiziksel özelliklerinden birisi olup zenginleştirme yapılan ürünlerin rengi, tüketici kabulünün en önemli parametrelerinden birisini oluşturmaktadır (Pekmez ve Yılmaz 2020; Aslan vd., 2023). Elde edilen sonuçlara göre,  $L^*$  değerleri ekmelelerin hem iç hem de dış kabuk renginde, KU ve CU ilavesi ile önemli ölçüde azalmış ( $P < 0.05$ ) ve koyu renkli ekmeleler üretilmesine sebep olmuştur. Ekmeğe katılan bitki unlarının  $L^*$  değerinin düşük olması nedeniyle bu sonuç oldukça olağandır (Çizelge 3). Ekmeğin zenginleştirilmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda da

benzer şekilde iç ve kabuk renginde koyulaşma olduğu ve  $L^*$  değerindeki düşüş sonucu parlaklığın azaldığı bildirilmiştir (Çelik ve Göncü, 2021; Badem ve Koyuncu, 2022; Hançer, Karabulut ve Gökbulut, 2022). Almeida vd. (2013) ekmelelere ilave edilen diyet lif kaynaklarının ekmeğin nem miktarını artırdığı ve bunun sonucunda ekmeğin iç rengindeki parlaklığın ( $L^*$ ) azalmasına sebebiyet verdiğini bildirmiştir. Ekmelelerde yapılan diğer zenginleştirme çalışmalarında ilave edilen bitkisel katkıların sarılık ( $b$ ) değerlerinin azalmasına, kırmızı renk değerinin ( $a$ ) ise artmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Fendri vd. 2016; Romankiewicz vd., 2017).

### Toplam Fenolik Madde Miktarı

Buğday unu, karahindiba unu, civanperçemi unu ve bu tıbbi bitkiler ile zenginleştirilmiş ekmelelere ait TFM verileri, kalibrasyon grafiği ( $y=0.0133x-0.0424$ ,  $R^2=0.9959$ ) oluşturularak sonuçlar gallik asit eşdeğerinde (GAE), mg/100 g taze ağırlık (TA) olarak Çizelge 4'de verilmiştir.

BU, KU ve CU'na ait TFM içerikleri sırasıyla 39.25, 195.60 ve 206.64 mg GAE/100g TA bulunmuştur. Bayat vd. (2021) civanperçeminin çiçek kısmı ile yaptıkları çalışmada TFM içeriğinin 6.26 mg GAE/g olduğunu bildirmiştir. Sarı vd. (2020) karahindiba bitkisinin ekstraktı ile yaptıkları çalışmada toplam fenolik madde miktarının 99.78 mg/g GAE olduğunu bildirmiştir. HEF sonuçlarının tüm un ve ekme örneklerinde EEF'den daha yüksek değerleri verdiği görülmüştür ( $P < 0.05$ ). Un örneklerine ait % biyoalınabilirlik sonuçları değerlendirildiğinde ise sırasıyla %80.71, %77.39 ve %59.19 bulunmuştur. Bu sonuçlara göre CU'nun en düşük % biyoalınabilirliğe sahip olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ).

Tıbbi bitkiler ile zenginleştirilen K1, K2 ve K3 ekmeğinin TFM sonuçları sırasıyla 51.64, 58.60 ve 61.40 mg GAE/100g iken C1, C2 ve C3'de sırasıyla 54.49, 60.17 ve 62.23 mg GAE/100g bulunmuştur. Her iki bitki ile zenginleştirilmiş ekmelelerin %100 buğday unu ile üretilen ekmelelerden (45.76 mg GAE/100g) daha yüksek değerler verdiği ayrıca CU ile zenginleştirilen

ekmeklerin aynı oranla üretilen KU ile zenginleştirilen ekmeklerden daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür ( $P \leq 0.05$ ). Cacak-Pietrzak vd. (2023) buğday ununa %0, 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 oranında ilave ettikleri kurutulmuş karahindiba bitkisinin ekmeğin toplam fenolik içeriğini ve antioksidan kapasitesini arttırdığını rapor etmişlerdir. Toplam fenolik madde miktarı, kontrol grubunda kuru ağırlık üzerinden 1.00 mg GAE/g iken, %6 karahindiba bitkisi ile zenginleştirilmiş ekmekte 3.45 mg GAE/g değerine yükseldiği bildirilmiştir. Bu değerler çalışmamızda elde edilenlerden oldukça düşüktür. Bu farklılığın kullanılan civanperçeminin yetiştirme koşullarından, çevresel ve iklimik koşullardan, hasat zamanı ve analiz sırasında kullanılan ekstraksiyon koşullarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Pekmez ve Yılmaz (2022), siyah havuç lifini %0, 1, 2.5, 5 ve 7.5 oranlarında ekmek üretimine ilave etmiştir. Kontrol grubunun TFM içeriğini 54.25 mg

GAE/100 g olarak belirlemiş ve zenginleştirilen ekmek örneklerinden daha düşük değerler verdiğini, katkı oranının artması ile TFM içeriğinde doğrusal bir artış görüldüğünü bildirmiştir. Bunun sonucunda en yüksek TFM %7.5 siyah havuç lifi ile zenginleştirilen ekmeklerde (493.29 mg GAE/100 g) olduğu ifade edilmiştir. Jdir vd. (2017), yabancı roka bitkisini toz haline getirerek ekmeği zenginleştirdikleri çalışmada, TFM içeriğinin ekmeğe yapılan ilave oranının (%0, 1, 3, 5, 7) artırılması ile doğru orantılı bir şekilde yükseldiğini, kontrol grubunda ise en düşük değere sahip olduğunu bildirmiştir. Literatürde zenginleştirilen ekmekler ile ilgili yapılan; yeşil çay katkılı ekmek (Alkay vd., 2022), mavi-yeşil alg spirulina katkılı ekmek (İlhan vd., 2020), kara üzüm tozu ilaveli ekmek (Hayta vd., 2014) çalışmalarının sonucunda zenginleştirilen ekmeklerin ilave oranına bağlı olarak, kontrol grubundan daha yüksek değerler elde edildiği rapor edilmiştir.

Çizelge 3. Un ve ekmek örneklerine ait renk sonuçları\*1

Table 3. Color results of flour and bread samples\*1

Un Örnekleri Flour Samples	Renk Color		
	L*	a*	b*
BU	81.05±3.68 <sup>a</sup>	-0.40±0.17 <sup>b</sup>	11.08±0.41 <sup>c</sup>
KU	40.68±0.76 <sup>c</sup>	-0.22±0.11 <sup>b</sup>	13.59±0.23 <sup>b</sup>
CU	51.19±3.98 <sup>b</sup>	0.62±0.06 <sup>a</sup>	19.25±1.22 <sup>a</sup>

Ekmek Örnekleri Bread Samples	İç Rengi Interior color			Kabuk Rengi Shell color		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Kontrol Control	62.10±0.64 <sup>a</sup>	-1.04±0.01 <sup>d</sup>	12.43±0.13 <sup>ab</sup>	56.99±1.46 <sup>a</sup>	5.04±2.13 <sup>c</sup>	20.29±1.51 <sup>a</sup>
K1	53.77±5.31 <sup>bc</sup>	-0.56±0.06 <sup>c</sup>	11.00±0.42 <sup>c</sup>	49.64±3.64 <sup>bc</sup>	3.97±1.64 <sup>f</sup>	16.19±0.50 <sup>bc</sup>
K2	48.90±0.69 <sup>d</sup>	-0.34±0.09 <sup>b</sup>	11.03±0.14 <sup>c</sup>	45.37±4.31 <sup>cd</sup>	3.94±0.37 <sup>g</sup>	15.62±1.12 <sup>c</sup>
K3	46.44±0.87 <sup>d</sup>	-0.09±0.06 <sup>a</sup>	11.05±0.23 <sup>c</sup>	41.70±3.81 <sup>d</sup>	4.84±0.44 <sup>d</sup>	15.22±1.30 <sup>c</sup>
C1	57.53±1.74 <sup>b</sup>	-0.87±0.14 <sup>d</sup>	11.85±0.48 <sup>b</sup>	51.57±2.19 <sup>ab</sup>	5.45±0.93 <sup>b</sup>	18.17±0.27 <sup>ab</sup>
C2	53.60±3.48 <sup>bc</sup>	-0.44±0.21 <sup>bc</sup>	12.06±0.58 <sup>ab</sup>	47.90±3.29 <sup>bc</sup>	5.47±2.12 <sup>a</sup>	17.28±0.41 <sup>bc</sup>
C3	50.79±1.14 <sup>cd</sup>	-0.13±0.09 <sup>a</sup>	12.62±0.34 <sup>a</sup>	46.07±4.50 <sup>bcd</sup>	4.82±1.62 <sup>c</sup>	17.14±2.37 <sup>bc</sup>

\*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır ( $P \leq 0.05$ ). Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir. (BU: Buğday unu, KU: Karahindiba unu, CU: Civanperçemi unu, Kontrol: Kontrol ekmeği; K1, K2 ve K3: Karahindiba unu katkılı ekmekler; C1, C2 ve C3: Civanperçemi unu katkılı ekmekler)

\*Mean values represented by the same letters within the same column are not significantly different at  $P \leq 0.05$ .<sup>[1]</sup>Data are expressed as means  $\pm$  standard deviations.<sup>[2]</sup>(BU: Wheat Flour, KU: Dandelion flour, CU: Yarrow flour; Control: control bread; K1, K2 and K3: bread enriched with dandelion flour; C1, C2 and C3: bread enriched with yarrow flour)

## Civanperçemi ve karahindiba ile zenginleştirilen fonksiyonel ekme

Çizelge 4. Un ve ekme örneklerinin ekstrakte, hidrolize ve biyoalınabilir fenol miktarı\*<sup>1</sup> ve (%) biyoalınabilirlikleri

*Table 4. Extractable, hydrolyzable, bioaccessible phenolic content and bioaccessibility (%) of flour and bread samples\*<sup>1</sup>*

Un Örnekleri <i>Flour Samples</i>	Toplam Fenol Miktarı (mg GAE/100g) <i>Total phenolic contents (mg GAE/100g)</i>				
	Ekstrakte edilebilir <i>Extractable</i>	Hidrolize edilebilir <i>Hydrolyzable</i>	TFM <i>TPC<sup>a</sup></i>	Biyoalınabilir TFM <i>Bioaccessible</i>	Biyoalınabilirlik (%) <i>Bioaccessibility (%)</i>
BU	5.25±0.11 <sup>c</sup>	34.01±1.58 <sup>c</sup>	39.25±1.47 <sup>c</sup>	31.65±0.60 <sup>c</sup>	80.71±4.54 <sup>a</sup>
KU	56.93±0.99 <sup>b</sup>	138.67±2.93 <sup>b</sup>	195.60±3.92 <sup>b</sup>	151.38±3.76 <sup>b</sup>	77.39±0.37 <sup>a</sup>
CU	62.51±0.40 <sup>a</sup>	144.12±2.80 <sup>a</sup>	206.64±2.77 <sup>a</sup>	122.32±3.03 <sup>a</sup>	59.19±0.68 <sup>b</sup>
<b>Ekme Örnekleri</b> <i>Bread Samples</i>					
Kontrol <i>Control</i>	6.11±0.22 <sup>f</sup>	39.65±0.99 <sup>e</sup>	45.76±0.77 <sup>f</sup>	44.15±0.51 <sup>ab</sup>	96.49±0.50 <sup>a</sup>
K1	7.28±0.13 <sup>c</sup>	44.36±1.05 <sup>d</sup>	51.64±0.92 <sup>e</sup>	37.46±2.10 <sup>d</sup>	72.52±2.77 <sup>bc</sup>
K2	8.89±0.58 <sup>d</sup>	49.71±0.45 <sup>b</sup>	58.60±0.14 <sup>c</sup>	41.93±2.11 <sup>c</sup>	71.55±3.76 <sup>bcd</sup>
K3	9.92±0.56 <sup>b</sup>	51.49±0.62 <sup>a</sup>	61.40±1.18 <sup>a</sup>	45.24±1.65 <sup>a</sup>	73.72±4.10 <sup>b</sup>
C1	7.58±0.06 <sup>e</sup>	46.91±0.67 <sup>c</sup>	54.49±0.73 <sup>d</sup>	38.69±0.60 <sup>d</sup>	71.01±0.16 <sup>bcd</sup>
C2	9.45±0.37 <sup>c</sup>	50.72±0.82 <sup>a</sup>	60.17±1.19 <sup>b</sup>	41.74±0.20 <sup>c</sup>	69.37±1.04 <sup>d</sup>
C3	10.75±0.01 <sup>a</sup>	51.48±0.44 <sup>a</sup>	62.23±0.40 <sup>a</sup>	43.35±0.29 <sup>bc</sup>	69.67±0.99 <sup>cd</sup>

\*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır ( $P \leq 0.05$ ). Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir. (BU: Buğday unu, KU: Karahindiba unu, CU: Civanperçemi unu, Kontrol: Kontrol ekmeği; K1, K2 ve K3: Karahindiba unu katkılı ekmeği; C1, C2 ve C3: Civanperçemi unu katkılı ekmeği)

\*Mean values represented by the same letters within the same column are not significantly different at  $P \leq 0.05$ . Data are expressed as means  $\pm$  standard deviations. (BU: Wheat Flour, KU: Dandelion flour, CU: Yarrow flour; Control: control bread; K1, K2 and K3: bread enriched with dandelion flour; C1, C2 and C3: bread enriched with yarrow flour)

Ekmelelerde TFM'nin % biyoalınabilirliği değerlendirildiğinde ise %100 buğday unu ile üretilen kontrol grubu %96.49 ile en yüksek sonucu vermiştir. Bunun sebebinin kullanılan bitkilerin fenolik bileşikleri ile gıda bileşenleri arasındaki interaksyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Fenolik bileşiklerin diğer gıda bileşenleri üzerine olumlu ve olumsuz etkileri olabildiği bilinmektedir (Ortega vd., 2009). Sindirim sırasında, gıdalarda bulunan bazı proteinler ve enzimlerin fenolik bileşikler ile etkileşimi sonucunda besin değerinde de azalmalar olduğu gösterilmiştir (Aguíé-Béghin vd., 2018; Karabulut ve Yemiş, 2019). Ayrıca mineraller ve vitaminler gibi minör bileşiklerin, bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerle etkileşime girerek antioksidan kapasite gibi biyolojik özellikleri de etkilediği bildirilmiştir (Yang vd., 2022).

### Antioksidan kapasite

Antioksidan kapasite sonuçlarının hesaplanmasında kullanılan standartlara ait kalibrasyon grafikleri, CUPRAC ( $y=0.1325-0.20209x$ ,  $R^2=0.9909$ ), DPPH ( $y=3397.4x-3.7861$ ,  $R^2=0.9987$ ), FRAP ( $y=53.304x-0.022$ ,  $R^2=0.9939$ ) olarak kullanılmıştır ve sonuçlar  $\mu\text{mol TE/g}$  örnek olarak Çizelge 5'de verilmiştir.

BU, KU ve CU'na ait toplam antioksidan kapasite sonuçları CUPRAC metoduna göre sırasıyla, 16.16, 212.06 ve 222  $\mu\text{mol TE/g}$ ; DPPH metoduna göre sırasıyla, 1.31, 30.49 ve 32.54  $\mu\text{mol TE/g}$ , FRAP için, ise 7.85, 67.79, 77.67  $\mu\text{mol TE/g}$  olarak bulunmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğinde; en düşük antioksidan kapasite değerlerini BU verirken onu KU izlemiştir.



Çizelge 5. Un ve ekmeğ örneklerinin ekstrakte, hidrolize ve biyoalınabilir antioksidan kapasiteleri  
 Table 5. Extractable, hydrolyzable and bioaccessible antioxidant capacities of flour and bread samples \*1

Antioksidan Kapasite (µmol TE/g) Antioxidant Capacity (µmol TE/g)				
Metot Method	Un Örnekleri Flour Samples	Ekstrakte edilebilir Extractable	Hidrolize edilebilir Hydrolyzable	Biyoalınabilir Bioaccessible
CUPRAC	BU	1.66±0.19 <sup>c</sup>	14.49±0.43 <sup>c</sup>	5.27±0.21 <sup>c</sup>
	KU	53.14±0.42 <sup>b</sup>	159.81±1.37 <sup>b</sup>	69.76±2.76 <sup>b</sup>
	CU	57.04±0.87 <sup>a</sup>	165.01±9.92 <sup>a</sup>	60.43±3.73 <sup>a</sup>
DPPH	BU	0.61±0.02 <sup>c</sup>	0.69±0.01 <sup>c</sup>	0.48±0.07 <sup>b</sup>
	KU	10.66±0.07 <sup>a</sup>	19.82±0.44 <sup>b</sup>	26.26±2.95 <sup>a</sup>
	CU	9.81±0.03 <sup>b</sup>	22.72±0.23 <sup>a</sup>	24.87±1.66 <sup>a</sup>
FRAP	BU	2.04±0.24 <sup>c</sup>	5.81±0.14 <sup>c</sup>	2.36±0.13 <sup>c</sup>
	KU	22.95±1.21 <sup>b</sup>	44.83±1.70 <sup>b</sup>	58.30±1.33 <sup>a</sup>
	CU	25.16±2.14 <sup>a</sup>	52.50±2.56 <sup>a</sup>	39.27±0.61 <sup>b</sup>
Metot Method	Ekmeğ Örnekleri Bread Samples	Ekstrakte edilebilir Extractable	Hidrolize edilebilir Hydrolyzable	Biyoalınabilir Bioaccessible
CUPRAC	Kontrol Control	2.16±0.92 <sup>e</sup>	8.01±0.25 <sup>b</sup>	5.39±0.11 <sup>bc</sup>
	K1	2.74±0.18 <sup>d</sup>	17.01±0.36 <sup>a</sup>	5.23±0.11 <sup>d</sup>
	K2	3.40±0.97 <sup>b</sup>	17.82±0.53 <sup>a</sup>	5.48±0.15 <sup>b</sup>
	K3	3.88±0.38 <sup>a</sup>	19.75±0.34 <sup>a</sup>	6.33±0.01 <sup>a</sup>
	C1	3.03±0.23 <sup>c</sup>	17.32±0.26 <sup>a</sup>	5.17±0.11 <sup>d</sup>
	C2	3.07±0.34 <sup>c</sup>	19.10±0.24 <sup>a</sup>	5.28±0.05 <sup>cd</sup>
	C3	3.37±0.18 <sup>b</sup>	20.50±0.36 <sup>a</sup>	5.46±0.19 <sup>b</sup>
DPPH	Kontrol Control	0.64±0.019 <sup>f</sup>	1.15±0.01 <sup>f</sup>	0.85±0.09 <sup>e</sup>
	K1	0.73±0.02 <sup>e</sup>	1.68±0.07 <sup>d</sup>	1.01±0.07 <sup>cd</sup>
	K2	0.76±0.01 <sup>de</sup>	2.15±0.09 <sup>b</sup>	0.84±0.02 <sup>e</sup>
	K3	0.83±0.02 <sup>c</sup>	2.25±0.03 <sup>a</sup>	0.97±0.03 <sup>d</sup>
	C1	0.78±0.02 <sup>d</sup>	1.56±0.02 <sup>e</sup>	1.07±0.07 <sup>c</sup>
	C2	0.87±0.04 <sup>b</sup>	1.77±0.03 <sup>c</sup>	1.35±0.04 <sup>b</sup>
	C3	0.91±0.03 <sup>a</sup>	2.10±0.03 <sup>b</sup>	1.44±0.05 <sup>a</sup>
FRAP	Kontrol Control	1.78±0.05 <sup>g</sup>	5.66±0.11 <sup>g</sup>	2.98±0.25 <sup>c</sup>
	K1	3.18±0.06 <sup>f</sup>	7.57±0.06 <sup>f</sup>	2.91±0.18 <sup>c</sup>
	K2	4.90±0.01 <sup>d</sup>	9.12±0.21 <sup>d</sup>	4.72±0.44 <sup>a</sup>
	K3	5.99±0.00 <sup>b</sup>	9.54±0.13 <sup>b</sup>	4.26±0.52 <sup>b</sup>
	C1	3.80±0.09 <sup>e</sup>	8.75±0.15 <sup>e</sup>	2.41±0.41 <sup>d</sup>
	C2	5.25±0.37 <sup>c</sup>	9.38±0.08 <sup>c</sup>	3.95±0.06 <sup>b</sup>
	C3	6.61±0.18 <sup>a</sup>	10.40±0.09 <sup>a</sup>	3.02±0.13 <sup>c</sup>

\*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır ( $P \leq 0.05$ ). Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir. (BU: Buğday unu, KU: Karahindiba unu, CU: Civanperçemi unu, Kontrol: Kontrol ekmeği; K1, K2 ve K3: Karahindiba unu katkılı ekmeğler; C1, C2 ve C3: Civanperçemi unu katkılı ekmeğler) \*Mean values represented by the same letters within the same column are not significantly different at  $P \leq 0.05$ . [11] Data are expressed as means  $\pm$  standard deviations. [11] (BU: Wheat Flour, KU: Dandelion flour, CU: Yarrow flour; Control: control bread; K1, K2 and K3: bread enriched with dandelion flour; C1, C2 and C3: bread enriched with yarrow flour)

Dias vd. (2013) yaptıkları çalışmada civanperçemi bitkisinin antioksidan kapasitesinin DPPH yöntemine göre ticari türlerde 0.37 (mg/ml), yabancı türlerde ise 0.50 (mg/ml) olduğunu bildirmiştir. Sarı vd. (2020) karahindiba bitkisinin toprak üstünün tamamının antioksidan kapasitesinin FRAP yöntemine göre 2.73  $\mu\text{mol}$  Trolox/L ve DPPH yöntemine göre ise 2.13  $\mu\text{mol}$  Trolox/L olduğunu belirtmiştir. Sahan vd. (2017) yeşil hindibanın ekstrakte ve hidrolize fraksiyonlarında antioksidan kapasitenin 126.02-426.15  $\mu\text{mol}$  TE/g (CUPRAC metodu) ve 129.65-233.66  $\mu\text{mol}$  TE/g (DPPH metodu) olduğunu bildirmiştir. Çalışma sonucunda çalışmamıza benzer şekilde CUPRAC yönteminde HEF değerlerinin EEF'ye göre daha yüksek değerler verdiği görülmüştür. CUPRAC yönteminde kullanılan Cu(II) reaktifinin oldukça seçici olması ve diğer antioksidan kapasite yöntemlerinde girişime sebep olan basit şeker, sitrik asit vb. bileşenler ile okside olmaması, daha kararlı olması ve elektronik yapısı nedeniyle hızlı reaksiyon kinetiğine imkan vermesi yanında güneş ışığı, hava, pH ve nem gibi çevresel parametrelerden de etkilenmemesi sebebiyle CUPRAC yönteminin diğer antioksidan kapasite yöntemlerine kıyasla çok daha iyi sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (Ou vd., 2001; Apak vd., 2004; Apak vd., 2008; Büyüktuncel, 2013).

Yapılan araştırma kapsamında, her üç antioksidan kapasite metodu sonuçları da değerlendirildiğinde, HEF'lerin tüm un ve zenginleştirilmiş ekmeklerde EEF'lerden daha yüksek değerler verdiği görülmektedir ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 5). HEF'lerin hazırlanması aşamasında örneklerin,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -ethanol çözeltisi kullanılarak uzun süre ve yüksek sıcaklıklarda işlem görmesi, gıda matriksinde bulunan yapıya bağlı fenolik bileşiklerin de serbest hale geçmesini sağlamaktadır (Vitali, 2009). Bu da özellikle lif içeriği yüksek ürünlerde HEF'lerin daha yüksek sonuçlar vermesine sebep olmaktadır. Literatürde HEF'lerin daha yüksek sonuçlar verdiğine dair çok sayıda çalışma yer almaktadır (Sabuncu, Konak ve Şahan, 2019; Aydın, Rastgele ve Dülger, 2022; Dunder, 2022; Aroufai vd., 2022).

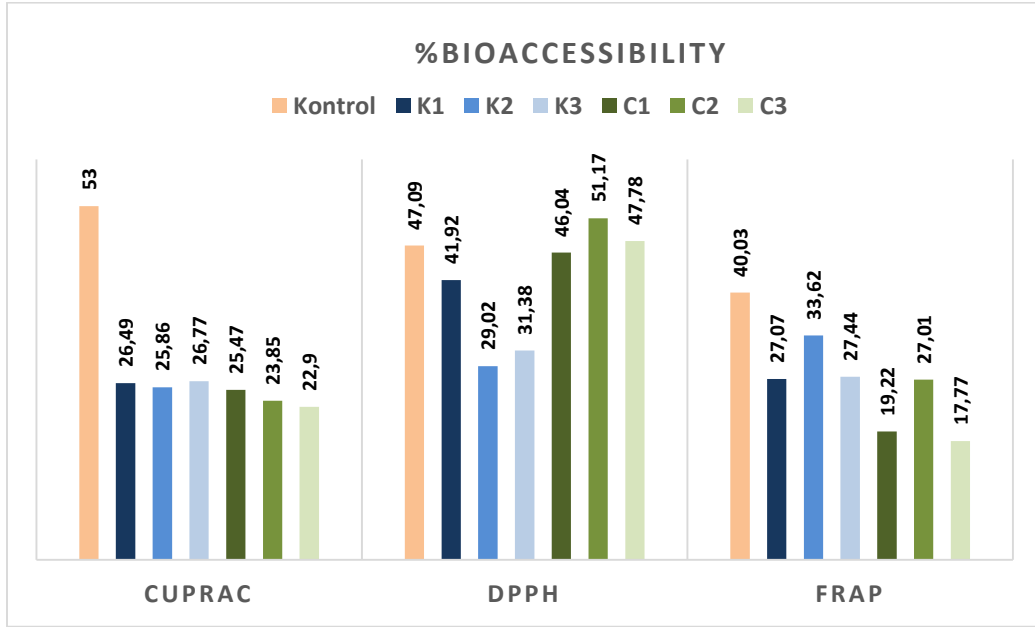
Yapılan tüm analiz yöntemlerinde her iki tıbbi bitki unu ile zenginleştirilen ekmeklerin antioksidan kapasite değerleri kontrol grubundan daha yüksek sonuçlar vermiş olup %3 oranında bitki unları ile zenginleştirilen ekmeklerin en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Bitki unu kullanım oranı arttıkça ekmeklerin antioksidan kapasite değerlerinin arttığı CU ve KU'nun aynı oranda katıldığı ekmekler arasında düzenli bir farklılık bulunmadığı gözlemlenmiştir ( $P > 0.05$ ).

Literatürde yapılan ekmek zenginleştirme çalışmalarında; farklı kepek fraksiyonları (Cingöz vd., 2022), şalgam unu (Badem ve Koyuncu, 2022), beyaz dut yaprak ve posası (İnce ve Çağrı, 2020), farklı tıbbi bitkiler (Burnaz vd., 2018) farklı oranlarda kullanılarak, ekmek üretimi gerçekleştirilmiş ve zenginleştirme yapılan ekmeklerin antioksidan kapasite değerlerinin kontrole kıyasla önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir. Yaptığımız çalışma literatürdeki ekmek zenginleştirme çalışmaları ile benzer sonuçlar vermiştir.

Tıbbi bitkiler ile zenginleştirilen ekmeklerin biyoalınabilir fraksiyona ait antioksidan kapasite sonuçları Çizelge 5'de verilmiştir ( $P < 0.05$ ). In-vitro mide bağırsak sistemi oluşturularak elde edilen veriler değerlendirildiğinde antioksidan kapasite yöntemlerine göre sonuçlar, CUPRAC: 5.17- 6.33  $\mu\text{mol}$  TE/g, DPPH: 0.84 - 1.44  $\mu\text{mol}$  TE/g ve FRAP: 2.41- 4.72  $\mu\text{mol}$  TE/g arasında değişmiştir. Sonuçlar %biyoalınabilirlik açısından değerlendirildiğinde ise, kontrol grubunun biyoalınabilirliği %40.03 ile %53 aralığında değişmiştir. KU ile zenginleştirilen ekmeklerin biyoalınabilirlik değerleri her üç yöntemde %25.18-41.27 aralığında sonuçlar vermiştir. CU ile zenginleştirilen ekmeklerde ise sonuçlar CUPRAC yöntemine göre %22.90-25.47, DPPH yöntemine göre %46.04-51.17 ve FRAP yöntemine göre %17.77-27.01 aralığında değişmektedir (Şekil 1). % biyoalınabilirlik değeri; kullanılan hammadde, uygulanan proses, tercih edilen analiz ve ekstraksiyon yöntemi vb. gibi birçok parametreye bağlı olarak değişmektedir. Çalışmada kullanılan bitki unları ile yapılmış bir çalışmaya rastlanılamaması ve literatürdeki unlu

mamullerin zenginleştirilmesi ile ilgili yapılan %biyoalınabilirlik çalışmalarındaki farklılıklar

nedeniyle bir karşılaştırma yapılması mümkün olmamıştır.



Şekil 1. Ekmek örneklerinin (%) biyoalınabilirlikleri

(Kontrol: tıbbi bitki içermez, sadece buğday unu; K1, K2 ve K3: Karahindiba unu katkılı ekmekler; C1, C2 ve C3: Civanperçemi unu katkılı ekmekler)

Figure 1. Bioaccessibility % of bread samples

(Control: without medicinal plant, only wheat flour; K1, K2 ve K3: Enriched breads with dandelion flour; C1, C2 ve C3: Enriched breads with yarrow flour)

## SONUÇ

Yapılan çalışma kapsamında seçilen civanperçemi ve karahindibanın insan sağlığına olan etkileri ve pozitif bitki listesinde yer almaları ile güvenli oldukları literatür çalışmalarında bildirilmiştir. Çalışmamız kapsamında seçilen tıbbi bitkilerin besin içeriği ve antioksidan kapasite bakımından zengin birer kaynak oldukları görülmüştür. Bu tıbbi bitkilerin fonksiyonel gıda ürünlerinde kullanım olanaklarının değerlendirilmesi, günlük diyetimizde sıklıkla kullandığımız ekmeğin zenginleştirilmesi ve dengeli beslenmeye katkı sağlaması hedeflenmiştir. Yaptığımız çalışma sonuçlarına göre, günlük beslenmemizde tercih edilmeyen veya kullanım olanakları kısıtlı olan tıbbi bitkilerin farklı alanlarda kullanımı ile insan sağlığına olumlu yönde etkiler sağlayarak fonksiyonel beslenmeyi teşvik etmesi beklenmektedir. Çalışmamızda her iki tıbbi bitki ile zenginleştirilen ekmeklerin kontrol grubuna

göre daha iyi kül, antioksidan kapasite ve toplam fenolik miktarına sahip oldukları tespit edilmiştir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar, bu makale ile ilgili başka kişi veya kurumlar ile çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## YAZAR KATKILARI

Yazarlar makalenin oluşturulmasında, yazılması ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamışlardır. Bu çalışma ikinci yazarın yüksek lisans tezinden türetilmiş olup, ekmeğin üretimi ikinci yazarın yüksek lisans tezi kapsamında yapılmış olmakla birlikte, analizler tez kapsamı dışında yürütülmüştür.

## KAYNAKÇA

Aftab, T. (2019). A review of medicinal and aromatic plants and their secondary metabolites

- status under abiotic stress. *Journal of Medicinal Plants*, 7(3), 99-106.
- Ahmadi-Dastgerdi, A., Majid G., Zahra S. (2019). Antibacterial And Antifungal Effect Of Achillea Millefolium Essential Oil During Shelf Life Of Mayonnaise. *Food Science and Technology*, 13(4), 12–20.
- Aguíe-Béghin, V., Sausse, P., Meudec, E., Cheynier, V., Douillard, R. (2008). Polyphenol- $\beta$ -casein complexes at the air/water interface and in solution: effects of polyphenol structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(20), 9600-9611.
- Akgün, F. B. (2007). Ekşi Hamur Tozu Eldesi ve Ekmek Üretiminde Kullanılabilme Olanakları., Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Denizli,Türkiye, 55s.
- Akyol, E. (2016). Kalsiyum Oksalat Monohidrat Kristal Büyümesine Karahindiba (Taraxacum Officinale) Bitkisinin Etkisinin İncelenmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 6(3), 97-105.
- Alkay, Z., Erşahin, E., Durak, M. Z., Sağdıç, O. (2022). Effect of Green Tea Extract Concentrations on Sourdough Bread with Lactiplantibacillus plantarum. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(3), 610-619.
- Almeida, E.L., Chang, Y.K., Steel, C.J. (2013). Dietary fibre sources in bread: Influence on technological quality. *Food Science and Technology*, 50(2), 545-553. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.012>
- Altner, D. D. (2020). Physicochemical, sensory properties and in-vitro bioaccessibility of phenolics and antioxidant capacity of traditional noodles enriched with carob (*Ceratonia siliqua* L.) flour. *Food Science and Technology*, 41, 587-595.
- Altner, D. D., Sabuncu, M., Şahan, Y. (2021). Chemical and nutritional characteristics of crackers substituted with Cucurbita pepo L. seed flour. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 423-433.
- Anonim, (1990). Official Methods of Analysis of AOAC Intl. Method 925.40, 950.49. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, DC, USA.
- Anonim, (1995). American Association of Cereal Chemists. AACCC Approved methods (9th ed.). St. Paul, MN.
- Anonim, (1999). Approved Methods of American Association of Cereal Chemists International (AACCI), Metot No: 10.54.01., St. Paul, MN, USA.
- Anonim, (2007). Determination of titrable acidity. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, DC, USA.
- Anonim. (2012). Türk Gıda Kodeksi Ekmek ve Ekmek Çeşitleri Tebliği (Tebliğ No: 2012/2). Mevzuat Bilgi Sistemi. Erişim: 11.01.2023)
- Apak, R., Güclü, K., Özyürek, 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.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 52:7970-81.
- Aroufai, İ. A., Sabuncu, M., Dülger Altiner, D., Şahan, Y. (2022). Antioxidant properties and bioaccessibility of coffee beans and their coffee silverskin grown in different countries. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(3), 1873-1888.
- Arslan, D., Aydın, M., Türker, S. (2021). Extraction Methods of Medicinal and Aromatic Plants, Its Use in Foods and Evaluation in Food Supplement Field. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(5), 926-936.
- Arslan, S., Erbaş, M. (2014). Selüloz ve selüloz türevi diyet liflerin özellikleri ve fırın ürünlerinde kullanım imkânları. *Gıda*, 39(4), 243-250.
- Aslan, M., Olcay, N., Ertaş, N., Demir, M. K. (2023). Mor havuç tozu ikamesinin cips örneklerinin bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal

- özellikleri üzerine etkisi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 27(01), 103-112.
- Aydın, E., Rasgele, P. G., Dulger, G. (2022). First report on bioaccessibility, antioxidant activity and total phenolic compounds from *Stachys thirkei* C. Koch using a simulated in vitro digestion system. *Journal of Advanced Research in Natural and Applied Sciences*, 8(2), 188-200.
- Aydın, E., Göçmen, D. (2015). The influences of drying method and metabisulfite pre-treatment on the color, functional properties and phenolic acids contents and bioaccessibility of pumpkin flour. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 385-392.
- Badem, A., Koyuncu, M. (2022). Farklı Oranlarda Şalgam Unu İlavesinin Ekmek Özelliklerine Etkisi. 3. International Dicle Scientific Research And Innovation Congress 2022, 26-27 November 2022/Diyarbakır, Turkey, 445s.)
- Badem, A. (2021). *Ekmek ve unlu mamuller*. Temel Mutfak Teknikleri ve Yönetimi. Detay Yayıncılık, Ankara, Türkiye, 265s. ISBN: 978-605-254-394-8.
- Baenas, N., Ruales, J., Moreno, D. A., Barrio, D. A., Stinco, C. M., Martínez-Cifuentes, G., ... García-Ruiz, A. (2020). Characterization of Andean blueberry in bioactive compounds, evaluation of biological properties, and in vitro bioaccessibility. *Foods*, 9(10), 1483.
- Bayat, H., Shafie, F., Aminifard, M. H., Daghighi, S. (2021). Comparative effects of humic and fulvic acids as biostimulants on growth, antioxidant activity and nutrient content of yarrow (*Achillea millefolium* L.). *Scientia Horticulturae*, 279, 109912.
- Becker, L., Zaiter, A., Petit, J., Zimmer, D., Karam, M. C., Baudelaire, E., Dicko, A. (2016). Improvement of antioxidant activity and polyphenol content of *Hypericum perforatum* and *Achillea millefolium* powders using successive grinding and sieving. *Industrial Crops and Products*, 87, 116-123.
- Boskou, G. (2010). Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market in Olives and olive oil in health and disease prevention. *Academic Press*, 925-934.
- Bouayed, J., Deußer, H., Hoffmann, L., Bohn, T. (2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following in vitro digestion vs. their native patterns. *Food Chemistry*, 131(4), 1466-1472.
- Burnaz, N. A., Ertop, M. H., Karataş, Ş. M. (2018). Tıbbi Ve Aromatik Bitkilerin Kullanımı İle Ekmeğin Fenolik Madde İçeriğinin Zenginleştirilmesi. *Gıda*, 43(2), 240-249.
- Büyüktünel, E. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(2), 93-103.
- Ceyhun, S., Veli, C., Yılmaz, A. (2019). Kültür Aktarımında Gastronomik Öğelerin Yeri: Anadolu'nun Farklı Yörelerinden İstanbul'a Göç Eden Aileler Üzerine Bir Araştırma. *Eurasian Education Literature Journal*, Özel Sayı: 185-194.
- Cacak-Pietrzak G, Dziki D, Gawlik-Dziki U, Sulek A, Wójcik M, Krajewska A. Dandelion (2023). Flowers as an Additive to Wheat Bread: Physical Properties of Dough and Bread Quality. *Applied Sciences*, 13(1):477. <https://doi.org/10.3390/app13010477>
- Cingöz, A., Akpınar, Ö., Sayaslan, A. (2022). Farklı Kepek Fraksiyonlarının Ekmek Kalitesine Etkisi. *Gıda*, 47(2), 372-386.
- Correa-Betanzo, J., Allen-Vercoe, E., McDonald, J., Schroeter, K., Corredig, M., Paliyath, G. (2014). Stability and biological activity of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) polyphenols during simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 165, 522-531. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.135>
- Cömert, M., Gün, A. (2020). Fonksiyonel Gıda Olarak Mor Ekmek. *Journal of International Social Research*, 13(74).
- Çelik, İ., Göncü, A. (2021). Effects Of Hibiscus (*Hibiscus Sabdariffa* L.) And Poppy (*Papaver Rhoeas* L.) Extracts On Dough And Bread Properties. *Gıda/The Journal Of Food*, 46(5).
- Çetin, H., Tontul, S. A., Nihat, A. (2021). Yer Elması Tozu İlavesinin Ekşi Hamur Fermantasyonu Üzerine Etkisi. *Gıda*, 46(2), 367-375.

- Das, L., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R. (2012). Supplementation of common white bread by coriander leaf powder. *Food Sci Biotechnol*, 21,425-433, doi: 10.1007/s10068-012-0054-9.
- Demir, M. K., Olcay, N. (2020). Ekmek Üretiminde Farklı Turunçgil Aldebolarının Kullanım İmkanları. *Kabramanmaraş Sütcü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(6), 1545-1553.
- Demirezer, Ö., Tayfun, E., İdal, S., Bilge, S., Aysęul, K., Funda, N. (2019). *A'dan Z'ye Tıbbi Bitkiler*. Hayykitap.
- Dias, M. I., Barros, L., Dueñas, M., Pereira, E., Carvalho, A. M., Alves, R. C., ... Ferreira, I. C. (2013). Chemical composition of wild and commercial *Achillea millefolium* L. and bioactivity of the methanolic extract, infusion and decoction. *Food chemistry*, 141(4), 4152-4160.
- Dundar, A. N. (2022). Total phenolic and antioxidant bioaccessibilities of cookies enriched with bee pollen. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(6), e16085.
- Dündar, A. N., Yildiz, E., Parlak, Ö., Aydın, E. (2021). Use of chia seed on regular and low-fat crackers, their antioxidant properties, and in-vitro bioaccessibility. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5(3), 302-309.
- Dziki, D., Rózyło, R., Dziki, U.G., Świeca, M. (2014). Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds. *Trends Food Science and Technology*, 40, 48-61, doi: 10.1016/j.tifs.2014.07.010.
- Edreva, A., A. Vitkova, E. G. (2019). Field-Cultivated Plants From *Achillea Millefolium* Group: Total Flavonoid Content, Antiradical And Antioxidant Activities In Stems And Leaves, And Ratio Of Plant Parts. *Genetics and Plant Physiology*, 9(1-2), 3-10.
- El-Megeid, A., AbdAllah, A., Elsadek, M. F., El-Moneim, A. (2009). The protective effect of the fortified bread with green tea against chronic renal failure induced by excessive dietaryarginine in male albino rats. *World Journal of Dairy Food Sciences*, 4,107-117.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M. S. (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 11(1), 52-67.
- Fendri, L.B., Chaari, F., Maaloul, M., Kallel, F., Abdel- kafi, L., Chaaboni, S.E., Ghribi-Aydi, D. (2016). Wheat bread enrichment by pea and broad bean pod fibers: Effect on dough rheology and bread quality. *Food Science and Technology*, 73, 584-591. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.070>
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Pérez-Gálvez, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition research*, 29(11), 751-760.
- Furkan Erdoğan, H. (2022). Antioksidanca zengin meyve ve sebze tozları ile fonksiyonel ekmeK üretimi. İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilimdalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 51s.
- Gao, C., Suli K., Benyu G., Xuejun L., Huifeng D., Donghe L. (2019). Antidepressive Effects of *Taraxacum Officinale* in a Mouse Model of Depression Are Due to Inhibition of Corticosterone Levels and Modulation of Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphatase-1 (Mkp-1) and Brain-Derived Neurotrophic Factor (Bdnf) Expression. *Medical Science - Monitor*, 25, 389- 394.
- Gül, H. ve Şen, H. (2017). Effects of pomegranate seed flour on dough rheology and bread quality. *CYTA -J Food*, 15(4), 622-628, doi: 10.1080/19476337.2017.1327461.
- Gül, Volkan (2014). Rize Yöresine Ait Tıbbi ve Aromatik Bitkilere Genel Bir Bakış, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(4), 97-107.
- Hançer, A., Karabulut, İ., Gökbulut, İ. (2022). Mikronize edilmiş şeker pancarı besinsel lifinin buğday hamuru ve ekmeK özellikleri üzerine etkileri. *Food and Health*, 8(3), 193-207.
- Hayıt, F., Hülya, G. (2019). Kinoa ununun ve kısmi pişirilerek dondurma yönteminin glutensiz ekmeK kalitesi üzerine etkisi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 9(2), 406-427.

- Hayta, M., Özüğür, G., Etgü, H., Şeker, İ. T. (2014). Effect of Grape (Vitis Vinifera L.) Pomace on the Quality, Total Phenolic Content and Anti-Radical Activity of Bread. *Journal of food processing and preservation*, 38(3), 980-986.
- Hepsağ, F., ESMER, B. (2022). Soğan (Allium Cepa L.) Kabukları: Biyoaktif Bileşikleri, Geri Dönüşümle Elde Edilen Ürünleri Ve Değerlendirme Yöntemleri. *ADYUTAYAM Dergisi*, 10(2), 175-185.
- Howyzeh, S., Saeid, A., Omid, P. (2019). Essential Oil Profile of an Iranian Yarrow (Achillea millefolium). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 33(2), 395-300.
- Hu C., Kitts D.D., 2005 Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. *Phytomedicine* 12,588-597.
- İlhan, E., Büyükizgi, A., Ermiş, E. (2020). Maviyeşil alg *Spirulina platensis*' in buğday ekmeğinde kimyasal, duyuşsal ve antifungal etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (24), 22-29.
- İnce C. Çağındı, Ö. (2021). Beyaz ve Tam Buğday Unlu Ekmek Çeşitlerine Eklenen Beyaz Dut (*Morus Alba*) Yaprak ve Posasının Antioksidan ve Antidiyabetik Aktivite Üzerine Etkisi. *Gıda*, 45(5), 977-988.
- Jdir, H., Jridi, M., Mabrouk, M., Ayadi, M.A., Nasri, M., Zouari, N., Fakhfakh, N. (2017). The Rocket, *Diplotaxis simplex*, as a Functional Ingredient: LC-ESI-MS Analysis and Its Effect on Antioxidant and Physical Properties of Bread. *Journal Food and Nutrition Research*, 5, 197-204.
- Jedrejek D., Bernadetta L., Agata R., Anna S., Beata O. (2019). Comparative Phytochemical, Cytotoxicity, Antioxidant and Haemostatic Studies of *Taraxacum officinale* Root Preparations. *Food and Chemical Toxicology*, 126, 233-247.
- Karabulut, G., Yemiş, O. (2019). Fenolik bileşiklerin bağılı formları ve biyoyararlılığı. *Akademik Gıda*, 17(4), 526-537.
- Khoozani, A. A., Kebede, B., Birch, J., Bekhit, A. E.-D. A. (2020). The Effect of Bread Fortification with Whole Green Banana Flour on Its Physicochemical, Nutritional and In Vitro Digestibility. *Foods*, 9(2), 152. <https://doi.org/10.3390/foods9020152>.
- Kırbaş, Z., Kumcuoğlu, S., Tavman, S. (2019). Effects of apple, orange and carrot pomace powders on gluten-free batter rheology and cake properties. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 914-926.
- Konak, M., Ates, M., Şahan, Y., 2017. Yenilebilir yabancı bir bitki *Gundelia tournefortii*'nin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. *Journal of Agricultural Faculty of Uludağ University*, 31(2), 101-108.
- Küçükboyacı, N., Şahan, D. (2020). Asteraceae Familyası Birkileri ile Görülen Alerjik Kontakt Dermatit. *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 3(1), 1-10.
- Lim, H. S., Park, S. H., Ghafoor, K., Hwang, S. Y., Park, J. (2011). Quality and antioxidant properties of bread containing turmeric (*Curcuma longa* L.) cultivated in South Korea. *Food Chem*, 124: 1577-1582. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.08.016.
- Lucas-González, R., Viuda-Martos, M., Pérez-Alvarez, J.A., Fernández-López, J. (2018). In vitro digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. *Food Research International*, 107, 423-436.
- McDougall, G. J., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., Stewart, D. (2005a). Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an in vitro digestion system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(15), 5896-5904. doi:10.1021/jf050131p
- McDougall, G. J., Fyffe, S., Dobson, P., Stewart, D. (2005b). Anthocyanins from red wine - Their stability under simulated gastrointestinal digestion. *Phytochemistry*, 66(21), 2540-2548. doi:10.1016/j.phytochem.2005.09.003
- Meral, H., Karaoğlu M.M. (2019). Ekmegin besinsel özelliklerinin iyileştirilmesi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Dergisi*, 50(2), 217-225. <https://doi.org/10.17097/ataunizfd.496393>
- Minekus, M., Almingier, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carriere, F., Boutrou,

- R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Menard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W., Brodtkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Functional*, 5: 1113-1124.
- Mohammed, F. S., Akgul, H., Sevindik, M., Khaled, B. (2018). Phenolic content and biological activities of *Rhus coriaria* var. *zebaria*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(8), 5694-5702
- Mohammed, F. S., Akgul, H., Sevindik, M., Selamoglu Z. (2019). Antioxidant, antimicrobial activity and therapeutic profile of *Satureja hortensis* from Erzincan Province. *Cumburiyet Tıp Dergisi*, 41 (3), 558-562.
- Mudannayake, D. C., Jayasena, D. D., Wimalasiri, K. M., Ranadheera, C. S., Ajlouni, S. (2022). Inulin fructans–food applications and alternative plant sources: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(9), 5764-5780.
- Nisari, M. (2019). Civan perçemi (*Archilia millefolium*)’nin diyabetik şıçanların karaciğer dokusundaki antioksidan enzimler üzerine koruyucu etkisinin araştırılması. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 28(3), 172-176.
- Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49:4619-26.
- Ortega, N., Reguant, J., Romero, M.P., Macia, A., Motilva, M.J. (2009). Effect of fat content on the digestibility and bioaccessibility of cocoa polyphenol by an in vitro digestion model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(13), 5743-5749.
- Ödeş, Nahide (2018). Farklı Oranlarda Üzüm Çekirdeği İçeren Ekmeklerin Ekmek Verimi ve Kalitesini Glikoz Oksidaz ile İyileştirme İmkanlarının Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Isparta,102s.
- Özdemir, M., Arslanoglu Ş., Sert S. (2020). Geçmişten Günümüze Karahindiba (*Taraxacum officinale*) Bitkisi. 3. Uluslararası 19 Mayıs Yenilikçi Bilimsel Yaklaşım Kongresi: 81–89.
- Özdemir, G. , Dülger Altın, D., Şahan, Y. (2021). Bazı Tıbbi Bitkilerle Zenginleştirilmiş Ekmeklerin Duyusal Özellikleri ve Satın Alma Niyetine Etkisi. *Gıda*, 46 (4), 767-784. <https://doi.org/10.15237/gida.GD21044>
- 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.
- Pala, A. (2012). Farklı Yöntemlerle Kurutulmuş Elde Edilen Boza Tozunun Hamur Reolojik ve Ekmek Kalitesi Üzerine Etkisi. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale, Türkiye, 70s.
- Pekmez, H., Yılmaz, B. B. (2020). Quality characteristics and antioxidant properties of bread incorporated by black carrot (*Daucus carota* ssp. *Sativus* var. *Atrorubens* alef) fiber. *Gıda*, 45(2), 2902-298.
- Peng, X., Ma, J., Cheng, K.W., Jiang, Y., Chen, F., Wang, M. (2010). The effects of grape seed extract fortification on the antioxidant activity and quality attributes of bread. *Food Chemistry*, 119(1):49-53, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.05.083.
- Romankiewicz, D., Hassoon, W.H., Cacak-Pietrzak, G., Sobczyk, M., Wirkowska-Wojdyla, M., Ceglińska, A., Dziki, D. (2017). The effect of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) addition on quality and nutritional value of wheat bread. *Journal of Food Quality*, 2017(1) 1-7. <https://doi.org/10.1155/2017/7352631>.
- Sabuncu, M., Konak, M., Şahan, Y. (2019). Rumex acetosella L’nin biyoaktif antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33(2), 197-207.
- Sahan, Y., Gurbuz, O., Guldaz, M., Degirmencioglu, N., Beğenirbas, A. (2017). Phenolics, antioxidant capacity and



- bioaccessibility of chicory varieties (*Cichorium* spp.) grown in Turkey. *Food Chemistry*, 217, 483-489.
- Sahan, Y., Aydın, E., Dundar, A. I., Altiner, D. D., Celik, G., Gocmen, D. (2019). Effects of oleaster flour supplementation in total phenolic contents, antioxidant capacities and their bioaccessibilities of cookies. *Food Science and Biotechnology*, 28(5), 1401-1408.
- Sarı A., Özsoy, N., Karahüseyin, S. (2020). *Taraxacum farinosum* Hausskn. & Bornm. bitkisinin antioksidan aktivite yönünden incelenmesi. *Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi*, 3(1), 13-19.
- Sevindik, M., Akgul, H., Dogan, M., Akata, I., Selamoglu, Z. (2018). Determination of antioxidant, antimicrobial, DNA protective activity and heavy metals content of *Laetiporus sulphureus*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27 (3), 1946-1952.
- Sun, Y., Rukeya, J., Tao, W., Sun, P., Ye, X. (2017). Bioactive compounds and antioxidant activity of wolfberry infusion. *Scientific Reports*, 7(1), 1-8.
- Tartılmış Türkoğlu, M., Gerçekaslan, K. E. (2022). Buğday ununa çerezlik kabak (*Cucurbita pepo* L.) unu ilavesinin hamurun ve ekmeğin teknolojik özellikleri üzerine etkisi. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir, Türkiye, 84s.
- TGK (2016). Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Kullanılabilir Bitkiler ve Bitkisel Preparatlar Tebliği, Bölüm-2: Bitki Listeleri ve Bitkilerin, Bitki Kısımlarının ve Bitkisel Preparatların Gıdalarda Kullanımı, Ek-5, 08.02.2016. <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Duyuru/172/Turk-Gida-Kodeksi-Gidalar-Kullanilabilecek>. <https://kms.kaysis.gov.tr/Home/Goster/193936>. (Erişim Tarihi: 16.02.2023)
- Tuluk, K. (2017). Farklı Oranlarda Lupin Unu Kullanılarak Üretilen Beyaz Ekmek ve Tam Buğday Ekmeğinin Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 171 s.
- Tuluk, K., Tavman, Ş., Altinel, B., Kumcuoğlu, S., Glaue, Ş. (2018). Farklı Oranlarda Bamya Tozu İkamisinin Beyaz Ekmeğin Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi. *Tralleis Elektronik Dergisi*.
- Turan, Ş. (2014). Ulkemizde Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Tıbbi Bitkilerin Yapraklarında Ağır Metal ve Mineral Besin Element İçeriklerinin Tayini. Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 265s.
- Varlı, M., Hancı, H., Kalafat, G. (2020). Tıbbi ve aromatik bitkilerin üretim potansiyeli ve biyoyararlılığı. *Research Journal of Biomedical and Biotechnology*, 1(1), 24-32.
- Vitali, D., Vedrina Dragojević, I., Šebec'ic, B. (2009). Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 114, 1462-1469.
- Yakoub, A.R., Abdehedic, O., Jridi, M., Elfalleh, W., Nasri, M., Ferchichi, A. (2018). Flavonoids, phenols, antioxidant, and antimicrobial activities in various extracts from Tossa jute leave (*Corchorus olitorus* L.). *Industrial Crops and Products*, 118, 206-213. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.03.047
- Yang, Z., Amrit, BK, Zhao, W., Shi, L., Wu, H., Barrow, C., Dunshea, F., Suleria, H.A.R. (2022). Bioaccessibility and bioavailability changes of phenolic compounds in pumpkins (*Cucurbita moschata*): A review. *Food Bioscience* 47, 101753.
- Yıldız, B., Çakıcı, A., Uslu, Y. D., Uslu H. (2021). Ekmek üretiminde ekşi maya üzerine taze meyvelerin kullanımının etkisi. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10(1), 150-159.
- Yörüüş, B. (2022). *Arbutus unedo* L. meyve ve yapraklarının bioaktif bileşiklerinin belirlenmesi Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, Türkiye, 84s.



## THE EFFECT OF ULTRASOUND PRETREATMENT ON OIL ABSORPTION AND QUALITY OF DEEP-FRIED CHICKEN SCHNITZELS

Anahi Guadalupe Cozain Montiel, Hilal Soyocak, Sadettin Turhan\*

Department of Food Engineering, Engineering Faculty, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

Received /Geliş: 13.11.2023; Accepted /Kabul: 10.01.2024; Published online /Online baskı: 13.01.2024

Cozain Montiel, A., G., Soyocak, H., Turhan, S. (2024). The effect of ultrasound pretreatment on oil absorption and quality of deep-fried chicken schnitzels. *GIDA* (2024) 49 (1) 119-131 doi: 10.15237/ gida.GD23129

Cozain Montiel, A., G., Soyocak, H., Turhan, S. (2024). Ultrason ön işlem uygulamasının derin yağda kızartılmış tavuk şnitzellerin yağ emilimine ve kalitesine etkisi. *GIDA* (2024) 49 (1) 119-131 doi: 10.15237/ gida.GD23129

### ABSTRACT

Although deep-fried products are enjoyed by consumers of different age groups, they contain large amounts of oil, which affects product quality and cannot fail to meet the demand for a healthy diet. In this study, the effect of ultrasound pretreatment on the oil absorption and quality of deep-fried chicken schnitzels was investigated. For this purpose, chicken schnitzel samples were subjected to ultrasound pretreatment at different amplitudes (32 and 64%) and times (10, 20, and 30 min) and then deep-fried at 180 °C. Ultrasound pretreatment improved the crispness by reducing the hardness of schnitzel samples and also reduced oil absorption by 36-53%. According to the findings obtained from SEM analysis, ultrasound pretreatment caused collapses and deformations in the microstructure of the schnitzel samples, leading to the formation of many microscopic channels. Also, ultrasound pretreatment kept the original sensory properties of the schnitzel samples. These results show that ultrasound pretreatment has greatly improved the quality of chicken schnitzels.

**Keywords:** Ultrasound, schnitzel, deep-frying, oil absorption

## ULTRASON ÖN İŞLEM UYGULAMASININ DERİN YAĞDA KIZARTILMIŞ TAVUK ŞNITZELLERİN YAĞ EMİLİMİNE VE KALİTESİNE ETKİSİ

### ÖZ

Derin yağda kızartılmış ürünler, farklı yaş grubundaki tüketiciler tarafından sevilse de ürün kalitesini etkileyen ve sağlıklı bir diyet talebini karşılayamayan fazla miktarda yağ içerirler. Bu çalışmada, ultrason ön işlem uygulamasının derin yağda kızartılmış tavuk şnitzellerin yağ emilimi ve kalitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla tavuk şnitzel örnekleri farklı genlik (%32 ve 64) ve sürelerde (10, 20 ve 30 dk) ultrason ön işlemine tabi tutulmuş ve daha sonra 180 °C'de derin yağda kızartılmıştır. Ultrason ön işlemi şnitzel örneklerinin sertliğini azaltarak gevrekliği iyileştirmiş ve yağ emilimini de %36-53 oranında azaltmıştır. SEM analizinden elde edilen bulgulara göre, ultrason ön işlemi şnitzel örneklerinin mikro yapısında çökmelere ve deformasyonlara neden olarak birçok mikroskobik kanalın oluşmasına yol açmıştır. Aynı zamanda, ultrason ön işlemi şnitzel örneklerinin orijinal duyu özelliklerini de korumuştur. Bu sonuçlar, ultrason ön işleminin tavuk şnitzellerin kalitesini önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Ultrason, şnitzel, derin yağda kızartma, yağ emme

\*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉: sturhan@omu.edu.tr

☎: (+90) 362 312 19 19/1503

☎: (+90) 362 457 60 34

Anahi Guadalupe Cozain Montiel; ORCID no: 0000-0002-8227-8713

Hilal Soyocak; ORCID no: 0000-0002-9754-3962

Sadettin Turhan; ORCID no: 0000-0002-3510-4382

## INTRODUCTION

Chicken schnitzel is an important industrial chicken meat product classified within the scope of coated products and consumed by deep-frying (Anonymous, 2021). Fried foods have widespread popularity worldwide and are enjoyed by people of all ages due to their attractive flavor, desirable color, and crispy texture that cannot be developed with other cooking techniques (Choe and Min, 2007; Ananey-Obiri et al., 2020; Zhang et al., 2021a, b). Frying is a process that involves simultaneous heat and mass transfer, in which frying oil is the medium of heat transfer into the food, while moisture migrates out and oil is absorbed into the food (Oke et al., 2018; Cozain Montiel et al., 2022). As a result of oil absorption, there is a significant increase in the amount of fat and, consequently, the calorie value of fried foods. In some cases, the amount of fat reaches up to one-third of the total food product's weight (Myers and Brannan, 2012; Zeng et al., 2016; Cozain Montiel et al., 2022). Eating foods with such high levels of fat can make it hard to follow the recommendation of less than 35% of one's daily calories being contributed from fat and to meet consumers' demand to maintain a healthier diet (Myers and Brannan, 2012). There are many reports that the consumption of high-fat food has adverse effects on health and might lead to diseases such as cardiovascular, hypertension, obesity, and cancers (Varela and Fiszman, 2011; Ananey-Obiri et al., 2020; Chayawat and Rumpagaporn, 2020; Zhang et al., 2021a, b).

Recently, many researchers have been studying different methods to reduce the fat content and improve the quality of fried products. Oil absorption is a complex and surface-oriented phenomenon resulting from the competition between drainage and absorption during frying (Bouchon et al., 2001; Cozain Montiel et al., 2022). Oil enters fried food as a direct result of water loss and oil absorption during frying, and this process is particularly affected by voids and pores near the surface (Rice and Gamble, 1989; Cozain Montiel et al., 2022). Pretreatment methods play a key role in reducing oil absorption of fried foods and are classified into two groups as traditional and innovative techniques (Zhang et

al., 2021a). Traditional methods are based on common and old methods used for frying foods. These consist of different applications such as hot air drying (Dehghanny et al., 2016; Zhang and Fan, 2021), blanching (Sobukola et al., 2008; Ngobese and Workneh, 2018), coating (Ananey-Obiri et al., 2018), osmotic dehydration (Karizaki et al., 2013; Piyalungka et al., 2019) and freezing (Albertos et al., 2016). However, these traditional pretreatment methods have some disadvantages, such as high energy consumption, long process time, and low efficiency (Oladejo et al., 2018; Zhang et al., 2021a). Therefore, innovative methods are needed to reduce oil absorption.

Ultrasound, an innovative non-thermal technique, has been widely researched in recent years due to its economic benefits, environmentally friendly impact, efficiency, and ability to preserve nutritional components (Oladejo et al., 2018; Piyalungka et al., 2019; Zhang et al., 2021a; Yu et al., 2021). Ultrasound is a type of vibrational energy that operates with frequencies above 20 kHz. Two important parameters of ultrasonic processes are frequency and power, which can determine process conditions and application areas of ultrasound (Yu et al., 2021). Ultrasound technology may be an effective application in improving the quality and reducing oil absorption of fried foods.

The effect of ultrasound pretreatment or the combination of ultrasound and other technologies on oil absorption and product quality has been examined in limited studies on vegetable products such as potato (Karizaki et al., 2013; Dehghanny et al., 2016), corn tortilla chips (Janve et al., 2015), potato chips (Zhang and Fan, 2021; Zhang et al., 2021a, b) and sweet potato (Oladejo et al., 2017a, b). There is no study in the literature on the effect of this pretreatment on fat absorption and other quality characteristics in muscle foods such as schnitzel. Chicken meat differs from plant foods in terms of chemical composition and structural properties, which may affect oil absorption during deep-frying through a different mechanism. For this reason, innovative techniques need to be studied in animal foods in order to make coated chicken products, which

have widespread consumption potential, healthier and deliver them to consumers, thus providing economic benefits to producers by reducing oil absorption. The primary aims of this study planned in this context were: i) to determine the effect of ultrasound pretreatment on quality characteristics such as oil absorption, texture and color of deep-fried chicken schnitzels and ii) to reveal the potential of breaded chicken products to benefit consumers by making them healthier.

**MATERIAL AND METHOD**

**Materials**

Fresh chicken breasts (Şen Piliç, Sakarya, Turkey) used in this study were obtained from a local butcher shop (Samsun, Turkey) and kept in a refrigerator at 4 °C until the ultrasound pretreatment procedure (~30 min). The materials including wheat flour (Misun Un, Amasya, Turkey), breadcrumbs (Baharat Baharat, Samsun, Turkey), egg, and salt (Billur Tuz, İzmir, Turkey) used in preparing chicken schnitzels and sunflower oil (Karadenizbirlik, Amasya, Turkey) used as frying media were purchased from a local

supermarket (Samsun, Turkey). All reagents were of analytical grade unless otherwise stated.

**Ultrasound pretreatment process**

For the ultrasound pretreatment process, chicken breasts were sliced 6 cm x 10 cm x 1 cm (~50 g) using a knife, and 3 slices of chicken breast were placed in an 800 mL glass beaker containing 450 mL of distilled water. A titanium probe with a diameter of 1.3 cm of the ultrasonic processor (VCX 750, Sonics & Materials, Inc., USA) was immersed in a depth of approximately 2.5 cm in distilled water to create acoustic cavitation, and slices were pretreated with 20 kHz ultrasound at two different amplitudes (32 and 64%) and at three different times (10, 20, and 30 min). Slices without ultrasound pretreatment served as control. During the ultrasonic pretreatment processes, ice was placed on the outside of the glass beaker, and thus the water temperature was kept constant at 25 ± 1 °C. The experimental design of ultrasound pretreatment process is given in Table 1.

Table 1. Experimental design of ultrasound pretreatment process

Ultrasound pretreatment conditions			Abbreviations
Amplitude (%)	Time (min)		
-	-		Control
32	10		UP32-10
32	20		UP32-20
32	30		UP32-30
64	10		UP64-10
64	20		UP64-20
64	30		UP64-30

**Preparation and deep-frying of chicken schnitzels**

After the ultrasound pretreatment process, the chicken breast slices were dried with absorbent paper and rubbed thoroughly by adding 1.5% salt. The salted slices were dipped in wheat flour and then in a mixture containing egg yolk and white. Lastly, the slices were gently dipped in breadcrumbs, and all their surfaces were evenly coated with breadcrumbs. The resulting coated slices were deep-fried in sunflower oil at 180 °C for 5 min using a deep fryer (Remta R90, Istanbul, Turkey). The oil temperature was constant during

frying, and the experiment was always performed with fresh oil. After frying, schnitzel samples were removed from the deep fryer and placed on a wire mesh at room temperature for about 10 min to remove excess surface oil. All pretreatments and frying processes were performed in triplicate.

**Moisture and total fat analysis**

The moisture content of chicken schnitzel samples was determined by drying in an oven at 105 °C until constant weight (AOAC, 2000). The total fat content of samples (dry basis, g/g) was determined quantitatively using the Soxhlet

extraction method with diethyl ether as a solvent (AOAC, 2000).

### Oil absorption

The oil absorption was calculated using the oil content of the sample before and after frying as follows (Ananey-Obiri et al., 2020):

$$\text{Oil absorption (\%)} = \frac{OC_{af} - OC_{bf}}{OC_{bf}} \times 100 \quad (1)$$

Here,  $OC_{af}$  and  $OC_{bf}$  represent the oil content of the sample after and before frying (g), respectively.

### Hardness analysis

The hardness of fried chicken schnitzels with a mean of 50 mm diameter and 10 mm thickness was analyzed using a Texture Analyzer (TA-XT Plus, Stable Micro Systems, Surrey, UK) with a 50 mm aluminum cylindrical probe (model P/50R) and a 2 kg load cell. Measurements were made on chicken schnitzels cooled to room temperature ( $20 \pm 2$  °C) after deep-frying at a compression/test speed of 5 mm/s and 60% strain.

### Color analysis

The surface color of chicken schnitzels was measured at three different locations of each sample using a colorimeter (Chroma meter CR 400, Minolta, Japan) according to the CIELAB color system. The colorimeter was calibrated using white and black standard tiles, illuminate D65, and a 10° standard observer before testing. The color of the chicken schnitzels was expressed as  $L^*$  (lightness/brightness),  $a^*$  (redness/greenness), and  $b^*$  (yellowness/blueness) values. In addition, the total color change between the fried sample and raw sample was calculated as total color difference ( $\Delta E^*$ ) as follows (Zhang et al., 2021a):

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

### Scanning electron microscopy (SEM) analysis

The microscopic structure of deep-fried chicken schnitzels was visualized by JSM-7001F Jeol (Japan) scanning electron microscope (SEM). Before visualization, deep-fried chicken schnitzels were defatted by the Soxhlet extraction method mentioned in the “Moisture and total fat analysis”

section and dried using a freeze dryer (Christ Alpha 1-2 LD Plus, France). The dried samples were coated with gold-palladium (Quorum SC7620, Laughton, UK). Then these samples were visualized at 10 kV, and photographs were taken at magnifications of 500, 1000, and 1500.

### Sensory evaluation

The sensory evaluation of deep-fried chicken schnitzels was conducted by an experienced panelist group of 30 members from the staff and graduate students of the Department of Food Engineering, Ondokuz Mayıs University, Turkey. The evaluation was done in a well-lit and ventilated sensory evaluation room, and samples were presented to panelists on white plates coded with 3-digit numbers. The panelists were instructed to cleanse their palates with provided drinking water between tastings. The overall appearance, surface color, internal color, flavor, oiliness, and juiciness of the fried chicken schnitzels were evaluated using a nine-point hedonic scale (1= dislike extremely, 9= like extremely). The overall acceptability scores were also calculated from the arithmetic mean of the scores of all sensory characteristics (Turhan et al., 2014).

### Statistical analysis

The experiments were triplicated independently, and the data were expressed as means  $\pm$  standard deviations (SD). Statistical analyses of the results were performed using one-way analysis of variance and a Duncan multiple range test at a 5% significance level using the SPSS 21 statistical software (IBM, Chicago, IL, USA).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Moisture, total fat and oil absorption of deep-fried chicken schnitzels

The moisture content of deep-fried chicken schnitzels varied from 32.26 to 52.54% (Table 2), and the effect of ultrasound pretreatment on the moisture content of the chicken schnitzels was significant ( $P < 0.01$ ). The lowest moisture content was determined in the control sample without ultrasound pretreatment, and all the ultrasound-pretreated samples exhibited higher moisture values than the control ( $P < 0.05$ ). Depending on the amplitude and time parameters

## The effect of ultrasound pretreatment on quality of schnitzels

of the ultrasound pretreatment, some differences were also observed between the moisture contents of the fried schnitzel samples. For

example, the UP32-10 sample showed a lower moisture value than all other ultrasound-pretreated samples ( $P < 0.05$ ).

Table 2. Effect of ultrasound pretreatment on moisture, total fat, oil absorption and hardness of deep-fried chicken schnitzels

Samples	Moisture (%)	Total fat (%)	Oil absorption (%)	Hardness (N)
Control	32.26±0.78 <sup>e</sup>	29.79±0.24 <sup>a</sup>	22.15±2.11 <sup>a</sup>	241.78±66.20 <sup>a</sup>
UP32-10	44.06±1.03 <sup>d</sup>	25.02±0.96 <sup>c</sup>	14.11±1.03 <sup>b</sup>	162.48±46.92 <sup>b</sup>
UP32-20	46.95±1.46 <sup>c</sup>	26.77±0.07 <sup>b</sup>	11.19±1.21 <sup>bc</sup>	81.28±40.79 <sup>c</sup>
UP32-30	48.22±0.09 <sup>bc</sup>	25.65±1.03 <sup>bc</sup>	14.21±1.54 <sup>b</sup>	12.23±3.53 <sup>d</sup>
UP64-10	52.54±1.22 <sup>a</sup>	23.07±0.07 <sup>d</sup>	13.06±0.55 <sup>bc</sup>	23.75±17.88 <sup>d</sup>
UP64-20	47.87±0.92 <sup>bc</sup>	26.15±0.86 <sup>bc</sup>	10.38±0.14 <sup>c</sup>	14.35±9.92 <sup>d</sup>
UP64-30	49.36±0.38 <sup>b</sup>	22.71±0.38 <sup>d</sup>	12.50±1.20 <sup>bc</sup>	15.89±3.61 <sup>d</sup>
Significance	**	**	**	**

Values are presented as means ± SD from triplicate experiments. The different superscript letters in column indicate significant differences among samples at  $P < 0.05$  as assessed by Duncan's multiple range test.  $**P < 0.01$ . Control, sample without ultrasound pretreatment; UP32-10, ultrasound pretreated sample at 32% amplitude for 10 min; UP32-20, ultrasound pretreated sample at 32% amplitude for 20 min; UP32-30, ultrasound pretreated sample at 32% amplitude for 30 min; UP64-10, ultrasound pretreated sample at 64% amplitude for 10 min; UP64-20, ultrasound pretreated sample at 64% amplitude for 20 min; UP64-30, ultrasound pretreated sample at 64% amplitude for 30 min.

One of the most critical problems in the consumption of coated products is the amount of absorbed oil during frying, and it is essential to keep the oil absorption at a minimum level during the frying of such products (Gökçe et al., 2016). As with the moisture content, the effect of ultrasound pretreatment on the total fat content of chicken schnitzels was also significant ( $P < 0.01$ ), and the highest value was found in the control sample, with 29.79% ( $P < 0.05$ ) (Table 2). Depending on the amplitude and time parameters of the ultrasound pretreatment, some differences were also observed between the total fat contents of the fried schnitzel samples. For example, while the UP64-30 and UP64-10 samples showed lower total fat contents than the other ultrasound-pretreated samples ( $P < 0.05$ ), the differences between the total fat contents of the UP32-10, UP32-30, and UP64-20 samples were not significant ( $P > 0.05$ ). The amount of oil absorbed by the chicken schnitzel samples during frying was generally parallel with the amount of total fat, and all the ultrasound pretreated samples absorbed less oil than the control sample ( $P < 0.05$ ) (Table 2). However, all ultrasound pretreated schnitzel samples generally absorbed oil in similar amounts during frying. Accordingly, ultrasound pretreatment significantly reduced the

oil absorption during frying, and this decrease was calculated as the lowest in the UP32-10 and UP32-30 samples, with 36%, and the highest in the UP64-20 sample, with 53%.

Oil absorption in fried breaded and battered foods can be explained by three mechanisms, including water replacement, a cooling-phase effect, and the surfactant theory of frying. All three mechanisms describe the strong dependence of oil absorption on the microstructure and surface properties of fried foods (Zeng et al., 2016; Cui et al., 2022). According to the water replacement mechanism, the moisture in the food goes out through the pores during frying, and then large pores formed by moisture evaporation are filled with oil; thus, the product's amount of oil increases (Cui et al., 2022). The fact that ultrasound pretreatment reduces the total oil content and oil absorption of chicken schnitzel samples could be explained by the changes in microstructure during ultrasound pretreatment and the water replacement mechanism of oil uptake during frying (Dehghannya et al., 2016; Zhang et al., 2021a, b). Because during deep-frying, heat is transferred by convection from the oil to the surface of the food and then into the core by conduction. The

moisture from the food escapes through weak crevices and forcefully dug pores created by water pressure. Although some oil may replace some removed water, the overpressure development during frying prevents substantial oil absorption (Oke et al., 2018). Accordingly, some pores, voids, and cracks formed in the schnitzel samples after the ultrasound pretreatment may have caused a decrease in the total amount of oil by creating vapor pressure with the evaporation of water during frying, preventing the oil from being absorbed into the product (Ghaderi et al., 2018; Zhang et al., 2021a).

Different researchers have studied the reduction of oil absorption of foods by ultrasound pretreatment or the combination of ultrasound and other technology and have generally reported similar results. For example, Karizaki et al. (2013) stated that ultrasound-assisted osmotic dehydration as a pretreatment before frying reduced the oil content of fried potatoes by 12.5 % (dry basis) compared to untreated samples. In another study, it was examined the simultaneous effect of ultrasound and pre-drying on the oil uptake of fried potato strips and reported that pretreatment with both ultrasound and drying significantly decreased the oil uptake of samples compared to the control (Dehghannya et al., 2016). In the study performed by Oladejo et al. (2017a), the possibility of ultrasound-assisted pretreatments of sweet potato to lower the moisture content and oil uptake during deep fat frying and its effects on the mass transfer rate was investigated. The lowest moisture content was found in fried samples pretreated in ultrasound-assisted osmotic dehydration and osmotic dehydration without ultrasound, while the lowest oil uptake was obtained in fried samples pretreated in ultrasound, having 65.11 and 71.47% oil reduction at temperatures of 150 and 170 °C, respectively, compared to the untreated sample. Finally, Zhang et al. (2021a) studied the effect of ultrasound pretreatment on the quality and oil absorption of fried potato chips and reported that ultrasound pretreatment (360 W, 60 min) decreased penetrated surface oil content of potato chips, causing a 27.66% decrease in total oil content.

### **Hardness of deep-fried chicken schnitzels**

Crispness, a textural property, is a substantial and important index of fried products, and it is closely related to rapid fracture under stress at small strains. It refers to the quality of brittle materials that rapidly fracture under stress at small strains. The maximum force achieved before the fracture is also defined as hardness (Zhang and Fan, 2021). Many studies showed that hardness was negatively related to crispiness (Zhang et al., 2021a; Zhang and Fan, 2021). The highest hardness value was determined in the control schnitzels with 241.78 N, and ultrasound pretreatment reduced the hardness values of the schnitzel samples ( $P < 0.05$ ) (Table 2). The fact that ultrasound pretreatment reduces the hardness value of the samples can be explained by the cavitation and "sponge effect" of ultrasound. This effect creates additional microchannels in the product and reduces the breaking force by producing higher vapor pressure during frying (Zhang et al., 2021a). Accordingly, ultrasound pretreatment contributed to increasing the evaporation rate of water by creating pores, cracks, and microchannels in schnitzel samples. As a result, chicken schnitzels subjected to ultrasound pretreatment exhibited lower hardness values, and ultrasound pretreatment improved the crispness of fried samples.

Depending on the amplitude and time parameters of the ultrasound pretreatment, some differences were also observed between the hardness values of the fried schnitzel samples. For example, while the UP32-10 sample showed higher hardness values than the other ultrasound-pretreated samples ( $P < 0.05$ ), the differences between the hardness values of the UP32-30, UP64-10, UP64-20, and UP64-30 samples were not significant ( $P > 0.05$ ). As in the present study, it was also reported by some researchers that ultrasound and some other pretreatments combined with ultrasound affected the hardness value of deep-fried foods. As in our findings, most of these studies indicated that ultrasound pretreatment reduced the product's hardness. For example, Zhang et al. (2021a) reported that potatoes subjected to ultrasound pretreatment showed a lower hardness value compared to the control sample ( $P < 0.05$ ) and that pretreatment at 600 W

was more effective than 360 W ( $P < 0.05$ ). In another study, it was reported that the hardness value of potato chips with the same water content was lower in those subjected to air drying combined with ultrasound before frying than in those subjected to air drying alone. This decrease was calculated as 21.48% in potato chips containing 80% water and 16.54% in potato chips containing 50% water (Zhang and Fan, 2021). Findings obtained by Karizaki et al. (2013) also supported the results of the current study. Researchers reported that the pretreatment of potato slices before frying affected the hardness values, and both osmotic dehydration and ultrasound-assisted osmotic dehydration pretreatment caused softening in texture. Accordingly, the results of the present study indicate that ultrasound pretreatment before frying can reduce the hardness and improve the crispness of fried foods.

#### Color parameters of deep-fried chicken schnitzels

Color is one of the most important appearance characteristics affecting consumer acceptance of

fried foods (Zhang et al., 2021a). Generally, the end of the frying process is determined by using color. The final color of fried products is influenced by the Maillard reaction that occurs between reducing sugars and protein sources, and the amount of absorbed oil (Karizaki et al., 2013). The  $L^*$  values of the control sample without ultrasound pretreatment and the samples subjected to ultrasound pretreatment at different amplitudes and times ranged from 50.74 to 53.91,  $a^*$  values from 15.25 to 17.33, and  $b^*$  values from 27.86 to 32.16 (Table 3). Uyarcan et al. (2022) reported similar color values in chicken breast meats coated with different cereal sources (buckwheat, chickpea, and rice flours) and deep-fried, while Ananey-Obiri et al. (2020) reported different color values in chicken drumstick coated with different concentrations of chicken protein and deep-fried. These different results could be attributed to various factors such as product type, composition of the coating material, cooking temperature, cooking time, and properties of the frying oil.

Table 3. Effect of ultrasound pretreatment on color of deep-fried chicken schnitzels

Samples	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E^*$
Control	52.97±4.90	17.33±1.38 <sup>a</sup>	31.56±5.69 <sup>a</sup>	-
UP32-10	53.91±6.54	15.71±2.38 <sup>bc</sup>	32.16±7.21 <sup>a</sup>	11.12±7.16
UP32-20	53.48±5.54	15.93±1.85 <sup>bc</sup>	31.95±6.11 <sup>a</sup>	9.85±5.67
UP32-30	52.90±4.86	16.06±2.57 <sup>bc</sup>	30.30±5.89 <sup>ab</sup>	9.35±5.66
UP64-10	52.80±5.51	16.48±1.93 <sup>ab</sup>	29.79±6.26 <sup>ab</sup>	9.56±5.60
UP64-20	53.17±5.98	15.25±2.16 <sup>c</sup>	30.95±6.85 <sup>a</sup>	12.25±7.50
UP64-30	50.74±5.10	16.30±1.96 <sup>b</sup>	27.86±5.84 <sup>b</sup>	10.08±6.01
Significance	ns	**	*	ns

Values are presented as means ± SD from triplicate experiments. The different superscript letters in column indicate significant differences among samples at  $P < 0.05$  as assessed by Duncan's multiple range test. ns: not significant ( $P > 0.05$ ); \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ . Control, sample without ultrasound pretreatment; UP32-10, ultrasound pretreated sample at 32% amplitude for 10 min; UP32-20, ultrasound pretreated sample at 32% amplitude for 20 min; UP32-30, ultrasound pretreated sample at 32% amplitude for 30 min; UP64-10, ultrasound pretreated sample at 64% amplitude for 10 min; UP64-20, ultrasound pretreated sample at 64% amplitude for 20 min; UP64-30, ultrasound pretreated sample at 64% amplitude for 30 min.

While the effect of ultrasound pretreatment on the  $L^*$  and  $\Delta E^*$  values of schnitzel samples was not significant ( $P > 0.05$ ), its effect on  $a^*$  and  $b^*$  values was significant at 1% and 5% levels, respectively (Table 3). The highest  $a^*$  value of 17.33 was determined in the control schnitzels,

and all samples with ultrasound pretreatment, except for the UP64-10 sample, showed lower  $a^*$  values than the control sample ( $P < 0.05$ ). The lowest  $a^*$  value was determined in the UP64-20 sample, but the differences between  $a^*$  value of this sample and  $a^*$  values of the UP32-10, UP32-



20, and UP32-30 samples were not significant ( $P > 0.05$ ). The golden-yellow color is desired in deep-fried foods and is considered an important quality parameter (Oladejo et al., 2018). Except for the UP64-30 sample, all other ultrasound-pretreated samples exhibited a yellowness ( $b^*$ ) value similar to the control sample ( $P > 0.05$ ). The results of color reveal that ultrasound pretreatment has a partial effect on the color of chicken schnitzels.

There are limited studies on the effect of ultrasound and some other pretreatments combined with ultrasound on the color values of deep-fried foods. In one of these studies, Zhang et al. (2021a) reported that  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , and  $\Delta E^*$  values of ultrasound pretreated and deep-fried potato chips were between 66.75 and 67.49, 1.43 and 1.68, 26.90 and 28.33, and 22.10 and 25.12, respectively, but these differences were not significant ( $P > 0.05$ ). In another study, it was shown that air drying pretreatment combined with ultrasound increased the  $L^*$  and  $a^*$  values of

deep-fried potato chips but had no significant effect on  $b^*$  values (Zhang and Fan, 2021). Finally, Oladejo et al. (2017b) reported that ultrasound pretreatment increased the brightness ( $L^*$ ) and decreased redness ( $a^*$ ) of sweet potatoes, while ultrasound-assisted osmotic dehydration pretreatment enhanced the yellowness ( $b^*$ ) in sweet potatoes.

### Microstructure of deep-fried chicken schnitzels

Observation of microstructural changes during the processing of foods greatly assists in understanding the mechanisms involved and their modeling. In recent years, extensive research has been conducted on the use of SEM images to understand better the changes that occur in the structural properties of foods during processing (Karizaki et al., 2013). The microstructural changes of ultrasound-pretreated at different amplitudes and times and deep-fried chicken schnitzels were visualized with SEM, and the images are presented in Figure 1.

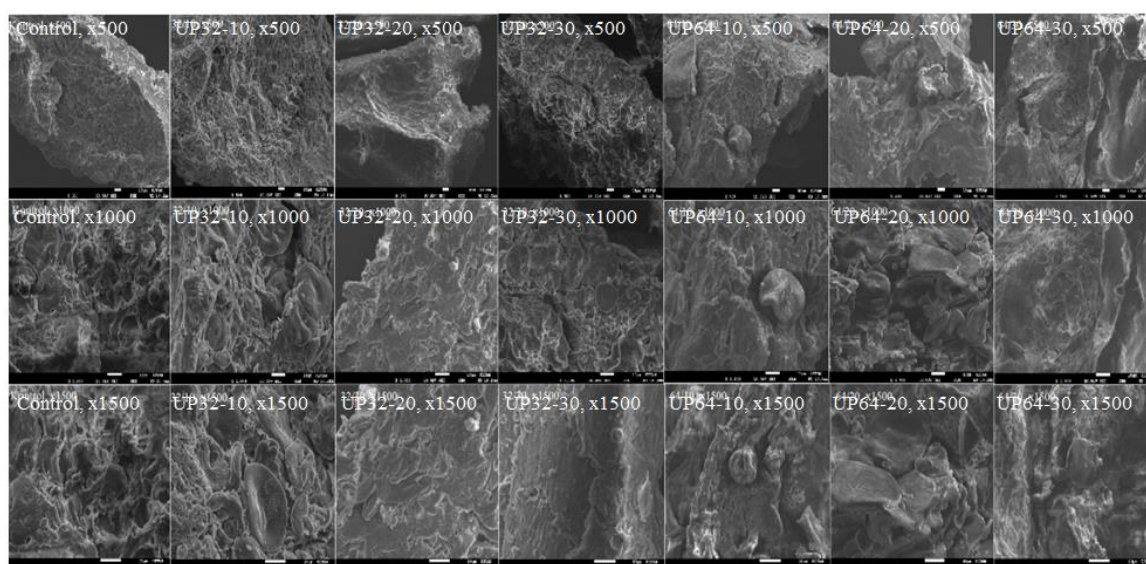


Figure 1. SEM images of ultrasound-pretreated and deep-fried chicken schnitzels. Control, sample without ultrasound pretreatment; UP32-10, ultrasound pretreated sample at 32% amplitude for 10 min; UP32-20, ultrasound pretreated sample at 32% amplitude for 20 min; UP32-30, ultrasound pretreated sample at 32% amplitude for 30 min; UP64-10, ultrasound pretreated sample at 64% amplitude for 10 min; UP64-20, ultrasound pretreated sample at 64% amplitude for 20 min; UP64-30, ultrasound pretreated sample at 64% amplitude for 30 min.

The SEM images showed that there was no noticeable change in the microstructure of the control samples, while ultrasound pretreatment caused collapses and deformations in the microstructure of the schnitzel samples, leading to the formation of many microscopic channels, including pores and cracks. These noticeable changes in the microstructure of ultrasound-pretreated schnitzels can be explained by the cavitation effect of ultrasound waves (Zhang et al., 2021a). These physical collapses and deformations at the cellular level, in response to acoustic cavitation, are the main reasons for the low oil absorption (Oladejo et al., 2017a). As mentioned above, pores and cracks formed in the schnitzel samples after the ultrasound pretreatment may have caused a decrease in the total amount of oil by creating vapor pressure with the evaporation of water during frying, preventing the oil from being absorbed into the product (Ghaderi et al., 2018; Zhang et al., 2021a).

Collapse and deformations in the microstructure of potatoes pretreated-ultrasound were also reported by some researchers. For example, Zhang et al. (2021a) reported that progressive collapses of cell structure were observed in pretreated ultrasound samples and that this disruption of the cell walls and deformation of the cell tissues were more in the samples with the pretreatment at 600 W for 60 min. Similar results were reported by Miano et al. (2019), and they demonstrated ultrasound caused surface erosion and the formation of micro-channels in potato tissue (especially after 60 min of pretreatment). In another study, the characterization of microstructural changes of ultrasound-combined convective air-drying pretreated potato chips at the frying temperature of 180 °C was observed with SEM, and it was reported that ultrasound-combined convective air-drying pretreatment resulted in more pores and microscopic channels (Zhang and Fan, 2021). The effect of ultrasound on microstructure has also been studied in animal foods. Inguglia et al. (2021) showed the formation of micro-channels on the meat surface when processed using ultrasound compared to untreated meat.

### **Sensory evaluation of deep-fried chicken schnitzels**

Sensory evaluation (overall appearance, surface color, internal color, flavor, oiliness, juiciness, and overall acceptability) results of ultrasound-pretreated at different amplitudes and times and deep-fried chicken schnitzels are presented in Figure 2. While the effect of ultrasound pretreatment on the flavor, oiliness, and overall acceptability scores of schnitzel samples was significant ( $P < 0.05$ ), its effect on overall appearance, surface color, internal color, and juiciness scores was not significant ( $P > 0.05$ ). The lowest flavor score was given by the panelists to the control sample with 6.07, and all other pretreated schnitzel samples were evaluated with a higher score than the control sample ( $P < 0.05$ ). Ultrasound pretreatment caused schnitzel samples to be generally more liked in terms of oiliness and overall acceptability. This liking was higher in the UP32-20, UP32-30, UP64-20, and UP64-30 samples in terms of oiliness and only in the UP32-20 sample in terms of overall acceptability than the control sample ( $P < 0.05$ ). The fact that ultrasound-pretreated schnitzel samples are generally more liked in terms of flavor, oiliness, and overall acceptability could be explained by the better hardness attribute and lower fat content of these samples. These results indicate that ultrasound pretreatment can keep the original sensory properties of chicken schnitzel samples and even improve their flavor, oiliness, and overall acceptability.

Similar results were also reported by Zhang et al. (2021a), and they demonstrated that ultrasound pretreatment did not cause a significant change in the color scores of potato chips ( $P < 0.05$ ), but it increased the overall acceptability scores, and the highest acceptability scores were determined in those pretreated at 360 W for 60 min. Similarly, Janve et al. (2015) reported no negative effect of processing methods (power ultrasound-assisted nixtamalization and traditional nixtamalization) on the final acceptability and quality of tortilla chips. In contrast, Bao et al. (2022) stated that ultrasound-assisted processing improved the tenderness and quality of the dry-cured yak meat but negatively affected the color and smell scores,

and overall, 300 W ultrasonic power was more suitable.

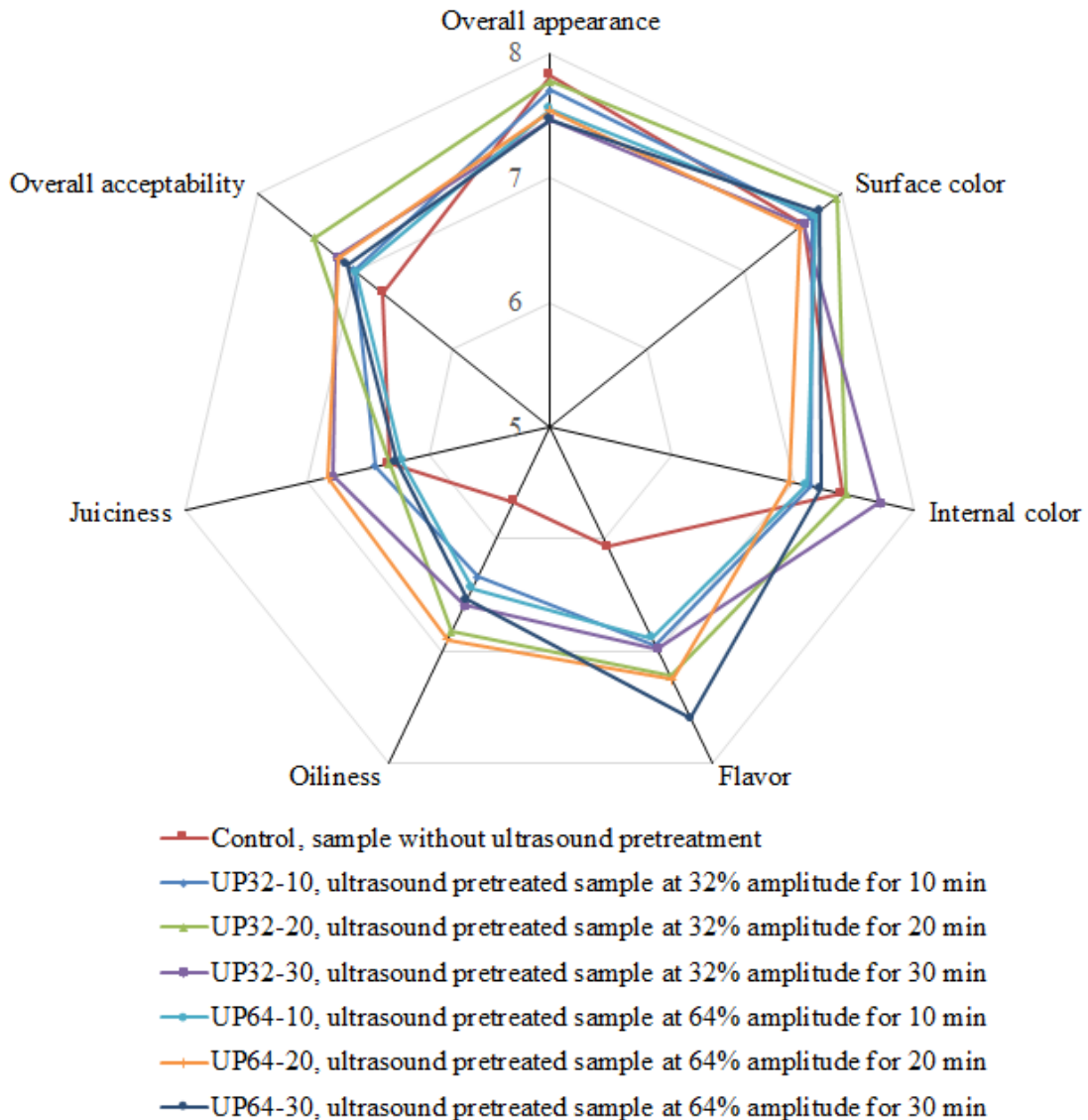


Figure 2. Sensory scores of ultrasound-pretreated and deep-fried chicken schnitzels

### CONCLUSION

Results obtained in the present study showed that ultrasound pretreatment at 32 and 64% amplitudes for 10, 20, and 30 min hindered the oil absorption during frying. Compared to the control sample, the fat content of samples pretreated with ultrasound decreased by 36-53%. Hardness and color results indicated that ultrasound pretreatment improved the crispness and had a partial effect on the color of the

samples. Ultrasound pretreatment kept the original sensory properties of samples and even enhanced their flavor, oiliness, and overall acceptability. Moreover, ultrasound pretreatment at 32% amplitude for 10 or 20 min of all the pretreatments produced the lowest oil absorption into fried chicken schnitzels. In conclusion, ultrasound pretreatment could be considered in future research as a promising approach to reduce

oil absorption and improve the other quality properties of fried products.

#### CONFLICT OF INTEREST

There are no possible conflicts of interest between the authors.

#### AUTHOR CONTRIBUTION

This study was derived from Anahi Guadalupe Cozain Montiel's master's thesis. Sadettin Turhan contributed as the thesis supervisor in conducting analyses, statistical analyses of data, writing the article, and writing-review-proofreading-publishing procedures. The thesis student, Anahi Guadalupe Cozain Montiel, carried out the preparation of samples, analyses, reporting, and writing and correction of literature sources. Hilal Soyocak also assisted in conducting analyses and writing-review-proofreading-publishing procedures. The authors have read and approved the final version of the article.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by Ondokuz Mayıs University with the project number PYO.MUH.1904.21.027. The authors would like to thank Ondokuz Mayıs University for its financial support.

#### REFERENCES

Albertos, I., Martin-Diana, A. B., Sanz, M. A., Barat, J. M., Diez, A. M., Jaime, I., Rico, D. (2016). Effect of high pressure processing or freezing technologies as pretreatment in vacuum fried carrot snacks. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 33: 115-122, doi: 10.1016/j.ifset.2015.11.004.

Ananey-Obiri, D., Matthews, L., Tahergorabi, R. (2020). Chicken processing by-product: A source of protein for fat uptake reduction in deep-fried chicken. *Food Hydrocolloids* 101: 105500, doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105500.

Anonymous (2021). *Erzincan ili dondurulmuş tavuk ürünleri üretim tesisi ön fizibilite raporu*. T.C Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı, Kuzey Doğu Anadolu Kalkınma Ajansı, Erzincan, Türkiye, 41 s.

AOAC (2000). *Official methods of analysis* (16th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.

Bao, G., Niu, J., Li, S., Zihang, L., Luo, Y. (2022). Effects of ultrasound pretreatment on the quality, nutrients and volatile compounds of dry-cured yak meat. *Ultrasonics Sonochemistry* 82: 105864, doi: 10.1016/j.ultsonch.2021.105864.

Bouchon, P., Hollins, P., Pearson, M., Pyle, D. L., Tobin, M. J. (2001). Oil distribution in fried potatoes monitored by infrared microspectroscopy. *Journal of Food Science* 66(7): 918-923, doi: 10.1111/j.1365-2621.2001.tb08212.x.

Chayawat, J., Rumpagaporn, P. (2020). Reducing chicken nugget oil content with fortified defatted rice bran in batter. *Food Science and Biotechnology* 29(10): 1355-1363, doi: 10.1007/s10068-020-00782-y.

Choe, E., Min, D. B. (2007). Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science* 72: R77-86, doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00352.x.

Cozain Montiel, A. G., Tombuloğlu, H., Turhan, S. (2022). A nonthermal emerging technology for reducing the oil absorption in deep-fried foods: Ultrasound. 4th International Conference on Advanced Engineering Technologies, 28-30 September 2022, Bayburt, Türkiye, 1001 p.

Cui, L., Chen, J., Zhai, J., Peng, L., Hayes, D. G. (2022). Oil penetration of batter-breaded fish nuggets during deep-fat frying: effect of frying oils. *Foods* 11: 3369, doi: 10.3390/foods11213369.

Dehghannya, J., Naghavi, E. A., Ghanbarzadeh, B. (2016). Frying of potato strips pretreated by ultrasound-assisted air-drying. *Journal of Food Processing and Preservation* 40(4): 583-592, doi: 10.1111/jfpp.12636.

Ghaderi, A., Dehghannya, J., Ghanbarzadeh, B. (2018). Momentum, heat and mass transfer enhancement during deep-fat frying process of potato strips: Influence of convective oil temperature. *International Journal of Thermal Sciences* 134: 485-499, doi: 10.1016/j.ijthermalsci.2018.08.035.

- Gökçe, R., Akgün, A. A., Ergezer, H., Akcan, T. (2016). Farklı kaplama bileşenleriyle kaplamanın derin yağda kızartılan piliç nuggetların bazı kalite karakteristikleri üzerine etkileri. *Journal of Agricultural Sciences* 22(3): 331-338, doi: 10.1501/Tarimbil\_0000001391.
- Inguglia, E. S., Granato, D., Kerry, J. P., Tiwari, B. K., Burgess, C. M. (2021). Ultrasound for meat processing: Effects of salt reduction and storage on meat quality parameters. *Applied Sciences* 11: 117, doi: 10.3390/app11010117.
- Janve, B., Yang, W., Sims, C. (2015). Sensory and quality evaluation of traditional compared with power ultrasound processed corn (*Zea mays*) tortilla chips. *Journal of Food Science* 80(6): S1368-S1376, doi: 10.1111/1750-3841.12892.
- Karizaki, V. M., Sahin, S., Sumnu, G., Mosavian, M. T. H., Luca, A. (2013). Effect of ultrasound-assisted osmotic dehydration as a pretreatment on deep fat frying of potatoes. *Food and Bioprocess Technology* 6(12): 3554-3563, doi: 10.1007/s11947-012-1012-5.
- Miano, A. C., Rojas, M. L., Augusto, P. E. D. (2019). Structural changes caused by ultrasound pretreatment: Direct and indirect demonstration in potato cylinders. *Ultrasonics Sonochemistry* 52: 176-183, doi: 10.1016/j.ultsonch.2018.11.015.
- Myers, A. S., Brannan, R. G. (2012). Efficacy of fresh and dried egg white on inhibition of oil absorption during deep fat frying. *Journal of Food Quality* 35(4): 239-246, doi: 10.1111/j.1745-4557.2012.00454.x.
- Ngobese, N. Z., Workneh, T. S. (2018). Potato (*Solanum tuberosum* L.) nutritional changes associated with French fry processing: Comparison of low-temperature long time and high-temperature short-time blanching and frying treatments. *LWT-Food Science and Technology* 97: 448-455, doi: 10.1016/j.lwt.2018.07.039.
- Oke, E. K., Idowu, M. A., Sobukola, O. P., Adeyeye, S. A. O., Akinsola, A. O. (2018). Frying of food: A critical review. *Journal of Culinary Science & Technology* 16(2): 107-127, doi: 10.1080/15428052.2017.1333936.
- Oladejo, A. O., Ma, H., Qu, W., Zhou, C., Wu, B., Yang, X., Onwudeb, D. I. (2017a). Effects of ultrasound pretreatments on the kinetics of moisture loss and oil uptake during deep fat frying of sweet potato (*Ipomea batatas*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 43: 7-17, doi: 10.1016/j.ifset.2017.07.019.
- Oladejo, A. O., Ma, H., Qu, W., Zhou, C., Wu, B., Yang, X. (2017b). Influence of ultrasound pretreatments on diffusion coefficients, texture and colour of osmodehydrated sweet potato (*Ipomea batatas*). *International Journal of Food Science and Technology* 52: 888-896, doi: 10.1111/ijfs.13352.
- Oladejo, A. O., Ma, H., Qu, W., Zhou, C., Wu, B., Uzojeinwa, B. B., Yang, X. (2018). Application of pretreatment methods on agricultural products prior to frying: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98(2): 456-466, doi: 10.1002/jsfa.8502.
- Piyalungka, P., Sadiq, M. B., Assavarachan, R., Nguyen, L. T. (2019). Effects of osmotic pretreatment and frying conditions on quality and storage stability of vacuum-fried pumpkin chips. *International Journal of Food Science and Technology* 54: 2963-2972, doi: 10.1111/ijfs.14209.
- Rice, P., Gamble, M. H. (1989). Modeling moisture loss during potato slice frying. *International Journal of Food Science Technology* 24: 183-187, doi: 10.1111/j.1365-2621.1989.tb00632.x.
- Sobukola, O. P., Awonorin, S. O., Sanni, L. O., Bamiro, F. O. (2008). Optimization of blanching conditions prior to deep fat frying of yam slices. *International Journal of Food Properties* 11: 379-391, doi: 10.1080/10942910701409294.
- Turhan, S., Yazici, F., Saricaoglu, F. T., Mortas, M., Genccelep, H. (2014). Evaluation of the nutritional and storage quality of meatballs formulated with bee pollen. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 34(4): 423-433, doi: 10.5851/kosfa.2014.34.4.423.
- Uyarcın, M., Yayla, E., Akgül, D., İşseven, D. (2022). Development of healthier gluten-free chicken products coated with different cereal

- sources. *British Food Journal* 124(4): 1301-1313, doi: 10.1108/BFJ-03-2021-0284.
- Varela, P., Fiszman, S. M. (2011). Hydrocolloids in fried foods. A review. *Food Hydrocolloids* 25: 1801-1812, doi: 10.1016/j.foodhyd.2011.01.016.
- Yu, Z., Su, Y., Zhang, Y., Zhu, P., Mei, Z., Zhou, X., Yu, H. (2021). Potential use of ultrasound to promote fermentation, maturation, and properties of fermented foods: A review. *Food Chemistry* 357: 129805, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129805.
- Zeng, H., Chen, J., Zhai, J., Wang, H., Xia, W., Xiong, Y. L. (2016). Reduction of the fat content of battered and breaded fish balls during deep-fat frying using fermented bamboo shoot dietary fiber. *LWT-Food Science and Technology* 73: 425-431, doi: 10.1016/j.lwt.2016.06.052.
- Zhang, J., Fan, L. (2021). Effects of preliminary treatment by ultrasonic and convective air drying on the properties and oil absorption of potato chips. *Ultrasonics Sonochemistry* 74: 105548, doi: 10.1016/j.ultsonch.2021.105548.
- Zhang, J., Xie, T., Fan, L. (2021a). Improving the quality and reducing oil absorption of fried potato chips by ultrasound pretreatment. *LWT-Food Science and Technology* 148: 111763, doi: 10.1016/j.lwt.2021.111763.
- Zhang, J., Yu, P., Fan, L., Sun, Y. (2021b). Effects of ultrasound treatment on the starch properties and oil absorption of potato chips. *Ultrasonics Sonochemistry* 70: 105347, doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105347.

**AN IMPROVED DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY STUDY FOR  
THERMAL PROPERTIES OF PEKMEZ SAMPLES ADULTERATED WITH  
SUGAR SYRUP**

**Nesimi Aktaş\***

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

Received / Geliş: 11.10.2023; Accepted / Kabul: 25.12.2023; Published online / Online baskı: 18.01.2024

Aktaş, N. (2024). *An improved differential scanning calorimetry study for thermal properties of pekmez samples adulterated with sugar syrup*. GIDA (2024) 49 (1) 132-141 doi: 10.15237/gida.GD23123

Aktaş, N. (2024). Şeker şurubuyla tağış edilen pekmez örneklerinin termal özellikleri için geliştirilmiş bir differential scanning calorimetry çalışma. GIDA (2024) 49 (1) 132-141 doi: 10.15237/gida.GD23123

**ABSTRACT**

This research was carried out to determine the pH, titratable acidity, ash, specific gravity, color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), water activity, electrical conductivity, glass transition temperature ( $T_g$ ) and melting characteristics of grape and mulberry pekmez samples adulterated with different levels (10%, 30%, 50%) of high fructose corn syrup (HFCS). Ash, titratable acidity and electrical conductivity values have decreased significantly ( $P<0.05$ ) with the level of adulteration and determined that these properties can be used as a criterion in the determination of adulteration. Two glass transition temperatures occurring between  $-25.64^\circ\text{C}$  to  $-32.58^\circ\text{C}$  ( $T_{g1}$ ) and  $23.29^\circ\text{C}$  to  $31.22^\circ\text{C}$  ( $T_{g2}$ ) were detected in all pekmez samples. The single glass transition temperature was determined in the pekmez samples diluted with water, and both the glass transition temperatures and the onset, peak, end temperatures and enthalpy values of the melting peaks increased significantly with the increase in the amount of adulteration ( $P<0.05$ ).

**Keywords:** Pekmez, differential scanning calorimetry, glass transition temperature, adulteration, sugar syrup

**ŞEKER ŞURUBUYLA TAĞIŞ EDİLEN PEKMEZ ÖRNEKLERİNİN TERMAL  
ÖZELLİKLERİ İÇİN GELİŞTİRİLMİŞ BİR DIFFERENTIAL SCANNING  
CALORIMETRY ÇALIŞMA**

**ÖZ**

Bu araştırma, farklı seviyelerde (%10, %30, %50) yüksek fruktozlu mısır şurubu (HFCS) ile tağış edilmiş üzüm ve dut pekmezlerinin pH, titre edilebilir asitlik, kül, özgül ağırlık, renk ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), su aktivitesi, elektriksel iletkenlik, camsı değışim sıcaklığı ( $T_g$ ) ve erime özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Tağış seviyesi arttıkça kül, titre edilebilir asitlik ve elektriksel iletkenlik değerlerinin önemli derecede ( $P<0.05$ ) azaldığı ve bu özelliklerin tağışın belirlenmesinde kriter olarak kullanılabilceğı belirlenmiştir. Pekmez örneklerinin tamamında  $-25.64^\circ\text{C}$  ile  $-32.58^\circ\text{C}$  ( $T_{g1}$ ) ve  $23.29^\circ\text{C}$  ile  $31.22^\circ\text{C}$  ( $T_{g2}$ ) arasında oluşan iki camsı geğış sıcaklığı tespit edilmiştir. Su ile seyreltilen pekmez örneklerinde tek camsı geğış sıcaklığı belirlenmiş olup, tağış miktarının artmasıyla hem camsı değışim sıcaklıkları hem de erime piklerinin başlangıç, pik, bitiş sıcaklıkları ve entalpi değerleri önemli derecede artış göstermiştir ( $P<0.05$ ).

**Anahtar kelimeler:** Pekmez, differential scanning calorimetry, camsı değışim sıcaklığı, tağış, şeker şurubu

\* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: naktas@nevsehir.edu.tr

☎: (+90) 384 228 1000

☎: (+90) 384 228 1123

Nesimi Aktaş; ORCID no: 0000-0002-4741-9867

### INTRODUCTION

In general, pekmez is the name given to sweet syrups concentrated with long shelf life, obtained by crushing and boiling of fruits with possessing high sugar content without adding sugar or other additives (Erbil, 2020). It is commonly produced from grapes, mulberry and carob, and is named after the fruit from which it is obtained. Production processes of pekmez vary according to origin of fruits used in production (Karababa and Isikli, 2005). The use of any additives, mixing of different fruits, dilution and/or reproduction with commercial glucose, sucrose and high fructose corn syrups are prohibited in pekmez standards (Anonymous, 2017). However, today, the high competition in the food sector causes the production of adulterated products in pekmez, as in other food groups, and a growing problem in the global market (Yılmaz, 2012). One of the adulterations made in pekmez is to add cheap sugar syrups in order to reduce the cost. For this purpose, the amount is increased by adding glucose, sucrose and high fructose corn syrups at different ratios during or after production. Even worse, sugar syrup is produced by imitating the sugar profile, color, structure and taste of pekmez with additives such as sugar syrups, coloring, flavoring, but it is sold under the name of pekmez (Tosun, 2014).

Various techniques have been used to determine adulteration in pekmez samples until today. Different characteristics are taken into account in the techniques used. For example, corn and sugarcane are C4 plants, and their photosynthesis pathways differ from those of C3 plants such as wheat, rice, sugar beet, grape, apple, and mulberry. For this reason,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ( $\delta^{13}\text{C}$ ) value is measured with Isotope Ratio Mass Spectrometry (IR-MS) and it can be determined whether sugar cane and corn-based syrup is added to pekmez (Tosun, 2014, Erbil, 2020). Since sugar beet uses the same photosynthesis pathway as fruits, adulteration made by adding syrup from sugar beet or different fruit/fruit pekmez samples cannot be determined. Determination of the  $2\text{H}/1\text{H}$  ratio in Site-Specific Natural Isotope Fractionation-Nuclear Magnetic Resonance (SNIF-NMR) is used for this purpose (Yılmaz

and Afsar, 2012). In addition, if the sugar obtained from beet is inverted and the fructose/glucose ratio is not adjusted to the legal limit, this type of adulteration can be detected by analyzing the sugar components in HPLC (El Darra et al., 2017). Attenuated total reflectance (ATR)-Fourier Transformed Infrared (FTIR) Spectroscopy along with chemometric methods is used for determination of pekmez samples adulteration with glucose syrup (Yaman, 2019).

Although there are various national and international laws for supervising the quality and safety of food products, pekmez adulteration is still widespread. Therefore, effective supervision is very important for ensuring the suitable development of the food industry and accurate, effective, reliable and rapid detection techniques are needed. There has been no research on the DSC characteristics such as glass transition temperature of pekmez samples. The glass transition temperature, a characteristic property of amorphous materials, is a second-order time-temperature dependent transition (Roos, 2010). The electrical, mechanical, physical and thermal properties of a material exhibit discontinuity at this temperature. It can be defined as the temperature at which a material changes from a glassy state to a rubbery state (Roos, 2010). It is a highly importance in determining of the storage temperatures and processability of amorphous materials. If any material is stored at a temperature lower than the glass transition temperature, it can be stored for a long time without any deterioration, because the viscosity is very high ( $10^{12}$  Pa.s) at the glass transition temperature and the molecular mobility is restricted (Le Meste et al., 2002). The aim of this research was to determine various physicochemical properties such as pH, color, specific gravity, electrical conductivity, glass transition temperature and melting thermograms of grape and mulberry pekmez samples, and to determine whether there is any change in the properties indicated by adulteration with high fructose corn syrup.



## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Grape pekmez samples were obtained from Atatürk Orman Çiftliği Fruit Juice and Honey Factory (Ankara, Turkey). Mulberry pekmez samples were obtained from a local producer (Baldağı, Ankara, Turkey). HFCS was obtained from Sunar Mısır Company (Adana, Turkey).

The dextrose and fructose content of the HFCS specified by the company were 21-25 and 29-35, respectively. The pH, ash, specific gravity, water activity and electrical conductivity of HFCS were  $4.22 \pm 0.01$ ,  $0.03 \pm 0.01\%$ ,  $1.38 \pm 0.02$ ,  $0.740 \pm 0.02$  and  $0.16 \pm 0.02$  mS/cm, respectively.

### Preparation of adulterated pekmez samples using HFCS

Adulterated pekmez samples were prepared using HFCS. For this purpose, HFCS was heated to 70°C in a water bath and mixed with grape and mulberry pekmez samples at 10%, 30% and 50% by weight of pekmez, and the mixtures were kept at room temperature overnight. Considering the grape-mulberry pekmez codex and the brix analysis of the pekmez samples obtained from the market, the brix values of pekmez samples adulterated with HFCS at 10%, 30% and 50% was adjusted to 72. All analyzes were carried out on pekmez samples with a brix value of 72.

### Methods

#### *Physicochemical analyses of pekmez samples*

pH, titratable acidity, soluble dry matter and ash were determined according to the standard method AOAC (2000). pH values were determined by using pH metre (PL- 700PV, Taipei, Taiwan). Before the measurements, the calibration of the pH meter was made using buffer solutions of 4 and 7.

Titratable acidities of the samples were determined by titration with 0.1 NaOH to pH 8.1 using a pH meter (PL- 700PV, Taipei, Taiwan), and expressed as percentage of citric acid.

Solubles dry matter was determined with an Abbe Refractometer (JK-ARM, Shanghai Jingke Scientific Instrument Co., Ltd., Shanghai, China).

The ash contents were determined by incinerating the sample in a muffle furnace at 600°C for 18 hours.

Specific gravities were determined at 20°C by using 25 mL pycnometer.

Water activity ( $a_w$ ) values of samples were determined using an  $a_w$  instrument (Novasina AG, LabMaster  $a_w$ , Switzerland). The instrument was calibrated with six different salt solutions at 25°C before using.

$L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  values of the pekmez samples were determined by using a colorimeter (Konica Minolta Chroma Meter CR-400, Osaka, Japan). For color analysis, the instrument was calibrated with a white calibration plate before measurements. The color values were expressed in terms of the  $L^*$  value (lightness),  $a^*$  value (redness), and  $b^*$  value (yellowness) according to the system of the International Commission of Illumination (CIE). Using the average of the experimental data obtained, the color difference ( $\Delta E$ ) was calculated according to equation 1.

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (L^* - b_0^*)^2} \quad (1)$$

Electrical conductivities of pekmez samples were determined by HQ40d Multi conductivity measuring device (HACH, Colorado, USA). For the measurement, 20% (w/w) solution of each pekmez sample was prepared with ultrapure water. Conductivity measurements in prepared solutions were made at 20°C and the results were expressed as mS/cm.

#### *Determination of $T_g$*

$T_g$  values were determined using DSC (DSC 6000, Perkin Elmer, USA) equipped with a intracooler cooling accessory. The DSC was calibrated using indium and mercury standards, with onset temperatures of 156.6°C and -38.87°C, respectively. Pekmez samples were weighed 10 mg into DSC hermetic pans (product number 03190029, Perkin Elmer, USA), that is then hermetically sealed, and put into the DSC at room temperature. An empty pan was used as reference. Samples were then cooled from 20°C to -80°C at

5°C/min, held for 30 min, and then scanned from -80°C to 60°C at 5°C/min. All experiments were carried out in nitrogen atmosphere at a flow of 30 mL/min. Each shift on DSC curve was analyzed for the onset ( $T_{go}$ ), mid ( $T_{gm}$ ), and end of glass transition ( $T_{ge}$ ).  $T_g$  is reported as the midpoint of the step.

#### *DSC thermograms of diluted samples*

Since the melting endotherm could not be determined in either undiluted non-adulterated or undiluted adulterated pekmez samples, it was aimed to reveal the differences that may occur as a result of dilution of pekmez samples in these measurements. For this purpose, pekmez samples of 10 mg were weighed into hermetic pans and diluted by one third with distilled water using a micro syringe and pans sealed. Sealed pans were left at room temperature for 24 h to allow for equilibration of moisture. An empty pan was used as reference. Samples were then cooled from 20°C to -80°C at 5°C/min, held for 30 min, and then scanned from -80°C to 60°C at 5°C/min. All experiments were carried out in nitrogen atmosphere at a flow of 30 mL/min. The glass transition temperature ( $T_g$ ) from the step on the DSC curve, the onset ( $T_o$ ), peak ( $T_p$ ), end temperatures ( $T_e$ ) and enthalpy values ( $\Delta H$ ) from the melting peaks were determined.

#### **Statistical analysis**

In this study, adulterated grape and mulberry pekmez samples with the addition of HFCS at three different concentrations (10%, 30% and 50%) and non-adulterated grape and mulberry samples were used. In addition, DSC analyzes were carried out by diluting both non-adulterated and adulterated pekmez samples by one third. The experiment was set up according to a completely randomized design and all analyses were performed at least three times to obtain the average data with acceptable standard deviations. Results are expressed as mean of three replications  $\pm$  standard deviation. The statistical analysis was performed with SPSS (version 22 for Windows, SPSS Inc.). One-way analysis of variance (ANOVA) was conducted, followed by Duncan's multiple range test to compare treatment means. Differences were considered to

be significant at  $P < 0.05$ . Correlations were obtained using Pearson's correlation coefficient.

## **RESULTS AND DISCUSSIONS**

### **Physicochemical properties of pekmez samples**

The pH values of pekmez samples are shown in Table 1. The pH value of pekmez samples may vary depending on the type of fruit, the time of harvest, the climate, the characteristics of the soil in which it is grown, and the process conditions. According to legal regulation by the Republic of Türkiye, the pH range should be 5.0–6.0 in grape and mulberry pekmez (Anonymus, 2011, 2017). Considering the specified limits, it could be stated that all pekmez samples complied with the standards. The pH values obtained in the study were similar to the findings obtained in the studies conducted by several researchers (Şimşek and Artık, 2002; Kaya et al., 2012; Karataş and Şengül, 2018). Compared with the non-adulterated pekmez samples, pH values of mulberry pekmez samples containing HFCS were significantly decreased with the increase in syrup concentration (Table 1). This situation may be due to the low pH value of HFCS used in the adulteration of pekmez samples.

Electrical conductivity values of pekmez samples are given in Table 1. As can be seen in Table 1, the electrical conductivity values of both grape and mulberry pekmez samples were decreased significantly with the addition of HFCS. This decrease in electrical conductivity could be considered as a criterion in determining adulteration in pekmez samples. Electrical conductivity of foods is closely related to physicochemical properties such as pH, brix value, protein, phenolic substance, organic acid and mineral content (Lee et al., 2013). Since the electrical conductivity value of high fructose corn syrup is 0.16 mS/cm, it causes a decrease in the conductivity of pekmez samples to which it is added (Tosun and Keleş, 2012). Pearson correlation analysis showed that there was a positive correlation between the electrical conductivity value and the ash content of both grape and mulberry pekmez samples (for grape pekmez samples 0.987,  $P < 0.01$ ; for mulberry pekmez samples 0.986,  $P < 0.01$ ).

Table 1. Physicochemical properties of pekmez samples non-adulterated and adulterated with high fructose corn syrup.

Sample	pH	Ash (%)	Titratable acidity (g/100g)	a <sub>w</sub>	Specific gravity
GP	5.53±0.03ab	1.74±0.01d	0.22±0.01d	0.700±0.01a	1.367±0.01a
GP + 10% HFCS	5.50±0.01a	1.60±0.01c	0.19±0.01c	0.708±0.01b	1.366±0.01a
GP + 30% HFCS	5.54±0.01b	1.18±0.12b	0.15±0.01b	0.712±0.01b	1.366±0.01a
GP + 50% HFCS	5.55±0.01b	0.83±0.05a	0.12±0.01a	0.721±0.01c	1.366±0.01a
MP	5.77±0.09d	2.58±0.05d	0.46±0.01d	0.699±0.01a	1.376±0.01b
MP + 10% HFCS	5.73±0.01bc	1.94±0.02c	0.35±0.01c	0.700±0.01a	1.379±0.01c
MP + 30% HFCS	5.66±0.02ab	1.73±0.10b	0.33±0.01b	0.714±0.01b	1.370±0.01a
MP + 50% HFCS	5.61±0.04a	1.10±0.14a	0.28±0.01a	0.738±0.01c	1.375±0.01b
Sample	Electrical conductivity (mS/cm)	L*	a*	b*	
GP	3.42±0.01d	19.29±0.01a	-0.29±0.02a	1.89±0.01a	
GP + 10% HFCS	3.10±0.01c	19.33±0.01b	-0.28±0.03a	1.88±0.01a	
GP + 30% HFCS	2.46±0.01b	19.35±0.01c	-0.30±0.01ab	1.94±0.01b	
GP + 50% HFCS	1.81±0.01a	19.36±0.01c	-0.34±0.03b	1.93±0.01b	
MP	4.06±0.01d	19.45±0.01a	-0.32±0.03a	2.13±0.01a	
MP + 10% HFCS	3.43±0.01c	19.50±0.01b	-0.30±0.03a	2.18±0.01b	
MP + 30% HFCS	3.16±0.01b	19.52±0.01c	-0.32±0.02a	2.20±0.01b	
MP + 50% HFCS	2.33±0.01a	19.60±0.01d	-0.29±0.02a	2.26±0.02c	

<sup>a-d</sup> Means ± standard deviation in the same column, values in a column with the different letters are significantly different ( $P<0.05$ ). GP, Grape pekmez, MP, Mulberry pekmez, HFCS, High fructose Corn Syrup.

The ash contents determined in pekmez samples that are non-adulterated comply with the standards. The ash contents of grape and mulberry pekmez samples should be at most 2.5% and 4%, respectively (Anonymous, 2011, 2017). Similar to the electrical conductivity, the ash content of pekmez samples also decreased significantly with increasing HFCS concentration (Table 1,  $P<0.05$ ). These decreases in ash values could be perceived as signs of adulteration made with different sugar syrups. A similar result was found in the samples prepared by adding 10%, 30% and 50% sucrose syrup, glucose syrup and high fructose corn syrup to three different mulberry pekmez to determine adulteration (Tosun and Keleş, 2012).

The titratable acidity values of the non-adulterated and adulterated pekmez samples are given in Table 1. The highest titratable acidity was found in non-adulterated MBP. In the standards, it is emphasized that the titratable acidity of mulberry pekmez should be between 0.12 and 0.9, and there is no value for grape pekmez (Anonymous, 2011, 2017). From the values determined in mulberry pekmez samples in this

study, it is possible to state that non-adulterated mulberry pekmez samples comply with the standards. The titratable acidity value in each sample group decreased significantly with the increase in the amount of HFCS ( $P<0.05$ ). A similar situation was determined as a result of the research conducted by Tosun and Keleş (2012).

While the water activity values in grape and mulberry pekmez samples increased with the increase in the amount of HFCS. There was a negative correlation between the water activity-electrical conductivity and water activity-ash content of both grape and mulberry pekmez samples (for grape pekmez samples -0.953,  $P<0.01$ , -0.927,  $P<0.01$ ; for mulberry pekmez samples -0.943,  $P<0.01$ , -0.901,  $P<0.01$ ). Yaman (2019) determined that the water activity values of grape, mulberry and carob pekmez adulterated with glucose syrup were not statistically different from the water activity values of non-adulterated pekmez. Water activity is an important parameter for the Maillard reaction, which is one of the browning reactions in pekmez samples. Fellows (2000) reported that the Maillard reaction

occurred at the highest level at a water activity value of 0.6.

Considering the specific gravity values of the samples, it was determined that adulteration made with HFCS did not make a significant difference in grape pekmez samples but caused an increase in mulberry pekmez samples (Table 1). Tosun and Keleş (2012) determined that the specific gravity value of mulberry pekmez samples adulterated with corn syrup with high fructose content decreased.

Color values of pekmez samples are shown in Table 1. With the increase in HFCS,  $L^*$  values were increased in grape and mulberry pekmez samples.  $L^*$  value, which expresses the brightness in the pekmez color, decreases in parallel with the increase in the amount of water-soluble dry matter during the concentration process. The time and temperature of the concentration process have a significant influence on the  $L^*$  value. There was a negative correlation between the  $L^*$  values and the ash content of both grape and mulberry pekmez samples (for grape pekmez samples  $-0.820$ ,  $P < 0.01$ ; for mulberry pekmez samples  $-0.974$ ,  $P < 0.01$ ). A positive  $a^*$  value indicates redness, and a negative  $a^*$  value indicates greenish. With the increase in the amount of HFCS, the greenish value of grape pekmez samples were increased significantly, but no statistically significant difference was found in mulberry pekmez samples (Table 1,  $P > 0.05$ ). The positive  $b^*$  value, which is an indicator of yellow color, showed a partial increase with the addition of HFCS to grape and mulberry pekmez samples. The color values measured in non-adulterated pekmez are similar to the results determined by Özesmer (2021). Depending on the increasing levels of HFCS, the color difference in grape pekmez samples was determined 0.042, 0.079 and 0.095, while in mulberry pekmez samples was found 0.073, 0.099 and 0.201. The results obtained showed that HFCS creates more color difference in mulberry pekmez samples.

### **$T_g$ of pekmez samples**

Figure 1 shows typical DSC thermograms of non-adulterated and adulterated pekmez samples. Two

glass transition temperatures occurring between  $-25.64^\circ\text{C}$  to  $-32.58^\circ\text{C}$  and  $23.29^\circ\text{C}$  to  $31.22^\circ\text{C}$  were detected in all pekmez samples (Table 2). This shows that all of the pekmez samples are amorphous character. The first transition corresponds to the glass transition of the branched chains or mobile components, and the second transition refers to the backbone of a large polymer or less mobile components. Similar observations were also reported by Ahmed et al., (2005), Guizani et al., (2010) and Sadeghi et al., (2016) for different date varieties. Al-Farsi et al., (2018) detected multiple glass transition temperatures in crystallized date-syrups with moderate water content. Researchers explained this situation with the natural heterogeneity caused by molecular incompatibility and phase separation in the complex matrix. Considering the obtained midpoints values of the transitions (Table 2), while the glass transition temperatures of adulterated grape pekmez samples were higher than that of non-adulterated grape pekmez samples, it was decreased in mulberry pekmez samples. Luyet and Rasmussen (1968) and Rasmussen and Luyet (1969) reported that  $T_g$  values of carbohydrate solutions vary depending on concentration and cooling rate. Also, Roos and Karel (1991a) stated that  $T_g$  values of sucrose solutions initially decreased with increasing sucrose concentration but increased again at high sucrose concentrations.

### **DSC thermograms of diluted pekmez samples**

Figure 2 shows typical DSC thermograms of non-adulterated and adulterated pekmez samples in diluted samples. In general, grape pekmez samples containing HFCS had significantly higher  $T_g$  values than samples without HFCS (Table 3,  $P < 0.05$ ). A shoulder was determined at the beginning of the melting peaks of all pekmez samples (Figure 2). The onset, mid, and end temperatures of these shoulders were differed significantly from each other and increased with increasing amount of HFCS (Table 3,  $P < 0.05$ ). Obtained values show that non-adulterated pekmez samples have lower  $T_o$ ,  $T_p$  and  $T_e$  values than adulterated pekmez samples. This could be due to the minerals and different nature of water

binding with varied solutes. Similar characteristic properties were determined in crystallized date syrup by Al-Farsi et al., (2018). In general, the enthalpy values of ice melting were increased with the increasing of HFCS content (Table 3). This may be due to the compatibility of the polymer

with sugars or sugar mixtures. A similar situation was determined by Singh and Roos (2005, 2010) and Roos and Karel (1991b) in mixed sugar-polymer systems, and researchers attributed this to the compatibility of the polymer with sugars or sugar mixtures.

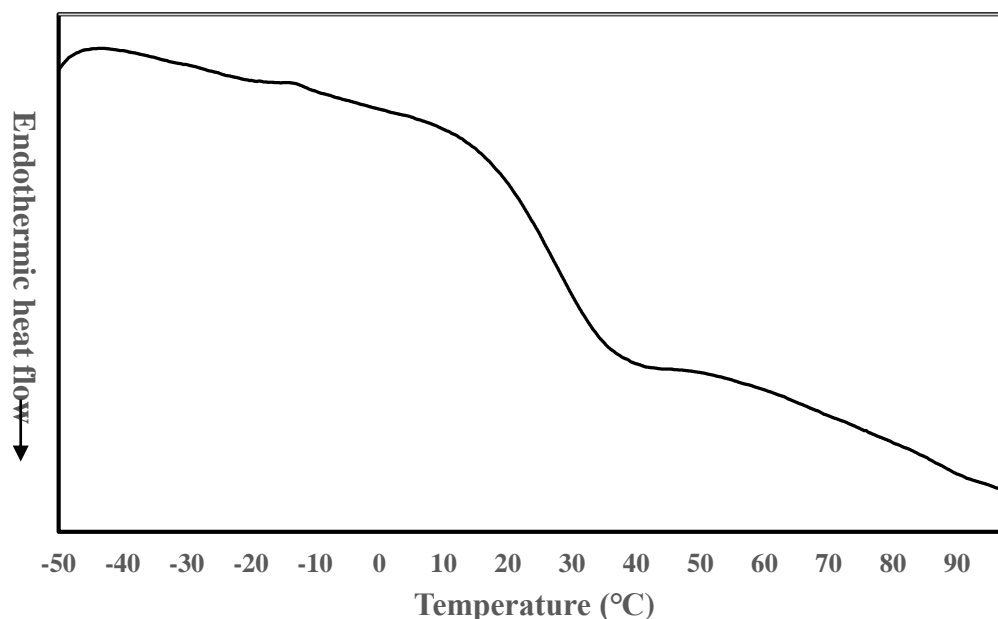


Figure 1. Representative DSC thermograms of non-diluted pekmez samples

Table 2. Glass transition temperatures of non-diluted pekmez samples.

Sample	$T_{g1o}(^{\circ}\text{C})$	$T_{g1m}(^{\circ}\text{C})$	$T_{g1c}(^{\circ}\text{C})$
GP	$-43.60 \pm 0.21a$	$-32.58 \pm 0.69c$	$-17.56 \pm 0.16a$
GP + 10% HFCS	$-43.82 \pm 0.53a$	$-28.35 \pm 0.42a$	$-17.45 \pm 0.37a$
GP + 30% HFCS	$-43.71 \pm 0.96a$	$-30.50 \pm 0.32b$	$-17.72 \pm 0.75a$
GP + 50% HFCS	$-44.35 \pm 0.53a$	$-31.99 \pm 0.74c$	$-17.09 \pm 0.84a$
MP	$-35.33 \pm 0.59a$	$-25.64 \pm 0.84a$	$-17.35 \pm 0.01a$
MP + 10% HFCS	$-41.53 \pm 0.59b$	$-27.20 \pm 1.41b$	$-17.91 \pm 1.04a$
MP + 30% HFCS	$-41.10 \pm 1.51b$	$-27.48 \pm 0.52b$	$-16.99 \pm 0.15a$
MP + 50% HFCS	$-44.08 \pm 0.05c$	$-25.82 \pm 0.96a$	$-17.38 \pm 0.34a$
Sample	$T_{g2o}(^{\circ}\text{C})$	$T_{g2m}(^{\circ}\text{C})$	$T_{g2c}(^{\circ}\text{C})$
GP	$-16.44 \pm 0.96a$	$26.60 \pm 1.60a$	$44.24 \pm 0.10a$
GP + 10% HFCS	$-16.01 \pm 0.31aa$	$28.94 \pm 0.01b$	$44.02 \pm 0.59a$
GP + 30% HFCS	$-16.38 \pm 0.58a$	$30.11 \pm 0.32bc$	$44.87 \pm 0.17a$
GP + 50% HFCS	$-15.80 \pm 0.74a$	$31.22 \pm 0.16c$	$48.54 \pm 0.22b$
MP	$-17.35 \pm 0.01b$	$32.71 \pm 0.40c$	$49.85 \pm 0.65c$
MP + 10% HFCS	$-16.43 \pm 0.37a$	$24.51 \pm 1.58ab$	$45.29 \pm 0.37b$
MP + 30% HFCS	$-16.99 \pm 0.15b$	$23.29 \pm 0.43a$	$42.41 \pm 1.11a$
MP + 50% HFCS	$-17.38 \pm 0.34b$	$25.93 \pm 1.06b$	$45.99 \pm 1.17b$

<sup>a-d</sup> Means  $\pm$  standard deviation in the same column, values in a column with the different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ). GP, Grape pekmez, MP, Mulberry pekmez, HFCS, High fructose Corn Syrup.

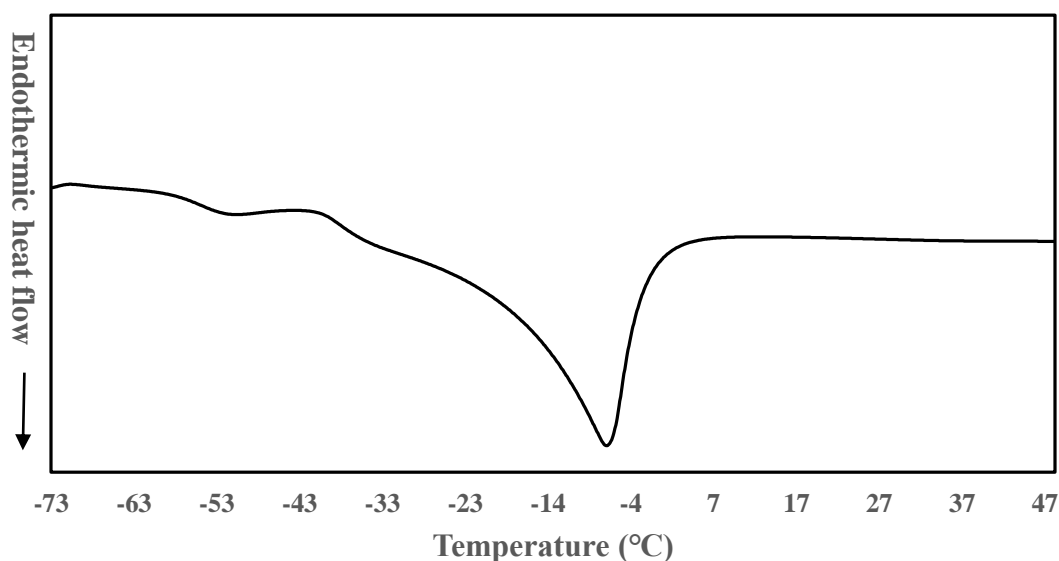


Figure 2. Representative DSC thermograms of pekmez samples diluted with water

Table 3. DSC results of pekmez samples diluted with water.

Sample	Glass Transition			Shoulder of melting endotherm		
	$T_{go}(^{\circ}\text{C})$	$T_{gm}(^{\circ}\text{C})$	$T_{gc}(^{\circ}\text{C})$	$T_{so}(^{\circ}\text{C})$	$T_{sm}(^{\circ}\text{C})$	$T_{sc}(^{\circ}\text{C})$
GP	$-64.07 \pm 0.41a$	$-55.20 \pm 0.01c$	$-50.67 \pm 0.09c$	$-43.94 \pm 0.08c$	$-38.35 \pm 0.16c$	$-31.38 \pm 0.10d$
GP + 10% HFCS	$-63.03 \pm 0.99a$	$-54.63 \pm 0.14b$	$-50.04 \pm 0.24b$	$-43.54 \pm 0.12b$	$-38.06 \pm 0.23c$	$-31.07 \pm 0.01c$
GP + 30% HFCS	$-64.06 \pm 0.17a$	$-54.50 \pm 0.29ab$	$-50.01 \pm 0.25b$	$-43.28 \pm 0.20b$	$-37.12 \pm 0.30b$	$-30.16 \pm 0.22b$
GP + 50% HFCS	$-63.85 \pm 0.55ba$	$-54.19 \pm 0.07a$	$-49.07 \pm 0.04a$	$-42.36 \pm 0.13a$	$-35.91 \pm 0.01a$	$-29.00 \pm 0.18a$
MP	$-62.98 \pm 0.52b$	$-53.60 \pm 0.16a$	$-48.90 \pm 0.11b$	$-42.64 \pm 0.01c$	$-37.55 \pm 0.14c$	$-30.57 \pm 0.27c$
MP + 10% HFCS	$-62.92 \pm 0.07b$	$-53.65 \pm 0.03a$	$-48.93 \pm 0.13b$	$-42.46 \pm 0.01bc$	$-36.53 \pm 0.01b$	$-29.53 \pm 0.01a$
MP + 30% HFCS	$-62.62 \pm 0.05b$	$-53.40 \pm 0.08a$	$-48.69 \pm 0.04b$	$-42.18 \pm 0.03a$	$-36.49 \pm 0.04b$	$-29.84 \pm 0.09b$
MP + 50% HFCS	$-61.87 \pm 0.40ba$	$-53.45 \pm 0.20a$	$-48.31 \pm 0.19a$	$-42.30 \pm 0.23ab$	$-35.92 \pm 0.17a$	$-29.47 \pm 0.15a$
Melting Endotherm						
Sample	$T_o(^{\circ}\text{C})$	$T_p(^{\circ}\text{C})$	$T_c(^{\circ}\text{C})$	$\Delta H$ (J/g)		
GP	$-19.73 \pm 0.13c$	$-6.52 \pm 0.19c$	$-1.61 \pm 0.06a$	$90.77 \pm 0.05a$		
GP + 10% HFCS	$-19.26 \pm 0.01c$	$-6.03 \pm 0.12bc$	$-1.24 \pm 0.14a$	$89.76 \pm 0.27a$		
GP + 30% HFCS	$-18.50 \pm 0.70b$	$-5.82 \pm 0.53b$	$-1.33 \pm 0.40a$	$95.29 \pm 3.13b$		
GP + 50% HFCS	$-17.67 \pm 0.01a$	$-4.82 \pm 0.02a$	$0.25 \pm 0.02b$	$96.94 \pm 1.27b$		
MP	$-19.53 \pm 0.13c$	$-6.47 \pm 0.01c$	$-1.63 \pm 0.21a$	$86.64 \pm 2.15a$		
MP + 10% HFCS	$-18.04 \pm 0.18b$	$-5.35 \pm 0.10b$	$-0.82 \pm 0.09b$	$96.04 \pm 2.52bc$		
MP + 30% HFCS	$-18.02 \pm 0.11b$	$-5.33 \pm 0.11b$	$-0.65 \pm 0.20b$	$95.01 \pm 0.54b$		
MP + 50% HFCS	$-17.30 \pm 0.01a$	$-4.40 \pm 0.07a$	$0.85 \pm 0.28c$	$101.05 \pm 3.78c$		

<sup>a-d</sup> Means  $\pm$  standard deviation in the same column, values in a column with the different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ). GP, Grape pekmez, MP, Mulberry pekmez, HFCS, High fructose Corn Syrup.

## CONCLUSIONS

As a result of the analysis carried out using HFCS at different levels, it was determined that there were significant decreases in ash and electrical conductivity values. Thus, these two criteria have potential to be taken into account in the determination of adulteration in pekmez samples. The addition of HFCS provided significant

changes in the thermal properties of the particularly diluted pekmez samples compared to the non-adulterated pekmez samples. The  $T_o$ ,  $T_p$  and  $T_c$  values of the melting peaks were increased significantly depending on the amount of HFCS, and  $T_c$  values changed from negative to positive values in samples containing 50% HFCS. This parameter could also be taken into account in

determining whether pekmez samples are adulterated or not. Based on these differences, it is possible to state that DSC can be used to determine adulteration in pekmez samples.

### Funding

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

### CONFLICTS OF INTEREST

The author declare that there is no conflict of interest.

### REFERENCES

- Ahmed, J., Ramaswamy, H.S., Khan, A.R. (2005). Effect of water activity on glass transitions of date pastes. *Journal of Food Engineering*, 66: 253–258. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.03.015>
- Al-Farsi, K.A., Al-Habsi, N.A., Rahman, M.S. (2018). State diagram of crystallized date-syrup: Freezing curve, glass transition, crystals-melting and maximal-freeze-concentration condition. *Thermochimica Acta*, 666: 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2018.06.003>
- Anonymous (2011). TS 12001 Dut Pekmezi Standardı, TSE, Ankara.
- Anonymous (2017). Türk Gıda Kodeksi Üzüm Pekmezi Tebliği (No:2017/8). Tarım ve Orman Bakanlığı. 30 Haziran 2017 tarih ve 30110 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- AOAC (2000). Official Methods of Analysis AOAC INTERNATIONAL, 17th Edition, Washington DC, USA.
- El Darra, N., Rajha, H.N., Saleh, F., Al-Oweni, R., Maroun, R.G., Louka, N. (2017). Food fraud detection in commercial pomegranate molasses syrups by UV-VIS spectroscopy, ATR-FTIR spectroscopy and HPLC methods. *Food Control*, 78: 132-137. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.043>
- Erbil, D. (2020). Endüstriyel ve geleneksel yöntemlerle üretilmiş farklı pekmez çeşitlerinin bazı fizikokimyasal ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen

Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 115 s.

Fellows, P.J. (2000). *Food processing technology principles and practice*. 2nd Edition, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, England, 575 p.

Guizani, N., Al-Saidi, G.S., Rahman, M.S., Bornaz, S., Al-Alawi, A.A. (2010). State diagram of dates: Glass transition, freezing curve and maximal-freeze-concentration condition. *Journal of Food Engineering*, 99: 92–97. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.02.003>

Karababa, E., Isikli, N.D. (2005). Pekmez: A traditional concentrated fruit product. *Food Review International*, 21: 357-366. <https://doi.org/10.1080/87559120500222714>

Karataş, N., Şengül, M. (2018). Effect of storage on some chemical and physical properties, antioxidant activity of mulberry pekmez. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 5: 34-43. <https://dergipark.org.tr/en/pub/turkjans/issue/34475/381429>

Kaya, C., Akaydın, M.D., Esin, Y. (2012). Chemical properties of some commercial liquid and solid grape pekmez products. *Academic Food Journal*, 10: 32-39. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/1189202>

Le Meste, M., Champion, D., Roudaut, G., Blond, G., Simatos, D. (2002). Glass transition and food technology: A critical appraisal. *Journal of Food Science*, 67: 2444-2458. <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08758.x>

Lee, J.H., Choi, K.H., Kim, S.H., Park, K.S., Park, S.H., Kim, J.S., Jang, K.H. (2013). Physicochemical characteristics and electric conductivity of various fruit wines. *International Food Research Journal*, 20: 2987-2993. [http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20\(06\)%202013/2%20IFRJ%20\(06\)%202013%20Jang%20331.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20(06)%202013/2%20IFRJ%20(06)%202013%20Jang%20331.pdf)

Luyet, B., Rasmussen, D. (1968). Study by differential thermal analysis of the temperatures of instability of rapidly cooled solutions of glycerol, ethylene glycol, sucrose and glucose.

- Biodynamica*, 10: 167-191. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5725455/>
- Özesmer, B. (2021). Geleneksel ve endüstriyel yöntemlerle üretilen bazı üzüm pekmezlerinin fizikokimyasal ve duyuşsal özelliklerinin karşılaştırılması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, Türkiye, 65 s
- Rasmussen, D., Luyet B. (1969). Complementary study of some non-equilibrium phase transitions in frozen solutions of glycerol, ethylene glycol, sucrose and glucose. *Biodynamica*, 10: 319-331.
- Roos, Y.H. (2010). Glass transition temperature and its relevance in food processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1: 469-496. <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.food.102308.124139>
- Roos, Y.R., Karel, M. (1991a). Amorphous state and delayed ice formation in sucrose solutions. *International Journal of Food Science and Technology*, 26: 553-566. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb02001.x>
- Roos, Y.R., Karel, M. (1991b). Water and molecular weight effects on glass transitions in amorphous carbohydrates and carbohydrate solutions. *Journal of Food Science*, 56: 1676-1681. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb08669.x>
- Sadeghi, M., Mehryar, E., Razavi, J., Mireei, S.A. (2016). Moisture sorption isotherm and glass transition temperature of date powder in terms of various model systems. *Journal of Food Process Engineering*, 39: 61-68. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jfpe.12199>
- Singh, K.J, Roos, Y.H. (2005). Frozen state transitions of sucrose-protein-cornstarch mixtures. *Journal of Food Science*, 70: 198-204. <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07136.x>
- Singh, K.J., Roos, Y.H. (2010). Physical state study of (sugar mixture)-polymer model systems. *International Journal of Food Properties*, 13: 184-197. <https://doi.org/10.1080/10942910802259184>
- Şimşek, A., Artık, N. (2002). Studies of compositions of concentrates from different fruit. *Gıda*, 27: 459-467. <https://dergipark.org.tr/pub/gida/issue/6961/92812>
- Tosun, M. (2014). Detection of adulteration in mulberry pekmez samples added various sugar syrups with <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C isotope ratio analysis method. *Food Chemistry*, 165: 555-559. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.136>.
- Tosun, M., Keleş, F. (2012). Testing methods for mulberry pekmez adulterated with different sugar syrups. *Academic Food Journal*, 10: 17-23. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/1189287>
- Yaman, N. (2019). Dut, keçiyoynuzu ve üzüm pekmezlerine glukoz şurubu katılarak yapılan tağşişin fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ile tespiti. Tekirdağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 75 s.
- Yılmaz, M. (2012). Pekmez ve pekmeze benzer gıdalarda taklit, tağşiş ve coğrafi köken tayini araştırması. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Kısaltılmış Doktora Tezi. İstanbul Sanayi Odası, İstanbul, Türkiye. 63 s.
- Yılmaz, M., Afsar, H. (2012). An approach to determination of geographical origin and authenticity of grape and some grape products using SNIF NMR. *Journal of Engineering and Natural Sciences Sigma*, 30: 102-112. <https://sigma.yildiz.edu.tr/storage/upload/pdfs/1636107910-tr.pdf>





## ULTRASON DESTEKLİ DONDURMA VE ÇÖZÜNDÜRME İŞLEMİNİN DANA NUAR ETİNİN KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Hira Yüksel Sarıoğlu<sup>1</sup>, Özgün Köprüalan Aydın<sup>1</sup>,  
Safiye Nur Dirim<sup>\*2</sup>, Figen Kaymak Ertekin<sup>2</sup>

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

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

Geliş / *Received*: 29.08.2023; Kabul / *Accepted*: 15.01.2024; Online baskı / *Published online*: 22.01.2024

Yüksel Sarıoğlu, H., Köprüalan Aydın, Ö., Dirim, S. N., Kaymak-Ertekin, F. (2024). Ultrason destekli dondurma ve çözündürme işleminin dana nuar etinin kalite özellikleri üzerine etkisi. GIDA (2024) 49 (1) 142-159 doi: 10.15237/ gida.GD23097

*Yüksel Sarıoğlu, H., Köprüalan Aydın, Ö., Dirim, S. N., Kaymak-Ertekin, F. (2024). Effects of ultrasound-assisted freezing and thawing on beef meat quality characteristics freezing and thawing of meats with ultrasound-assisting. GIDA (2024) 49 (1) 142-159 doi: 10.15237/ gida.GD23097*

### ÖZ

Bu makalede, farklı genliklerde (%40, %70, %100) ultrason destekli daldırarak dondurma/çözündürme ve buzdolabında dondurma/çözündürme yöntemlerinin kuşbaşı dana nuar etinin kalite özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Analizler, dondurma işlemi sırasında ultrason uygulanan örnekler için buzdolabında çözünmüş örneklerde ve buzdolabının dondurucu bölmesinde dondurulup çözündürme sırasında ultrason uygulanmış örneklerde gerçekleştirilmiştir. En yüksek ağırlık kaybı (%3.60-8.60), %100 genlikte ultrason uygulanan örneklerde görülmüştür. Çözündürme işleminde ultrason uygulanan örneklerde diğerlerine kıyasla daha düşük pışma kaybı (%34.80-38.97) değerlerine ulaşılmıştır. TBARS değerlerinde (0.16-1.05 mg malonaldehit/kg ürün), ultrason uygulamasıyla birlikte artış görülmüştür. Ultrason uygulanan örneklerin toplam renk değişimi değerleri (6.60-15.80), en az renk değişimine %40 genlikte ultrason uygulaması ile ulaşıldığını göstermiştir. Dokusal özellikler incelendiğinde, ultrason genliği arttıkça sertlik (433.81-1455.26 N) ve çignenebilirlik (140.42-558.92 N) değerlerinin azaldığı görülmüştür. Sonuç olarak, dondurma ve çözündürme işlemini hızlandırmak ve gıdaların kalitesini korumak amacıyla uygulanan ultrason işleminin, gıdaların kalite özellikleri üzerine önemli etkilerinin olduğu ancak %100 genlikte uygulamanın kalite özellikleri üzerinde önemli bir avantaj sağlamadığı görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Çözündürme, dana nuar, dondurma, kalite özellikleri, ultrason

## EFFECTS OF ULTRASOUND-ASSISTED FREEZING AND THAWING ON BEEF MEAT QUALITY CHARACTERISTICS FREEZING AND THAWING OF MEATS WITH ULTRASOUND-ASSISTING

### ABSTRACT

In this paper, the effects of ultrasound-assisted immersion freezing/thawing and conventional refrigerated freezing/thawing at different amplitudes (40%, 70%, 100%) on the quality characteristics of cubed meats were investigated. Analyses were performed on samples thawed in the refrigerator

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉: nur.dirim@ege.edu.tr

☎: (+90) 232 311 3032

☎: (+90) 232 342 7592

Hira Yüksel Sarıoğlu; ORCID no: 0000-0001-7110-4200

Özgün Köprüalan Aydın; ORCID no: 0000-0001-8800-7714

Safiye Nur Dirim; ORCID no: 0000-0002-0533-4275

Figen Kaymak-Ertekin; ORCID no: 0000-0001-5042-3659

for samples to which ultrasound was applied during the freezing process in the freezer compartment of the refrigerator, and on samples thawed and to which ultrasound was applied during thawing. Although weight loss (7.2.60-8.60%) increased in the samples where ultrasound was applied at 100% amplitude during the freezing and thawing process, lower cooking loss (34.80-38.97%) values were reached in the samples where ultrasound was applied with the thawing process. TBARS values (0.16-1.05 mg malonaldehyde/kg product) of the meats increased with ultrasound application. For the total colour change values (6.60-15.80) of all samples applied ultrasound, the lowest color change was obtained with ultrasound application at 40% amplitude before and after cooking. According to the textural properties of the meat, it was observed that the hardness (433.81-1455.26 N) and chewiness (140.42-558.92 N) values decreased as the ultrasound amplitude increased. Consequently, the ultrasound process applied to accelerate the freezing and thawing process and to protect the quality of foods had significant effects on the quality characteristics of foods, but the application of ultrasound at 100% amplitude did not provide a significant advantage on the quality characteristics of the samples.

**Keywords:** Thawing, beef meat, freezing, quality characteristics, ultrasound

### GİRİŞ

Et, protein ve besin değerleri açısından zengin ve dünya genelinde popüler bir gıda kaynağıdır. Ancak, etin tazeliğini ve kalitesini korumak, pazarlama ve depolama süreçlerinde zorluklar yaratır. Dondurma işlemi, gıdaların kalite özelliklerinin daha uzun süre korunmasını sağlayan en önemli muhafaza yöntemlerinden biridir. Dondurma işleminin uzun süreli muhafaza sağlaması, diğer muhafaza yöntemlerine göre gıdanın duyu niteliklerinin ve besleyici özelliklerini koruması gıda endüstrisinde kullanımını yaygınlaştırmaktadır (Becker ve Fricke, 1999). Dondurma işlemi, gıdalarda mikroorganizmalar tarafından kullanılabilir nitelikteki suyun sıvı fazdan katı faza geçişini sağlamakta ve böylece gıdalarda bozulmaya neden olan fiziksel, biyokimyasal ve mikrobiyal değişimler yavaşlatılmaktadır. Özellikle, dondurma işlemi sırasında gıdaların sıcaklığının, mikrobiyal yaşamın ve enzimatik aktivitenin mümkün olmadığı sıcaklıklara düşürülmesi de gıdaların uzun süre muhafazasında etkili olmaktadır (Xin vd., 2015). Dondurma işlemi, ön soğutma, kristalizasyon (faz değişimi) ve son soğutma bölgesi olmak üzere üç bölgeden oluşmaktadır. Ön soğutma aşaması, ürünün başlangıç sıcaklığından dondurma başlangıç sıcaklığına gelinceye kadar olan süreyi kapsamakta ve bu evrede hissedilir ısı uzaklaşmaktadır. Kristalizasyon (faz değişimi) aşamasında, dondurulabilen suyun büyük bir kısmı buza dönüşmektedir. Son soğutma aşamasında ise, ürün saklanması için gereken son sıcaklığa

gelinceye kadar soğutulmaktadır. Kristalizasyon aşaması, dondurma işlemi sırasında ortaya çıkan, çekirdek oluşumu (çekirdeklenme) ve daha sonra çekirdeklerin spesifik bir kristal boyutuna ulaşım büyümesi olarak iki basamaktan oluşan kritik bir aşamadır. Kritik bir aşama olmasının nedeni, dondurma işlemi sırasında suyun büyük bir kısmının kristalizasyon bölgesinde kristallenmesidir (Kiani ve Sun, 2011). Bu nedenle, bu safha için geçen süreyi en aza indirmek yüksek kalitede dondurulmuş gıda ürünleri elde etmek için çok önemlidir (You vd., 2021).

Dondurulmuş gıdalar için önemli unsurlardan biri de dondurulmuş gıdaların çözündürülmesidir. Çözündürme işlemi, gıdadaki buzun eriyerek sıvı faza geçmesi işlemidir. Geleneksel çözündürme yöntemlerinde çözündürme hızı yüzey ısı transfer katsayısına ve ortam sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. Gıda sanayinde donmuş ürünler geleneksel olarak 20°C'deki hava, su veya vakum altında yoğunlaşan buhar yardımıyla çözündürülmektedir (Cai vd., 2019a). Dondurma işlemi sırasında gerçekleşen kristalizasyon aşamasını ve bu aşamada meydana gelen kristal boyutunu kontrol etmek ve çözündürme işlemi sırasında, sıcaklığın belirgin şekilde yükselmesini ve yiyeceklerin aşırı dehidrasyonunu önlemek için düşük sıcaklıkta hızlı çözündürme amacıyla gıda sanayinde hali hazırda kullanılan geleneksel yöntemlerin yerine kullanılabilecek; yüksek basınç uygulamaları (Shim vd., 2009), ultrason uygulamaları (Qiu vd., 2020), mikrodalga

uygulamaları (Phinney vd., 2017; Xanthakis vd., 2014), radyo frekans uygulamaları (Anese vd., 2012; Hafezparast-Moadab vd., 2018) ve elektrik alan uygulamaları (Dalvi-Isfahan vd., 2016, 2017) gibi teknolojiler önerilmektedir.

Ultrason (sonikasyon) teknolojisi bu araştırmalar içerisinde gıdaların muhafazasında uygulanan yöntemlerden biridir (Knorr vd., 2004; Sun vd., 2019a). Ultrason, uygulandığı ürüne zarar vermemesi, uygulanabilirliğinin kolay olması, çevre dostu olması, gıdaların kalitesini ve güvenilirliğini geliştirmesi gibi özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde gelecekte de yararlanılabilecek bir potansiyele sahip olmasıyla son yıllarda sıklıkla gündeme gelmektedir (Knorr vd., 2004). Ultrason, insan kulağının duyabileceği frekansın üzerindeki frekanslarda sıvı, katı ve gaz ortamlardan geçebilen ses dalgaları olarak tanımlanmaktadır (Ergün vd., 2013). Tipik olarak ultrason; 16 ile 100 kHz arası güç ultrasonu, 100 kHz ile 1 MHz arası yüksek frekanslı ultrason, 1 ile 10 MHz arası ise diagnostik ultrason olarak üç frekans bölgesine ayrılmaktadır (Demirdöven ve Baysal, 2009; Dolatowski vd., 2007; Jambrak vd., 2010). Belirlenen frekans bölgeleri içinde 16-100 kHz aralığında kristalizasyon sürecine etkisi için oluşması istenen kavitasyon gerçekleştiğinden, gıda endüstrisinde dondurma ve çözündürme işlemlerinde güç ultrasonu daha yaygın kullanılmaktadır (Lorimer vd., 1987). Ultrason işlemi farklı yöntemlerle uygulanabilmekte ve diğer birçok gıda prosesinde olduğu gibi farklı parametreler içermektedir. Özellikle, çok güçlü ultrasonik dalgalar ortama ulaştığında, daha fazla akustik enerji ısıya dönüşmekte ve ısı ortam tarafından absorbe edilmektedir. Dondurma işlemi için bu sıcaklık artışı ihmal edilemediğinden yüksek güç avantajını kaybetmektedir (Sastray vd., 1989). Çözündürme prosesi için de bu durum gıdada istenmeyen reaksiyonlara veya mikrobiyal gelişmeye yol açabilecek bir durumla sonuçlanabilmektedir. Bu ısı oluşumu dondurma ve çözündürme prosesini olumsuz etkileyeceği için, soğutucu akışkan sıcaklığının sabit kalmasına yardımcı olmak amacıyla akışkan akış hızı artırılabilir (Zheng ve Sun, 2006). Ayrıca, ultrason ne kadar uzun süre uygulanırsa, ısı aktarım hızının o kadar yüksek olduğu da

bilinmektedir. Bir başka deyişle, örnekler ultrasona uzun süre maruz bırakıldığında, ultrasonun termal etkisi nedeniyle daha fazla ısı üretilmektedir. Bu etkiyi azaltmak amacıyla genellikle kesikli ultrason uygulaması tercih edilmektedir. Son yıllarda, farklı ultrason frekansları ve güç seviyeleri kullanılarak et örneklerinde dondurma ve çözündürme çalışmaları yapılmıştır. Dondurma işleminde ultrason uygulamalarına örnek olarak, sazan balığı (Sun vd., 2019a; Sun vd., 2019b) ve domuz eti (Zhang vd., 2020) kullanılarak yapılan çalışmalar, çözündürme işleminde ise çipura (Cai vd., 2018), sazan balığı (Li vd., 2020) ve yak eti (Guo vd., 2021) kullanılarak yapılan çalışmalar örnek olarak verilebilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, dondurma ve çözündürme işlemini hızlandırmak ve etin kalitesini korumak amacıyla geleneksel dondurma ve çözündürme tekniklerinin yanı sıra bu yöntemlere alternatif olabilecek ultrason işleminin dana nuar etinin kalite özellikleri üzerine etkisinin incelenmesidir. Bu amaç doğrultusunda çalışma kapsamında, dana nuar eti örneklerine geleneksel dondurma yöntemi olarak buzdolabında -24°C'de statik dondurma işlemi, geleneksel çözündürme işlemi olarak +4°C'de buzdolabında statik, su altında ve oda sıcaklığında çözündürme işlemleri uygulanmıştır. Geleneksel dondurma ve çözündürme işlemine alternatif olarak uygulanan ultrason işleminin etkisinin incelenmesi amacıyla; -24°C'de buzdolabında dondurma işlemi esnasında ve +4°C'de buzdolabında çözündürme işlemi esnasında ultrason işlemleri (%40, %70 ve %100 olmak üzere 3 farklı genlikte) uygulanmıştır. Farklı koşullarda dondurma ve çözündürme uygulanan et örneklerinin pişme kalitesinin incelenmesi için, tüm örnekler 80°C'ta su banyosunda etlerin merkez noktası 75°C'a gelene kadar pişirme işlemi uygulanmıştır. Farklı koşullarda dondurma ve çözündürme işlemleri uygulanan et örnekleri için, dondurma ve çözündürme süresinin belirlenmesi, nem içeriği, su aktivitesi, renk, pH değeri, ağırlık kaybı, pişme kaybı, toplam protein, oksidasyon derecesi (TBARS değeri) ve doku analizleri gerçekleştirilmiştir.

### MATERYAL VE METOT

#### Materyal

Çalışma kapsamında hammadde olarak kullanılan dana nuar eti Pınar Entegre Et ve Un Sanayi A.Ş.'den temin edilmiş, 2x2x2 cm boyutlarında olacak şekilde boyutlandırılmış ve dondurma-çözündürme işlemleri buzdolabı poşetlerin içerisinde gerçekleştirilmiştir. Her bir deneme için 250 g dana nuar eti kullanılmıştır. Dondurma ve çözündürme sürelerinin belirlenmesi için sıcaklık verileri yeterli sayıda ısı eş (Testo, Almanya) kullanılarak elde edilmiştir.

#### Metot

##### *Dondurma İşlemi*

Dana nuar eti örneklerinin farklı koşullarda dondurma işleminin uygulanması için boyutlandırılmış örnekler; kontrol grubu olarak -24°C'ta buzdolabında statik dondurma işlemi ve -24°C buzdolabında %40, %70 ve %100 olmak üzere 3 farklı genlikte ultrason işlemine tabi tutulmuştur. Ultrason uygulaması için 320 W ultrason gücüne sahip ultrasonik su banyosu (37 kHz frekans, Isolab, 621.06.006) buzdolabının (NFK37101 model, VESTEL) dondurucu bölmesine yerleştirilmiştir. Ultrason destekli dondurma işlemi sırasında (-24°C'ta), su banyosunun içerisine -24°C'de donmayan %30 (a/a) kalsiyum klorür çözeltisi eklenmiştir. Ultrason işlemi, dondurma işleminin faz değişimi aşamasında 8 dakika boyunca örneğe 30 s açık/30 s kapalı olacak şekilde uygulanmıştır. Ultrason uygulamasında kullanılan parametrelere literatür araştırmasıyla karar verilmiş olup donma sırasında ısıya neden olmaması için kesikli olarak uygulanmıştır (Zhang vd., 2018). Dondurulduktan sonra +4°C'ta buzdolabında çözündürülmüş örnekler, buzdolabı poşeti (Migros, Türkiye) içerisine yerleştirilip 80°C'ta su banyosunda etlerin merkez noktası 75°C'a gelene kadar pişirilmiştir. Denemeler 2 tekrar olarak gerçekleştirilmiştir.

##### *Çözündürme İşlemi*

Dana nuar eti örneklerinin farklı koşullarda çözündürülmesi işlemlerinin uygulanması için öncelikle sabit koşulda (-24°C'ta) buzdolabında statik dondurma işlemi uygulanmıştır. Dondurulmuş et örneklerine çözündürme işlemi olarak; 4°C'ta buzdolabında statik, oda

sıcaklığında (25°C) ve akan su altında (16°C) olmak üzere geleneksel çözündürme yöntemleri ve farklı genlik değerlerinde ultrasonik çözündürme işlemleri uygulanmıştır. Çözündürme işlemlerinde ultrason uygulaması, içerisinde su bulunan ultrasonik banyonun (37 kHz frekans, Isolab, 621.06.006) buzdolabının soğutucu bölmesine yerleştirilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik çözünme işlemi dondurulmuş et örneklerine faz değişimi aşamasında kesikli olarak uygulanmıştır. Merkez noktası -24°C olan et örnekleri buzdolabının 4°C'taki soğutucu bölmesinde merkez sıcaklığı -1°C'a gelene kadar bekletilmiş ve örneklerin faz değişiminin başlaması ile birlikte 4°C'taki ultrasonik su banyosunun içerisine yerleştirilmiştir. Ultrasonik su banyosunun içerisine bulunan et örneklerine faz değişimi aşamasında 8 dakika boyunca 30 s açık/30 s kapalı olacak şekilde farklı güçlerde (%40 genlik, %70 genlik ve %100 genlik) ultrason işlemi uygulanmıştır. Ayrıca her bir çözündürme işlemi sonrasında et örneklerinin pişme işlemi sonrası kalitesinin belirlenmesi amacıyla 80°C'taki su banyosu içerisinde buzdolabı poşet içerisindeki etlerin merkez noktası 75°C'a gelene kadar pişirme işlemi uygulanmıştır. Denemeler 2 tekrar olarak gerçekleştirilmiştir.

#### Analizler

Yukarıda belirtilen dondurma ve çözündürme işlemleri uygulanmış örnekler için dondurma/çözündürme sürelerinin belirlenmesi; nem içeriği, su aktivitesi, renk, pH değeri, ağırlık kaybı, pişme kaybı, toplam protein, oksidasyon derecesi (TBARS değeri) değerlerinin belirlenmesi, doku analizleri ve istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir.

##### *Dondurma-çözündürme süresinin tespit edilmesi*

Gıdaların merkez noktalarının sıcaklık ölçümü ısı eşler (Testo, K tipi) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık değerleri Pico (USB TC-08, Birleşik Krallık) marka veri kaydetme cihazı ile kaydedilmiş ve elde edilen veriler kullanılarak süreler tespit edilmiştir. Gıdaların merkez sıcaklığı -10°C'ye ulaştığında dondurma işlemine, 0°C'ye ulaştığında çözündürme işlemine son verilmiştir.

#### *Nem içeriği*

Örneklerin nem içeriği gravimetrik yöntemle göre etüv (Nüve EV018, Türkiye) kullanılarak belirlenmiş ve nem içeriği % (yaş baz, yb) olarak hesaplanmıştır (AOAC, 2005).

#### *Su aktivitesi*

Örneklerin su aktivitesi,  $\pm 0.001$  hassasiyete sahip su aktivitesi ölçüm cihazı (Testo AG 400, Almanya) kullanılarak  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de belirlenmiştir.

#### *pH*

Et örneklerinin pH değeri pH metre (Inolab pH 7710, Türkiye) ile  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de oda sıcaklığında belirlenmiştir.

#### *Toplam protein miktarı*

Örneklerin toplam protein miktarı Kjeldahl yöntemine göre % (kuru baz, kb) olarak belirlenmiştir (AOAC, 2005).

#### *Oksidasyon derecesi (TBARS değeri)*

Örneklerde yağ oksidasyon derecesi, ikincil oksidasyon ürünlerini ortaya koyan TBARS (Tiyobarbitürik asit) analizi ile belirlenmiştir. TBARS değerleri Tarladgis vd., (1960) yöntemine göre yapılmıştır. Sonuçlar, mg malonaldehit/kg ürün olarak ifade edilmiştir.

#### *Renk analizi*

Örneklerin renk değerleri, CIE L\*, a\* ve b\* renk skalası kullanılarak Konica Minolta Chroma Meter (CR- 400, Japonya) cihazı ile ölçülmüştür. Tüm ölçümler 6 paralel çalışılıp ortalama değerleri alınmıştır. Toplam renk değişimi ( $\Delta E$ ) için Eşitlik 1'de verilen formül kullanılarak hesaplama yapılmıştır (Isleroglu vd., 2015).

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0)^2 + (b^* - b_0)^2 + (a^* - a_0)^2} \quad (1)$$

#### *Ağırlık kaybı*

Örneklerin ağırlık kaybı Eşitlik 2'deki formül ile hesaplanarak % ağırlık kaybı olarak ifade edilmiştir (Choi vd., 2017).

$$\text{Ağırlık kaybı} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (2)$$

Burada;  $m_1$ , örneğin başlangıç ağırlığı,  $m_2$ , çözünmüş örneğin ağırlığıdır.

#### *Pişirme kaybı*

Çözündürülmüş örneklerin pişirme öncesi ve sonrası ağırlıkları ölçülerek pişirme kaybı Eşitlik 3'e

göre hesaplanmış ve sonuçlar % olarak verilmiştir (Isleroglu vd., 2015).

$$\text{Pişirme kaybı} = 100 - \left( \frac{\text{pişmiş örnek ağırlığı}}{\text{pişmemiş örnek ağırlığı}} \times 100 \right) \quad (3)$$

#### *Doku (TPA) analizi*

Örneklerin dokusal özellikleri, 30 kg yük hücresi ile Tekstür Profil Analizi (TPA) (TX-T Stable Micro Systems, Haslemere, UK) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmadaki tüm TPA testleri için 36 mm çapında silindirik bir prob kullanılmıştır. Numune ölçümünde test öncesi hız 2 mm/s, test hızı 2 mm/s ve test sonrası hız 2 mm/s olarak belirlenmiştir. Örnekler orijinal kalınlıklarının %60'una kadar iki kez sıkıştırılmış ve iki sıkıştırma arasındaki zaman aralığı 5,0 s olmuştur. Her bir örnek grubu için doku analizi 5 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. TPA analizinde, sertlik (numuneyi sıkıştırmak için gereken maksimum kuvvet), yapışkanlık (gıdanın yüzeyi ile gıdanın temas ettiği yüzey arasındaki çekici kuvvetin üstesinden gelmek için gereken iş), esneklik (deforme edici kuvvet kaldırıldıktan sonra numunenin orijinal formunu geri kazanma yeteneği) ve çiğnenebilirlik (numuneyi çiğnemek için gereken iş) değerleri hesaplanmıştır (Isleroglu vd., 2015).

#### **İstatistiksel Analiz**

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen analiz sonuçlarının farklılıkların önemini belirlemek için istatistiksel analiz olarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve  $P < 0.05$  düzeyinde Duncan testi SPSS 22.0 (SPSS Statistical Software, Inc, Chicago, IL, USA) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

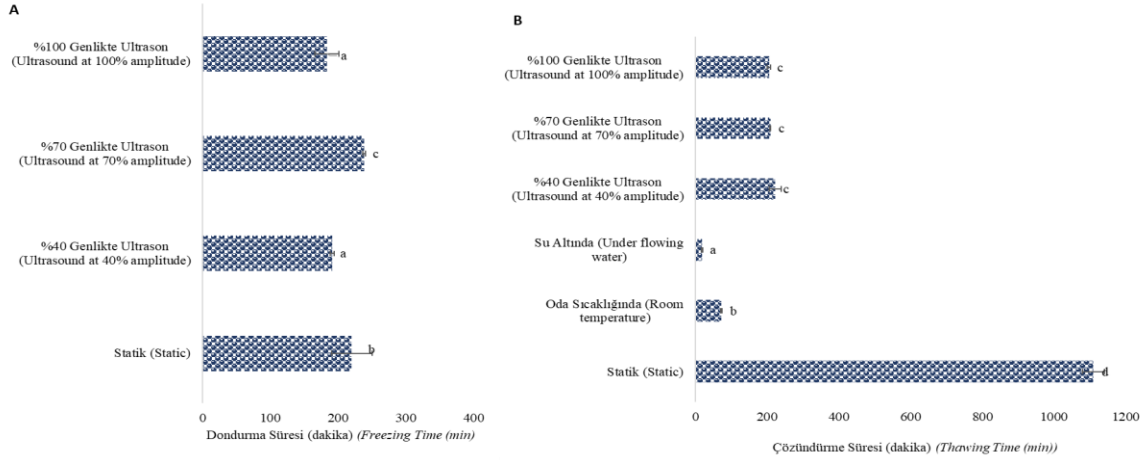
#### **BULGULAR VE TARTIŞMA**

##### ***Dondurma ve Çözündürme Süresi***

Gıda işlemede dondurma ve çözündürme işlemleri için geçen süreyi en aza indirmek, yüksek kalitede dondurulmuş ve çözündürülmüş gıda ürünleri elde etmek için çok önemlidir. Dondurma işlemi esnasında dondurma hızının yüksek olması üründe küçük buz kristalleri oluşmasını sağlarken, çözündürme işlemi sonrasında da daha az kalite kayıpları oluşmasına yardımcı olmaktadır. Çözündürme işlem süresinin

azaltılması ile de hem kaliteli hem de mikrobiyolojik açıdan güvenilir gıda ürünleri elde edilmesine olanak sağlanmaktadır (Cemeroğlu, 2017). Şekil 1'de farklı yöntemler ile dondurma

işlemi uygulanmış ve farklı yöntemler ile çözündürme işlemi uygulanmış dana nuar eti örnekleri için dondurma ve çözündürme süreleri verilmiştir.



Şekil 1. Farklı yöntemler kullanılarak dondurulmuş ve çözünmüş dana nuar etinin dondurma (A) ve çözündürme (B) süreleri

Figure 1. Freezing (A) and thawing (B) times of frozen and thawed beef meat using different methods

\*Veriler ortalama değer  $\pm$  SD (n=2) olarak ifade edildi. Farklı üst simge küçük harf,  $P < 0.05$ 'te önemli farklılıklar göstermektedir.

\*Data were expressed as mean value  $\pm$  SD (n=2). Different superscript lowercase letters indicate significant differences at  $P < 0.05$ .

Şekil 1 incelendiğinde, statik dondurma işlemine (219,90 dakika) kıyasla %40 (191,45 dakika) ve %100 (183,48 dakika) genlikte ultrason uygulamasının dondurma sürelerinde sırasıyla %13 ve %20 oranında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Bunun nedeni, ultrasonun meydana getirdiği kavitasyon etkisiyle oluşan kabarcıkların ısı transfer hızını arttırmasına bağlanabilmektedir (Mason vd., 1996). Ultrason, kavitasyon kabarcıklarının patlayıp çökmesinden meydana gelen güçlü kuvvetlerden dolayı buz kristallerinin daha küçük olanlara parçalanıp ince buz kristallerinin oluşumuna sağlamakta ve buz/sıvı ara yüzeyindeki ısı ve kütle transfer direncini azaltarak kristallenme başlangıcı ile buzun komple oluşması arasındaki süreyi kontrol etmekte, kısaltmakta ve böylece hüresel yapıya daha az zarar vermektedir (Knorr vd., 2004). %70 genlikte ultrason uygulamasının donma süresinin artmasına neden olması ise, kavitasyon etkisinin yanında ısı artışının donma işlem süresini uzatması olarak düşünülmüştür. %40 ve %100 genlikte ultrason uygulamasının dondurma sürelerinde

azalmaya neden olmasının diğer bir nedeni, ultrason uygulaması sırasında ısı iletim katsayısı havadan fazla olan sıvılardan yararlanılmasıdır (Qiu vd., 2022). Benzer olarak balık etinin dondurulması sırasında ultrason işlemi uygulamasının, hava ile statik dondurmaya göre dondurma süresini %83 kısalttığı tespit edilmiştir (Qiu vd., 2022).

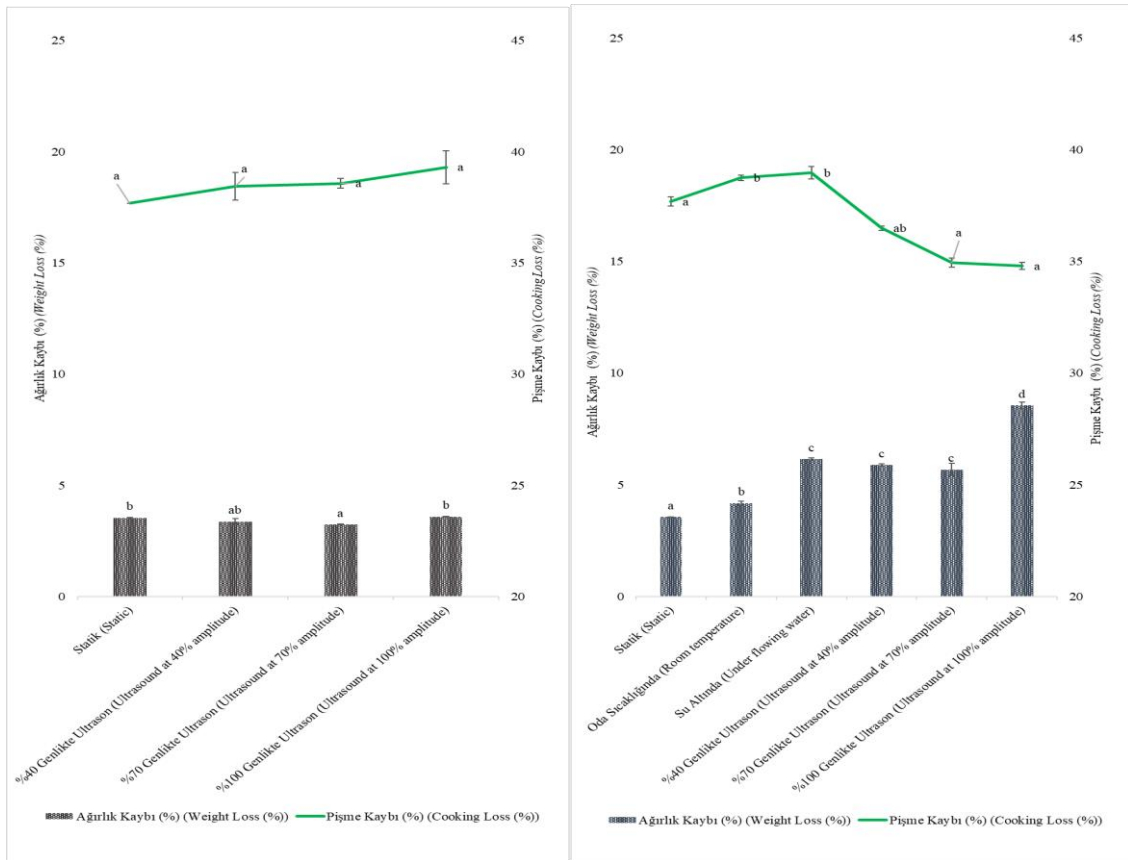
Dana nuar eti ile gerçekleştirilen çözündürme denemeleri sonucunda buzdolabında gerçekleştirilen statik çözündürme işleminin (1110 dakika), oda sıcaklığında (72.3 dakika) ve akan su altında (18 dakika) çözündürme yöntemlerine göre istatistiksel olarak önemli derecede uzun olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Ultrason uygulanan örneklerde çözündürme süreleri buzdolabında statik çözündürmeye göre kısaltılmakla birlikte uygulanan genliklere bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ( $P > 0.05$ ).

Ultrason destekli çözündürme işleminde, enerjinin bir kısmı donmuş ette ısıya dönüşerek et yüzeyinde sıcaklık artışına neden olurken etin merkezinin sıcaklık artışı daha düşük kalır (Gambuteanu ve Alexe, 2015). Ayrıca gıdanın içindeki çözünmüş sıvı, ısı iletimine ve buz kristallerinin çözündürmesine yardımcı olan ultrason kaynaklı kaviteasyon nedeniyle mikro akış da oluşturabilir. Ayrıca, ultrasonik dalgalar çözünmüş sıvı boyunca yayıldığında türbülans oluşur, bu da ısı iletim verimliliğini artırır ve çözündürme işlem süresinin kısalmasına yardımcı olur (Cai vd., 2019b). Gambuteanu ve Alexe (2015), et ile yaptıkları ultrasonik çözündürme işlemi sonucunda ultrason uygulamasının çözündürme süresini önemli düzeyde azalttığını bildirmişlerdir. Sazan balığı ile yapılan bir başka

çalışmada da çözündürme işleminde ultrason uygulanmasının çözündürme süresini azalttığı bildirilmiştir (Li vd.,2020).

### Ağırlık Kaybı ve Pişme Kaybı

Dondurma ve çözündürme işlemleri, et dokusundaki nemin hem miktarını hem de dağılımını değiştirmektedir. Ette bir kalite özelliği olarak nem, damlama kaybı, çözündürme kaybı, pişme kaybı, ve toplam nem içeriği dahil olmak üzere çeşitli şekillerde değerlendirilebilmektedir (Leygonie vd., 2012). Bu çalışmada gerçekleştirilen farklı dondurma ve çözündürme işlemlerine ait ağırlık kaybı ve pişme kaybının dondurma/çözündürme yöntemlerine göre değişimini gösteren veriler Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 2. Dana nuar etinin farklı yöntemler ile dondurulması (A) ve çözündürülmesine (B) ait ağırlık kaybı ve pişme kaybı sonuçları

Figure 2. Weight loss and cooking loss results of freezing (A) and thawing (B) of beef meat by different methods

\*Veriler ortalama değer  $\pm$  SD (n=2) olarak ifade edildi. Farklı üst simge küçük harf,  $P < 0.05$ 'te önemli farklılıklar göstermektedir.

\*Data were expressed as mean value  $\pm$  SD (n=2). Different superscript lowercase letters indicate significant differences at  $P < 0.05$ .

Dondurma işlemi sırasında ultrason uygulanan her bir örneğin ağırlık kaybı değerleri incelendiğinde, %40 ve %70 genlikte ultrason uygulanan örneklerde ağırlık kaybının azaldığı gözlenmiş, ancak sadece %70 genlikte ultrason uygulamasının neden olduğu ağırlık kaybındaki azalma anlamlı bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Ağırlık kaybının az olması, daha hızlı dondurma işlemiyle birlikte oluşan buz kristallerinin de boyutlarının küçük olduğunu göstermektedir. Ultrason destekli dondurma işleminin gerçekleştirildiği bir başka çalışmada, ultrason uygulanan kırmızı turp örneklerin çözündürme sonrası ağırlık kaybı değerinin hava ile dondurma işlemine göre daha az olduğu tespit edilmiştir (Sun vd., 2019a). Örneklerin çözündürme işlemi sonrası ağırlık kaybı değerleri incelendiğinde en düşük ağırlık kaybı değerinin buzdolabında çözündürme işleminde, en yüksek ağırlık kaybı değerinin ise %100 genlikte ultrason uygulanan örneklerde olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ) (Şekil 2). Suyun altında çözündürme süresi kısa olmasına rağmen ağırlık kaybının fazla olduğu gözlenmiştir. Ultrason gücünün artması ile et örneklerinin miyofibril yapılarının hasar görmesi sonucu büyük miktarda su kaybına neden olduğu literatürde belirtilmiştir (Shi vd., 2020). Yapılan bir çalışmada, ultrason gücü 200- 600 W aralığında değişen oranlarda uygulanmış ve 400 W ultrason gücüne kadar çözündürülen örneklerde ağırlık kaybı azalırken, 600 W uygulanan örneğin ağırlık kaybı değeri en yüksek olarak bulgulanmıştır (Guo vd., 2021).

Pişme kaybının, esas olarak ısı kaynaklı miyofibriller dejenerasyonun neden olduğu yapısal kas hasarından kaynaklandığı ve ısıtma sırasında etten önemli miktarda sıvı ve az miktarda çözünür madde kaybına neden olduğu bilinmektedir (Sun vd., 2019a). Şekil 2'de görüldüğü gibi farklı dondurma işlemleri uygulanan örneklerin pişme kaybı değerlerinde ultrason genliklerine bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $P > 0.05$ ). Literatürde yapılan çalışmalarda, ağırlık kaybının buz kristallerinin dondurma-çözündürme hızı, dağılımı, boyutu ve kas dokusu bütünlüğü ile ilişkili olduğunu bildirilmiştir. Balık etinin dondurulması sırasında 150W-250W aralığında

ultrason işlemi uygulanan bir çalışmada, 200 W ultrason ile en az ağırlık kaybı ve pişme kaybı değerine ulaşılmıştır (Qiu vd.,2022).

Farklı çözündürme işlemi uygulanan örneklerin pişme kaybı değerleri incelendiğinde ise, en düşük pişme kaybı değerleri ultrason uygulanan örneklerde saptanmıştır. Ultrason genliğinin artmasıyla pişme kaybının %70 genliğe kadar azaldığı, %100 genlik uygulamasında ise pişme kaybında artış olduğu saptanmıştır. Benzer bir durum yak etinin farklı ultrason güçlerinde çözündürüldüğü çalışmada da gözlenmiştir (Guo vd., 2021). Et örneklerinde kas yapısının çoğunluğunu miyosin oluşturmaktadır. Ultrason uygulaması miyosinin yapısal özelliklerini iyileştirmekte ve etin su tutma kapasitesini arttırmaktadır. Bu durum da örneklerin daha az çözündürme ve pişme kaybı göstermesini sağlamaktadır (Wang vd., 2020). Buna karşın, Guo vd. (2021)'nin çalışmasında da belirtildiği üzere, ultrason gücünün artmasının et dokusunda hasara yol açmasıyla birlikte çözündürme ve pişirme sırasında su kaybına neden olmaktadır.

### **Fiziko-kimyasal özellikler**

Farklı dondurma ve çözündürme işlemleri uygulanan dana nuar etinin bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1'de verilen sonuçlar değerlendirildiğinde, farklı dondurma işlemleri uygulanan örneklerin nem içeriği, su aktivitesi ve pH değerlerinin birbirine yakın olduğu ve aralarında istatistiksel bir fark olmadığı gözlenmektedir ( $P > 0.05$ ). Benzer şekilde, literatürde tavuk etinin ultrason destekli olarak dondurulduğu bir çalışmada, ultrason uygulamasının pH değerini etkilemediği gözlenmiştir (Zhang vd., 2020). Başka bir çalışmada, buzdolabında statik dondurma işlemi örneklerin pH değerinin düşük olmasının, yüksek sızıntı kaybına ve kastaki hidrojen iyonu konsantrasyonundaki farklılıklara bağlı olabileceği belirtilmiştir (Leygonie vd., 2012). Farklı dondurma işlemleri uygulanan etlerde protein değerlerinin birbirine yakın olduğu ve birbirleri arasında anlamlı fark olmadığı gözlenirken ( $P > 0.05$ ), TBARS değerleri olarak ifade edilen oksidasyon değerlerinde, ultrason uygulamasıyla



ve ultrason gücü arttıkça anlamlı bir artış gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). TBARS değerinin artmasının nedeni, serbest yağ asitlerinin oluşumu ve birikmesi sırasında aldehitlere, ketonlara, asitlere ve diğer küçük moleküllere oksitlenmesine bağlanmıştır (Hansen vd., 2004). TBARS değerinin artmasıyla etin tadında acılaşıma olduğu da yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Bertram vd.,

2007). Literatürde, tüketilebilir et ürünleri için maksimum TBARS değeri, 2 mg malonaldehit/kg ürün olarak verilmektedir (Selani vd., 2016). Çizelge 1’de görüldüğü gibi farklı genliklerde ultrason destekli dondurulan etlerin TBARS değerlerinin tamamının, üst sınır olarak belirlenen değerin altında olduğu saptanmıştır.

Çizelge 1. Farklı yöntemler kullanılarak donmuş ve çözünmüş dana nuar etinin fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

Table 1. Physical and chemical analysis results of frozen and thawed beef meat using different methods

Yöntem (Method)	Nem İçeriği (%,yb) (Moisture content (%, nb))	Su aktivitesi (Water activity)	pH (pH)	Protein İçeriği (%,kb) (Protein content (%, db))	TBARS değeri (mg malonaldehit/kg ürün) (TBARS (mg malonaldehyde/ kg product))	
Taze Et (Fresh beef)	76.96±0.28	0.99±0.01	5.99±0.01	89.52±0.06	0.15±0.02	
Dondurma Yöntemleri (Freezing Methods)	Statik (Static)	75.50 <sup>a</sup> ±0.01	0.99 <sup>a</sup> ±0.01	4.98 <sup>a</sup> ±0.01	84.90 <sup>a</sup> ±0.58	0.18 <sup>a</sup> ±0.01
	%40 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 40% amplitude)	75.43 <sup>a</sup> ±0.50	0.99 <sup>a</sup> ±0.02	5.51 <sup>a</sup> ±0.32	86.53 <sup>a</sup> ±1.43	0.27 <sup>b</sup> ±0.04
	%70 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 70% amplitude)	74.39 <sup>a</sup> ±0.84	0.99 <sup>a</sup> ±0.01	5.22 <sup>a</sup> ±0.01	86.22 <sup>a</sup> ±0.45	0.30 <sup>b</sup> ±0.02
	%100 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 100% amplitude)	74.55 <sup>a</sup> ±1.39	0.99 <sup>a</sup> ±0.01	5.54 <sup>a</sup> ±0.15	86.93 <sup>a</sup> ±0.50	0.49 <sup>c</sup> ±0.02
Çözündürme Yöntemleri (Thawing methods)	Statik (Static)	75.50 <sup>abc</sup> ±0.25	0.99 <sup>a</sup> ±0.00	4.98 <sup>a</sup> ±0.03	84.90 <sup>a</sup> ±0.15	0.16 <sup>b</sup> ±0.02
	Oda Sıcaklığında (Room Temperature)	74.03 <sup>a</sup> ±0.58	0.99 <sup>a</sup> ±0.00	5.65 <sup>b</sup> ±0.05	86.92 <sup>c</sup> ±0.23	0.29 <sup>c</sup> ±0.01
	Su altında (Under flowing water)	75.52 <sup>bc</sup> ±0.25	0.99 <sup>a</sup> ±0.00	5.56 <sup>b</sup> ±0.03	88.43 <sup>d</sup> ±0.10	0.08 <sup>a</sup> ±0.02
	%40 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 40% amplitude)	75.72 <sup>c</sup> ±0.28	0.99 <sup>a</sup> ±0.00	5.47 <sup>b</sup> ±0.05	87.81 <sup>d</sup> ±0.31	1.05 <sup>f</sup> ±0.02
	%70 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 70% amplitude)	74.88 <sup>abc</sup> ±0.53	0.99 <sup>a</sup> ±0.00	5.47 <sup>b</sup> ±0.03	86.68 <sup>c</sup> ±0.25	0.97 <sup>e</sup> ±0.01
	%100 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 100% amplitude)	74.12 <sup>ab</sup> ±0.32	0.99 <sup>a</sup> ±0.00	5.51 <sup>ab</sup> ±0.26	85.65 <sup>b</sup> ±0.19	0.88 <sup>d</sup> ±0.02

\*Veriler ortalama değer ± SD (n=2) olarak ifade edildi. Farklı üst simge küçük harf,  $P < 0.05$ 'te önemli farklılıklar göstermektedir.

\*Data were expressed as mean value ± SD (n=2). Different superscript lowercase letters indicate significant differences at  $P < 0.05$ .

Farklı çözündürme yöntemlerinin nem içeriği, su aktivitesi ve pH değerleri üzerinde önemli bir etkisi olmadığı ve birbirine yakın sonuçlar verdiği görülmektedir. Çözündürme işlemi sonrasında etin pH değerinde meydana gelen değişimin, ağırlık kaybının artmasıyla meydana gelen bileşen kayıplarından kaynaklı olabileceği belirtilmiştir

(Xu vd., 2020). En düşük pH değeri buzdolabında çözündürme denemesinde elde edilmiştir. Farklı çözündürme işlemleri uygulanan etlerin protein içeriği değerleri arasında istatistiksel fark saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). En düşük protein miktarı buzdolabında çözündürme işleminde saptanmıştır. Farklı çözündürme işlemi uygulanan

et örneklerinin oksidasyon değerleri incelendiğinde, buzdolabında ve su altında gerçekleşen çözündürme işlemlerinde daha düşük TBARS değeri saptanmıştır. Özellikle oda sıcaklığında çözündürme yöntemi ile kıyaslandığında sıcaklığın etkisi ile oksidasyon değerinin arttığı söylenebilir. Ultrason işlemi uygulanan örneklerin TBARS değeri diğer yöntemlere göre daha yüksek bulunurken, ultrason gücünün artmasıyla oksidasyon değeri düşmüştür ( $P < 0.05$ ). Çözündürme işlemi esnasında donuk et örneklerinde buz kristallerinin parçalanması sonucunda büyük miktarda yağ asidi ağırlık kaybına neden olan suyla birlikte dışarı akar ve yağ asitleri et yüzeyine ulaştığında oksijenle reaksiyona girer. Çözündürme sürecinde, hücre zarı yırtılır ve hem olmayan demir serbest kalır, bu da süperoksit radikalinin daha aktif hidroksil radikaline dönüşmesine, yağ oksidasyonunun yoğunlaşmasına ve TBARS değerinin artmasına neden olan çok sayıda aldehit ve keton üretimine neden olur (Wang vd., 2015). Ultrason işlemi uygulanan et örneklerinde çözündürme sırasında etin yüzeyindeki sıcaklık artışı yağ asitlerinin

oksidasyonunu hızlandırır ve ultrason uygulanan örneklerin daha yüksek TBARS değerine sahip olmasına neden olur (Wang vd., 2023). Buna karşın ultrason genliğinin artması ile çözündürme süresinin kısalması ve dolayısıyla et örneklerinin ultrasona maruz kalma süresinin azalması ile TBARS değerinde bir düşüş gözlenmiştir.

### Renk Değerleri

Dondurma ve çözündürme işlemleri sonrasında et örneklerinde renk değişimleri gözlenmekte ve görülen renk değişimleri miyoglobinin oksidasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca miyoglobinin molekülünün globin kısmının denatürasyonunun; dondurma, dondurarak depolama ve çözündürme sırasında gerçekleştiği bildirilmiştir (Masciheroni vd., 1981). Denatürasyon, miyoglobinin otoksidasyona karşı duyarlılığının artmasına ve ardından tercih edilen renk görünümünün kaybolmasına neden olmaktadır. Farklı dondurma ve çözündürme işlemleri sonrası et örneklerinin hem dondurma/çözündürme işlemleri sonrası hem de pişme işlemi sonrası ölçülen ve hesaplanan renk değerleri Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. Farklı yöntemler kullanılarak donmuş ve çözünmüş dana nuar etinin renk analizi sonuçları  
Table 2. Color analysis results of frozen and thawed beef meat using different methods

Yöntem (Method)		Dondurma İşlemi sonrası (After freezing process)			
		L*	a*	b*	ΔE
Taze Et (Fresh beef)		45.35±1.76	17.53±2.01	15.72±0.95	-
Dondurma Yöntemleri (Freezing Methods)	Statik (Static)	30.43 <sup>a</sup> ±2.14	21.64 <sup>a</sup> ±1.48	12.31 <sup>a</sup> ±1.85	15.80 <sup>a</sup> ±0.02
	%40 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 40% amplitude)	34.04 <sup>bc</sup> ±1.50	20.78 <sup>bc</sup> ±1.89	12.00 <sup>a</sup> ±1.69	10.20 <sup>a</sup> ±2.07
	%70 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 70% amplitude)	35.79 <sup>c</sup> ±2.24	17.68 <sup>a</sup> ±0.69	11.21 <sup>a</sup> ±1.37	12.40 <sup>a</sup> ±1.77
	%100 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 100% amplitude)	30.97 <sup>ab</sup> ±1.28	19.56 <sup>b</sup> ±1.32	11.98 <sup>a</sup> ±1.13	12.50 <sup>a</sup> ±2.75
		Çözündürme İşlemi sonrası (After thawing process)			
Çözündürme Yöntemleri (Thawing Methods)	Statik (Static)	30.44 <sup>a</sup> ±2.14	21.65 <sup>a</sup> ±1.48	12.32 <sup>a</sup> ±1.85	15.80 <sup>b</sup> ±2.00
	Oda Sıcaklığında (Room temperature)	39.64 <sup>b</sup> ±1.41	17.61 <sup>a</sup> ±2.57	12.51 <sup>a</sup> ±0.94	6.60 <sup>a</sup> ±1.54
	Su altında (Under flowing water)	36.15 <sup>b</sup> ±0.58	17.08 <sup>a</sup> ±1.91	10.25 <sup>a</sup> ±1.60	11.50 <sup>ab</sup> ±1.37
	%40 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 40% amplitude)	41.08 <sup>b</sup> ±2.38	16.03 <sup>a</sup> ±3.52	9.37 <sup>a</sup> ±1.40	7.80 <sup>a</sup> ±2.86
	%70 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 70% amplitude)	39.81 <sup>b</sup> ±1.01	20.11 <sup>a</sup> ±0.83	12.74 <sup>a</sup> ±0.85	6.80 <sup>a</sup> ±0.87
	%100 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 100% amplitude)	39.82 <sup>b</sup> ±1.06	18.76 <sup>a</sup> ±3.35	11.79 <sup>a</sup> ±1.63	6.90 <sup>a</sup> ±1.04

Çizelge 2. devam  
Table 2. continue

Yöntem (Method)		Pişirme İşlemi Sonrası (After cooking process)			
		L*	a*	b*	ΔE
Taze Et (Fresh beef)		-	-	-	-
Dondurma Yöntemleri (Freezing Methods)	Statik (Static)	43.74 <sup>ab</sup> ±1.89	7.10 <sup>b</sup> ±0.63	11.80 <sup>a</sup> ±0.01	11.8 <sup>a</sup> ±0.00
	%40 Genlikte Ultrason (Ultrasonnd at 40% amplitude)	44.00 <sup>ab</sup> ±2.81	7.21 <sup>b</sup> ±0.58	12.4 <sup>ab</sup> ±1.930	12.40 <sup>a</sup> ±1.93
	%70 Genlikte Ultrason (Ultrasonnd at 70% amplitude)	45.80 <sup>b</sup> ±2.29	5.16 <sup>a</sup> ±1.20	13.5 <sup>c</sup> ±0.28	13.50 <sup>a</sup> ±0.28
	%100 Genlikte Ultrason (Ultrasonnd at 100% amplitude)	41.63 <sup>a</sup> ±1.87	6.86 <sup>b</sup> ±0.85	13.0 <sup>bc</sup> ±0.82	13.00 <sup>a</sup> ±0.82
		Pişirme İşlemi Sonrası (After cooking process)			
Çözündürme Yöntemleri (Thawing Methods)	Statik (Static)	43.74 <sup>ab</sup> ±1.89	7.10 <sup>a</sup> ±0.63	10.35 <sup>a</sup> ±0.53	11.80 <sup>b</sup> ±1.04
	Oda Sıcaklığında (Room temperature)	45.56 <sup>bc</sup> ±1.37	7.85 <sup>a</sup> ±0.43	14.16 <sup>b</sup> ±0.48	9.80 <sup>b</sup> ±0.46
	Su altında (Under flowing water)	49.42 <sup>bc</sup> ±2.07	6.90 <sup>a</sup> ±0.51	14.13 <sup>b</sup> ±0.43	11.50 <sup>b</sup> ±0.19
	%40 Genlikte Ultrason (Ultrasonnd at 40% amplitude)	45.63 <sup>abc</sup> ±1.39	10.90 <sup>b</sup> ±0.89	12.93 <sup>ab</sup> ±1.64	7.20 <sup>a</sup> ±1.35
	%70 Genlikte Ultrason (Ultrasonnd at 70% amplitude)	41.23 <sup>a</sup> ±1.40	8.06 <sup>a</sup> ±0.35	10.043 <sup>a</sup> ±0.36	11.80 <sup>b</sup> ±0.64
	%100 Genlikte Ultrason (Ultrasonnd at 100% amplitude)	51.32 <sup>c</sup> ±1.55	8.16 <sup>a</sup> ±0.66	12.05 <sup>ab</sup> ±0.60	11.70 <sup>b</sup> ±0.07

\*Veriler ortalama değer  $\pm$  SD (n=2) olarak ifade edildi. Farklı üst simge küçük harf,  $P < 0.05$ 'te önemli farklılıklar göstermektedir.

\*Data were expressed as mean value  $\pm$  SD (n=2). Different superscript lowercase letters indicate significant differences at  $P < 0.05$ .

Farklı dondurma yöntemleri uygulanan örneklerin  $\Delta E$  olarak ifade edilen toplam renk değişimi değerleri incelendiğinde, en az renk değişiminin pişirme öncesi ve sonrası için %40 genlikte ultrason uygulanan örnek ile elde edildiği görülmektedir. Ayrıca  $L^*$  değerinde ultrason uygulanmasıyla artış gözlenmiştir. Bu artışın nedeni, ette miyofibriller protein bozunmasına bağlı olarak meydana gelen yapısal değişiklikler veya serbest su içeriğindeki ve/veya etteki konumundaki değişikliklerle ilişkilendirilmiştir (Balan vd., 2019). Kırmızılık/yeşillik özelliğini gösteren  $a^*$  değerlerine bakıldığında, en yüksek kırmızılık değerine pişirme öncesi ve sonrasında %40 genlikte ultrason uygulamasıyla ulaşılmıştır. Elde edilen  $a^*$  değerleri için %40 ile %100 genlik arasında anlamlı bir fark olmasa da %70 genlikte ultrason uygulaması ile kırmızılık değerinde anlamlı azalma olduğu tespit edilmiştir. Buna göre, %40 genlikte ultrason uygulamasıyla etin renk stabilitesinin bozulmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca ultrason genliği fazla olduğunda  $a^*$  değerinin azalmasının nedeni, farklı dondurma işlemleri sonrası etin dokusal özellikleri

incelendiğinde, miyogloblin ve metmyogloblin renk pigmentlerinin kimyasal yapılarının ultrasonun termal ve akustik etkilerinden dolayı değişebilmesidir (Hughes vd., 2020). Başka bir deyişle, pişirme işlemiyle miyogloblinin metmyoglobline dönüşmesiyle meydana gelen kahverengileşme  $a^*$  değerinde azalmaya neden olmaktadır (Stika vd., 2007). Pişirme öncesi sarılık/mavilik değeri olarak ifade edilen  $b^*$  değerleri arasında anlamlı bir fark olmamasına rağmen ( $P > 0.05$ ), pişirme işlemi sonrası ultrason uygulamasıyla artmış olmasının nedeninin de, yağ oksidasyonu (Çizelge 1) ve protein yapısının bozunması olduğu sonucuna varılmıştır (Farouk ve Swan, 1998).

Farklı çözündürme yöntemleri için toplam renk değişimi değerleri incelendiğinde, en az renk değişimi değeri oda sıcaklığında çözündürme ve ultrason ile çözündürme ile elde edilirken, pişirme işlemi sonrası için örnekler incelendiğinde, %40 genlikte uygulanan ultrason ile en düşük renk kaybı elde edilmiştir. Çözündürme işlemi sonrasında en düşük  $L^*$  değerinin buzdolabında

çözündürme uygulanan örneklerde olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Donmuş et örneklerinin çözündürme işlemi sonrasında, ağırlık kaybına paralel olarak hücrelerdeki su örnek yüzeyine çıkmakta ve bu da et örneğinin  $L^*$  değerlerini arttırmaktadır (Gan vd., 2022). Çözündürme işlemi sonrası örneklerin  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri arasında istatistiksel fark olmadığı saptanmıştır ( $P > 0.05$ ). Pişme işlemi sonrası örneklerin  $a^*$  değerinin gösterdiği kırmızılık/yeşillik değeri incelendiğinde, en yüksek kırmızılık değeri %40 genlikte ultrason uygulanan örnekte saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Et örneklerinde  $a^*$  değerinde değişikliklere neden olan ultrason ile çözündürme için iki potansiyel mekanizma: (1) serbest radikallerin üretimi, oksidasyonu teşvik ederek hem pigmentlerinin kararsızlığına yol açması; (2) miyogloblin ve hemogloblin renk pigmentlerinin kimyasal yapıları, ultrasonun termal ve akustik etkilerinden dolayı değişmesi olarak açıklanabilir

(Hughes vd., 2020). Li vd. (2020b) yaptıkları çalışmada, farklı çözündürme işlemlerinin balık etinin kalitesi üzerine etkisini incelemişler ve ultrason ile çözündürme işlemiyle renk değişimi ( $\Delta E$ ) değerinin daha düşük olduğu diğer bir deyişle et rengini daha iyi koruduğu sonucuna varmışlardır.

#### Dokusal Özellikler

Sertlik, yapışkanlık, çiğnenebilirlik ve esneklik et dokusunun değerlendirilmesi için kullanılan önemli parametrelerdir ancak doku özellikleri arasında sertlik, etin ticari değerini belirlediği için tüketici açısından en önemli olanıdır (Ruiz De Huidobro vd., 2005). Farklı dondurma ve çözündürme yöntemleri uygulanan et örneklerinin dondurma/çözündürme işlemleri sonrası dokusal özellikleri Çizelge 3'te ve pişme işlemleri sonrası dokusal özellikleri Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 3. Farklı yöntemler kullanılarak donmuş ve çözünmüş dana nuar etinin dondurma/çözündürme işlemleri sonrası dokusal özellikleri

Table 3. Beef meat's textural characteristics after freezing and thawing using different methods.

Yöntem (Method)		Dondurma İşlemi sonrası (After freezing process)				
		Sertlik (N) (Hardness (N))	Esneklik (Springiness)	Yapışkanlık (Cohesiveness)	Çiğnenebilirlik (N) (Chewiness (N))	Elastikiyet (Resilience)
Taze Et (Fresh beef)		800.82±22.30	0.72±0.06	0.62±0.09	321.18±11.35	0.32±0.05
Dondurma Yöntemleri (Freezing Methods)	Statik (Static)	976.83 <sup>a</sup> ±136.89	0.72 <sup>a</sup> ±0.06	0.62 <sup>a</sup> ±0.09	502.18 <sup>b</sup> ±21.35	0.32 <sup>a</sup> ±0.05
	%40 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 40% amplitude)	1455.263 <sup>a</sup> ±107.13	0.66 <sup>a</sup> ±0.01	0.60 <sup>a</sup> ±0.02	558.92 <sup>b</sup> ±22.14	0.32 <sup>a</sup> ±0.02
	%70 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 70% amplitude)	1186.28 <sup>a</sup> ±300.76	0.76 <sup>a</sup> ±0.01	0.61 <sup>a</sup> ±0.03	483.65 <sup>b</sup> ±23.41	0.38 <sup>a</sup> ±0.01
	%100 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 100% amplitude)	811.14 <sup>a</sup> ±62.79	0.73 <sup>a</sup> ±0.05	0.61 <sup>a</sup> ±0.03	391.39 <sup>a</sup> ±11.55	0.31 <sup>a</sup> ±0.02
Çözündürme Yöntemleri (Thawing Methods)	Statik (Static)	976.83 <sup>bc</sup> ±136.89	0.72 <sup>a</sup> ±0.06	0.62 <sup>a</sup> ±0.09	502.18 <sup>c</sup> ±21.35	0.32 <sup>a</sup> ±0.06
	Oda Sıcaklığında (Room temperature)	796.44 <sup>b</sup> ±71.58	0.67 <sup>a</sup> ±0.01	0.59 <sup>a</sup> ±0.02	310.03 <sup>b</sup> ±12.62	0.28 <sup>a</sup> ±0.02
	Su altında (Under flowing water)	331.05 <sup>a</sup> ±36.14	0.70 <sup>a</sup> ±0.15	0.61 <sup>a</sup> ±0.02	138.60 <sup>a</sup> ±17.66	0.23 <sup>a</sup> ±0.02
	%40 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 40% amplitude)	1135.04 <sup>c</sup> ±89.87	0.66 <sup>a</sup> ±0.03	0.64 <sup>a</sup> ±0.02	502.56 <sup>c</sup> ±62.39	0.32 <sup>a</sup> ±0.02
	%70 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 70% amplitude)	734.88 <sup>b</sup> ±12.37	0.76 <sup>a</sup> ±0.02	0.61 <sup>a</sup> ±0.02	245.37 <sup>b</sup> ±12.00	0.38 <sup>a</sup> ±0.02
	%100 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 100% amplitude)	433.81 <sup>a</sup> ±32.55	0.73 <sup>a</sup> ±0.05	0.61 <sup>a</sup> ±0.02	140.42 <sup>a</sup> ±6.66	0.31 <sup>a</sup> ±0.01

\*Veriler ortalama değer ± SD (n=5) olarak ifade edildi. Farklı üst simge küçük harf,  $P < 0.05$ 'te önemli farklılıklar göstermektedir.

\*Data were expressed as mean value ± SD (n=5). Different superscript lowercase letters indicate significant differences at  $P < 0.05$ .

Çizelge 4. Farklı dondurma ve çözündürme yöntemleri uygulanan dana nuar eti örneklerinin pişme işlemi sonrası dokusal özellikleri

Table 4. Textural properties of beef meat samples subjected to different freezing and thawing methods after cooking process

Yöntem (Method)		Pişme İşlemi Sonrası (After cooking process)				
		Sertlik (N) (Hardness (N))	Esneklik (Springiness)	Yapışkanlık (Cohesiveness)	Çiğnenebilirlik (N) (Chewiness (N))	Elastikiyet (Resilience)
Dondurma Yöntemleri (Freezing Methods)	Statik (Static)	2457.76 <sup>b</sup> ±23.99	0.57 <sup>a</sup> ±0.02	0.63 <sup>a</sup> ±0.01	881.15 <sup>b</sup> ±52.31	0.27 <sup>a</sup> ±0.01
	%40 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 40% amplitude)	3588.21 <sup>c</sup> ±251.34	0.56 <sup>a</sup> ±0.03	0.62 <sup>a</sup> ±0.00	1138.53 <sup>b</sup> ±113.87	0.27 <sup>a</sup> ±0.01
	%70 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 70% amplitude)	2466.96 <sup>b</sup> ±122.39	0.61 <sup>a</sup> ±0.01	0.65 <sup>a</sup> ±0.02	1071.01 <sup>b</sup> ±147.11	0.30 <sup>b</sup> ±0.01
	%100 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 100% amplitude)	1337.67 <sup>a</sup> ±185.09	0.47 <sup>a</sup> ±0.07	0.60 <sup>a</sup> ±0.01	387.66 <sup>a</sup> ±101.253	0.24 <sup>a</sup> ±0.00
Çözündürme Yöntemleri (Thawing Methods)	Statik (Static)	2457.76 <sup>d</sup> ±24.00	0.57 <sup>b</sup> ±0.02	0.63 <sup>a</sup> ±0.01	881.15 <sup>b</sup> ±52.31	0.27 <sup>ab</sup> ±0.01
	Oda Sıcaklığında (Room temperature)	1545.00 <sup>b</sup> ±108.10	0.49 <sup>a</sup> ±0.01	0.57 <sup>a</sup> ±0.01	364.56 <sup>a</sup> ±24.38	0.20 <sup>a</sup> ±0.01
	Su altında (Under flowing water)	1181.63 <sup>a</sup> ±144.87	0.59 <sup>bc</sup> ±0.02	0.58 <sup>a</sup> ±0.05	345.30 <sup>a</sup> ±86.65	0.26 <sup>ab</sup> ±0.03
	%40 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 40% amplitude)	1315.17 <sup>ab</sup> ±41.30	0.56 <sup>b</sup> ±0.02	0.62 <sup>a</sup> ±0.01	438.73 <sup>a</sup> ±21.78	0.27 <sup>ab</sup> ±0.01
	%70 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 70% amplitude)	1475.48 <sup>b</sup> ±37.22	0.61 <sup>c</sup> ±0.01	0.65 <sup>a</sup> ±0.01	500.58 <sup>a</sup> ±13.25	0.30 <sup>b</sup> ±0.00
	%100 Genlikte Ultrason (Ultrasound at 100% amplitude)	2147.09 <sup>c</sup> ±3.43	0.47 <sup>a</sup> ±0.01	0.60 <sup>a</sup> ±0.01	734.66 <sup>b</sup> ±10.50	0.24 <sup>ab</sup> ±0.01

\*Veriler ortalama değer  $\pm$  SD (n=5) olarak ifade edildi. Farklı üst simge küçük harf,  $P < 0.05$ 'te önemli farklılıklar göstermektedir.

\*Data were expressed as mean value  $\pm$  SD (n=5). Different superscript lowercase letters indicate significant differences at  $P < 0.05$ .

Farklı dondurma işlemleri sonrası etin dokusal özellikleri incelendiğinde, uygulanan ultrason genliği arttıkça sertlik değerindeki azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). İç yapının bozulmasına karşın direnci ifade eden yapışkanlık ve esneklik değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlenmektedir ( $P > 0.05$ ). Bir katıyı yutmaya hazır hale getirmek için gerekli olan çiğneme enerjisini ifade eden çiğnenebilirlik değerinin, sertlik değerine paralel olarak ultrason genliği arttıkça azaldığı gözlenmektedir. Statik dondurma uygulanan örnekler ile %100 genlikte ultrason uygulanan örneklerin çiğnenebilirlik değerleri arasında anlamlı bir fark olduğu görülmektedir ( $P < 0.05$ ). Çeşitli araştırmacılar, 4°C'de etin depolanmasıyla birlikte etin sertliğinin ve çiğnenebilirliğinin azalmasının, miyofibriller proteinlerin proteolizindeki artıştan ve kas bütünlüğünün değişmesinden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir (Ruiz-Ramírez vd., 2006; Wang vd., 2018). %70 genlikte

ultrason işlemiyle etin elastikiyeti artmış olsa da artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Pişmiş örneklerde ise, ultrason uygulamasıyla ve ultrason genliği arttıkça sertliğin istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. Pişirme işlemiyle etin esnekliğindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yapışkanlık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ( $P > 0.05$ ). Çiğnenebilirlik değerlerinin ise sertlik değerine paralel olarak, ultrason genliği arttıkça azaldığı gözlenmektedir. Özellikle, statik dondurma uygulanan örnekler ile %100 genlikte ultrason uygulanan örnekler arasında anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Bir başka önemli dokusal özellik olan elastikiyet değerinin %70 genlikte ultrason işlemiyle arttığı sonucuna varılmıştır ( $P < 0.05$ ).

Dana nuar eti ile gerçekleştirilen çözündürme denemeleri sonucunda örnekler arasında sertlik değerleri incelendiğinde, buzdolabında statik çözündürme işlemi sonucu elde edilen örneklerin,

oda sıcaklığında ve su altında çözündürme yöntemlerinde elde edilenlere kıyasla daha sert olduğu, en düşük sertlik değerinin ise su altında çözündürme yöntemi ile elde edildiği saptanmıştır. Ultrason uygulaması yapılan örneklerde ise ultrason genliği arttıkça sertlik değerinde azalma gözlenmiştir. Li vd. (2020) çalışmalarında, hava ile çözündürmeye kıyasla ultrasonik çözündürme uygulanmış et örneklerinde, sertlik ve çığnenebilirlik değerlerinin azaldığını bildirmişlerdir. Sertlik ve çığnenebilirlik değerlerinin ultrason uygulaması ile azalmasının kas dokusunun tahribatından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Tüm örneklerin esneklik ve yapışkanlık değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ( $P > 0.05$ ). Ultrason işlemiyle etin elastikiyetinin arttığı sonucuna varılmıştır. Çözündürme işlemi sonuçlarına kıyasla pişme işlemi sonrasında sertlik değerlerinde artış gözlenmiştir. Ultrason genliği arttıkça pişmiş örneklerde sertlik değerinde azalma olduğu gözlenmiştir. Bu durumun, ultrason gücü arttıkça ve pişirme işleminde çözündürme işlemine kıyasla daha fazla ağırlık kaybı olmasından kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır. Yapışkanlık değerleri arasında istatistiksel fark saptanmamıştır ( $P > 0.05$ ). Çözündürme sırasında uygulanan ultrason işlemiyle etin elastikiyetinin arttığı sonucuna varılmıştır.

### SONUÇ

Besleyici değeri yüksek olan et ve et ürünlerinin sağlıklı bir diyetle yer alması gereken önemli bir gıda grubunu oluşturduğu, ancak mikrobiyolojik ve enzimatik bozulmaya karşı hassas olması nedeniyle muhafaza edilmesinin büyük bir önem taşıdığı bilinmektedir. Bu çalışmada, dondurma ve çözündürme işlemleri sırasında farklı genliklerde uygulanan ultrason işleminin dana nuarının kalite özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Dondurma işlemi esnasında ultrason uygulamasının dondurma sürelerinde anlamlı azalmaya neden olduğu tespit edilirken; çözündürme sürelerinde buzdolabında çözündürmeye kıyasla kısılma sağlamakla birlikte, uygulanan genliklere bağlı olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Dondurma işlemi sırasında ultrason uygulanan örneklerin ağırlık

kaybı değerleri incelendiğinde, %40 ve %70 genlikte ultrason uygulanan örneklerde ağırlık kaybının azaldığı gözlenmiş olup, çözündürme işlemi sırasında ise ultrason uygulanan örneklerde %100 genlikte ultrason uygulamasının en yüksek ağırlık kaybına neden olduğu saptanmıştır. Farklı dondurma işlemleri uygulanan örneklerin pişme kaybı değerlerinde ultrason genliklerine bağlı olarak önemli bir değişim olmamakla birlikte; farklı çözündürme işlemi uygulanan örneklerde en düşük pişme kaybı değerleri ultrason uygulanan örneklerde saptanmıştır. Farklı dondurma işlemleri uygulanan etlerde protein değerlerinin birbirine yakın olduğu ve birbirleri arasında anlamlı fark olmadığı gözlenirken, TBARS değerlerinde, ultrason uygulamasıyla ve ultrason gücü arttıkça anlamlı bir artış gözlenmiştir. Farklı çözündürme işlemi uygulanan et örneklerinin oksidasyon değerleri incelendiğinde, buzdolabında ve su altında çözündürülen örneklerin TBARS değerlerinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. Dondurma ve çözündürme işlemleri sırasında ultrason uygulanan tüm örneklerin toplam renk değişimi değerleri incelendiğinde, en az renk değişiminin pişirme öncesi ve sonrası için %40 genlikte ultrason ile elde edildiği görülmüştür. Ek olarak, farklı dondurma ve çözündürme işlemleri sonrası etin dokusal özelliklerinden sertliğin ve çığnenebilirliğin ultrason genliği arttıkça azaldığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak, dondurma ve çözündürme işlemlerinde ultrason uygulamasının statik dondurma ve çözündürme işlemlerine kıyasla, dondurma süresini %10 ve çözündürme süresini ise %80 azalttığı belirlenmiştir. Bu çalışma ile dondurma ve çözündürme işlemini hızlandırmak ve gıdaların kalitesini korumak amacıyla uygulanan ultrason işleminin, dana nuar etinin kalite özellikleri üzerine önemli etkilerinin olduğu görülmüştür. Dondurma ve çözündürme işlemleri sırasında ultrason uygulanan tüm örneklerin toplam renk değişimi değerleri 6,60-15,80 aralığında bulunmuştur. Çalışma sonuçlarına göre, dondurma ve çözündürme işlemleri için %100 genlikte ultrason uygulamasının etin kalite özellikleri üzerinde önemli bir avantajı olmadığı gibi enerji tüketimini de arttıracığından

uygulanması uygun bulunmamıştır. Ayrıca, ultrason teknolojisinin dondurma-çözündürme işlemlerine etkisinin daha iyi anlaşılabilir yorumlanabilmesi için ultrasonun farklı genlik, güç ve süreler için daha çok sayıda ve farklı gıdalara uygulanmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP-24168 ve BAP-23504), TÜBİTAK-2244/119C097 ve Vestel Beyaz Eşya San. ve Tic. A.Ş. tarafından desteklenmektedir. Ayrıca çalışma kapsamında hammadde olarak kullanılan dana nuar eti Pınar Entegre Et ve Un Sanayi A.Ş. tarafından desteklenmektedir.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

### YAZAR KATKILARI

Hıra Yüksel SARIOĞLU: Çalışmanın tasarımı, denemelerin ve analizlerin gerçekleştirilmesi, verilerin analiz edilmesi ve raporlanması, makalenin yazma – inceleme ve düzenlenmesi, Özgün KÖPRÜALAN AYDIN: Çalışmanın tasarımı, denemelerin ve analizlerin gerçekleştirilmesi, verilerin analiz edilmesi ve raporlanması, makalenin yazma – inceleme ve düzenlenmesi, Safiye Nur DİRİM: Çalışmanın tasarımı, makalenin yazma, inceleme ve düzenlenmesi, Figen KAYMAK-ERTEKİN: Çalışmanın tasarımı, makalenin yazma, inceleme ve düzenlenmesi konularında katkı sağlamıştır.

### KAYNAKLAR

Anese, M., Manzocco, L., Panozzo, A., Beraldo, P., Foschia, M., Nicoli, M. C. (2012). Effect of radiofrequency assisted freezing on meat microstructure and quality. *Food Research International*, 46(1), 50–54. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.025>

AOAC. (2005). Official Methods of Analysis of AOAC International. *Association of Official Analytical Chemistry International*, February.

Balan, P., Kim, Y. H. B., Stuart, A. D., Kemp, R., Staincliffe, M., Craigie, C., Farouk, M. M. (2019).

Effect of fast freezing then thaw-aging on meat quality attributes of lamb *M. longissimus lumborum*. *Animal Science Journal*, 90(8), 1060–1069. <https://doi.org/10.1111/asj.13216>

Becker, B. R., Fricke, B. A. (1999). Food thermophysical property models. *International Communications in Heat and Mass Transfer*, 26(5), 627–636. [https://doi.org/10.1016/S0735-1933\(99\)00049-4](https://doi.org/10.1016/S0735-1933(99)00049-4)

Bertram, H. C., Kristensen, M., Østdal, H., Baron, C. P., Young, J. F., Andersen, H. J. (2007). Does oxidation affect the water functionality of myofibrillar proteins? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2342–2348. <https://doi.org/10.1021/jf0625353>

Cai, L., Cao, M., Cao, A., Regenstein, J., Li, J., Guan, R. (2018). Ultrasound or microwave vacuum thawing of red seabream (*Pagrus major*) filets. *Ultrasonics Sonochemistry*, 47(March), 122–132. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.05.001>

Cai, L., Cao, M., Regenstein, J., Cao, A. (2019a). Recent Advances in Food Thawing Technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18, 953–970. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12458>

Cai, L., Zhang, W., Cao, A., Cao, M., Li, J. (2019b). Effects of ultrasonics combined with far infrared or microwave thawing on protein denaturation and moisture migration of *Sciaenops ocellatus* (red drum). *Ultrasonics Sonochemistry*, 55(March), 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.03.017>

Cemeroğlu, B. S. (2017). Gıda mühendisliğinde temel işlemler. AC Yayınevi.

Choi, E. J., Park, H. W., Chung, Y. B., Park, S. H., Kim, J. S., Chun, H. H. (2017). Effect of tempering methods on quality changes of pork loin frozen by cryogenic immersion. *Meat Science*, 124, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.003>

Dalvi-Isfahan, M., Hamdami, N., Le-Bail, A. (2017). Effect of freezing under electrostatic field on selected properties of an agar gel. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 42(June),

- 151–156. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.06.013>
- Dalvi-Isfahan, M., Hamdami, N., Le-Bail, A., Xanthakis, E. (2016). The principles of high voltage electric field and its application in food processing: A review. *Food Research International*, 89, 48–62. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.002>
- Demirdöven, A., Baysal, T. (2009). The use of ultrasound and combined technologies in food preservation. *Food Reviews International*, 25(1), 1–11. <https://doi.org/10.1080/87559120802306157>
- Dolatowski, Z. J., Stadnik, J., Stasiak, D. (2007). Applications of ultrasound in food technology. *ACTA Scientiarum Polonorum*, 63(6), 89–99.
- Ergün, A. R., Baysal, T., Bozkır, H. (2013). Ultrases Yöntemi ile Karatenoitlerin Ekstraksiyonu. *Gıda*, 38(4), 239–246. <https://doi.org/10.5505/gida.2013.30074>
- Farouk, M. M., Swan, J. E. (1998). Effect of Muscle Condition Before Freezing and Simulated Chemical Changes During Frozen Storage on the pH and Colour of Beef. *Meat Science*, 50(2), 245–256. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00036-9)
- Gambuteanu, C., Alexe, P. (2015). Comparison of thawing assisted by low-intensity ultrasound on technological properties of pork Longissimus dorsi muscle. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2130–2138. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1204-7>
- Gan, S., Zhang, M., Mujumdar, A. S., Jiang, Q. (2022). Effects of different thawing methods on quality of unfrozen meats. *International Journal of Refrigeration*, 134(December 2021), 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2021.11.030>
- Guo, Z., Ge, X., Yang, L., Ma, G., Ma, J., Yu, Q. li, Han, L. (2021). Ultrasound-assisted thawing of frozen white yak meat: Effects on thawing rate, meat quality, nutrients, and microstructure. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70(1), 105345. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105345>
- Hafezparast-Moadab, N., Hamdami, N., Dalvi-Isfahan, M., Farahnaky, A. (2018). Effects of radiofrequency-assisted freezing on microstructure and quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47(December 2017), 81–87. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.12.012>
- Hansen, E., Juncher, D., Henckel, P., Karlsson, A., Bertelsen, G., Skibsted, L. H. (2004). Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage. *Meat Science*, 68(3), 479–484. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.05.002>
- Hughes, J. M., Clarke, F. M., Purslow, P. P., Warner, R. D. (2020). Meat color is determined not only by chromatic heme pigments but also by the physical structure and achromatic light scattering properties of the muscle. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(1), 44–63. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12509>
- Isleroglu, H., Kemerli, T., Kaymak-Ertekin, F. (2015). Effect of steam-assisted hybrid cooking on textural quality characteristics, cooking loss, and free moisture content of beef. *International Journal of Food Properties*, 18(2), 403–414. <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.833219>
- Jambrak, A. R., Herceg, Z., Šubarić, D., Babić, J., Brnčić, M., Brnčić, S. R., Bosiljkov, T., Čvek, D., Tripalo, B., Gelo, J. (2010). Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydrate Polymers*, 79(1), 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.051>
- Kiani, H., Sun, D. W. (2011). Water crystallization and its importance to freezing of foods: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 22(8), 407–426. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.04.011>
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D. U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science and Technology*, 15(5), 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.001>
- Leygonie, C., Britz, T. J., Hoffman, L. C. (2012). Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*, 91(2), 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.013>



- Li, D., Zhao, H., Muhammad, A. I., Song, L., Guo, M., Liu, D. (2020). The comparison of ultrasound-assisted thawing, air thawing and water immersion thawing on the quality of slow/fast freezing bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets. *Food Chemistry*, 320(February), 126614. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126614>
- Lorimer, J. P., Mason, T. J., Mistry, B. P. (1987). Effect of ultrasound on the solvolysis of 2-chloro-2-methylpropane in aqueous alcoholic solvents. *Ultrasonics*, 25(1), 23–28. [https://doi.org/10.1016/0041-624X\(87\)90006-0](https://doi.org/10.1016/0041-624X(87)90006-0)
- Masciheroni, R.H.;Anon, M.C.; Calvelo, A. (1981). Basis for a method of characterisation for quick frozen beef. *Meat Science*, 5(6), 457–472.
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J. P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3(3). [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(96\)00034-X](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(96)00034-X)
- Phinney, D. M., Frelka, J. C., Wickramasinghe, A., Heldman, D. R. (2017). Effect of Freezing Rate and Microwave Thawing on Texture and Microstructural Properties of Potato (*Solanum tuberosum*). *Journal of Food Science*, 82(4), 933–938. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13690>
- Qiu, L., Zhang, M., Chitrakar, B., Bhandari, B. (2020). Application of power ultrasound in freezing and thawing Processes: Effect on process efficiency and product quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 68(April). <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105230>
- Qiu, S., Cui, F., Wang, J., Zhu, W., Xu, Y., Yi, S., Li, X., Li, J. (2022). Effects of ultrasound-assisted immersion freezing on the muscle quality and myofibrillar protein oxidation and denaturation in *Sciaenops ocellatus*. *Food Chemistry*, 377(October 2021), 131949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131949>
- Ruiz-Ramírez, J., Arnau, J., Serra, X., Gou, P. (2006). Effect of pH24, NaCl content and proteolysis index on the relationship between water content and texture parameters in biceps femoris and semimembranosus muscles in dry-cured ham. *Meat Science*, 72(2), 185–194. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.06.016>
- Ruiz De Huidobro, F., Miguel, E., Blázquez, B., Onega, E. (2005). A comparison between two methods (Warner-Bratzler and texture profile analysis) for testing either raw meat or cooked meat. *Meat Science*, 69(3), 527–536. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.09.008>
- Sastry, S. K., Shen, G. Q., Blaisdell, J. L. (1989). Effect of Ultrasonic Vibration on Fluid-to-Particle Convective Heat Transfer Coefficients. *Journal of Food Science*, 54(1), 229–230. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb08611.x>
- Selani, M. M., Shirado, G. A. N., Margiotta, G. B., Saldaña, E., Spada, F. P., Piedade, S. M. S., Contreras-Castillo, C. J., Canniatti-Brazaca, S. G. (2016). Effects of pineapple byproduct and canola oil as fat replacers on physicochemical and sensory qualities of low-fat beef burger. *Meat Science*, 112, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.10.020>
- Shi, H., Zhang, X., Chen, X., Fang, R., Zou, Y., Wang, D., Xu, W. (2020). How ultrasound combined with potassium alginate marination tenderizes old chicken breast meat: Possible mechanisms from tissue to protein. *Food Chemistry*, 328(May), 127144. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127144>
- Shim, K. B., Hong, G. P., Choi, M. J., Min, S. G. (2009). Effect of high pressure freezing and thawing process on the physical properties of pork. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 29(6), 736–742. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2009.29.6.736>
- Stika, J. F., Xiong, Y. L., Suman, S. P., Blanchard, S. P., Moody, W. G. (2007). Frozen storage stability of antioxidant-treated raw restructured beef steaks made from mature cows. *Meat Science*, 77(4), 562–569. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.005>
- Sun, Q., Sun, F., Xia, X., Xu, H., Kong, B. (2019a). The comparison of ultrasound-assisted immersion freezing, air freezing and immersion freezing on the muscle quality and physicochemical properties of common carp

- (*Cyprinus carpio*) during freezing storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 51(October 2018), 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.10.006>
- Sun, Q., Zhao, X., Zhang, C., Xia, X., Sun, F., Kong, B. (2019b). Ultrasound-assisted immersion freezing accelerates the freezing process and improves the quality of common carp (*Cyprinus carpio*) at different power levels. *Lwt*, 108(December 2018), 106–112. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.042>
- Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T., Dugan, L. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 37(1), 44–48. <https://doi.org/10.1007/BF02630824>
- Wang, A., Kang, D., Zhang, W., Zhang, C., Zou, Y., Zhou, G. (2018). Changes in calpain activity, protein degradation and microstructure of beef *M. semitendinosus* by the application of ultrasound. *Food Chemistry*, 245(November 2017), 724–730. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.003>
- Wang, B., Du, X., Kong, B., Liu, Q., Li, F., Pan, N., Xia, X., Zhang, D. (2020). Effect of ultrasound thawing, vacuum thawing, and microwave thawing on gelling properties of protein from porcine longissimus dorsi. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64(November 2019), 104860. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104860>
- Wang, H., Luo, Y., Shi, C., Shen, H. (2015). Effect of different thawing methods and multiple freeze-thaw cycles on the quality of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 24(2), 153–162. <https://doi.org/10.1080/10498850.2013.763884>
- Wang, Y. Y., Wang, H., Zhou, F., Wu, Y., Ma, H., Zhao, R., He, J., Gu, Z. (2023). Effect of ultrasonic thawing temperature on the quality of quick-frozen small yellow croaker (*Larimichthys polyactis*) and its possible mechanisms. *Lwt*, 179(March), 114620. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114620>
- Xanthakis, E., Le-Bail, A., Ramaswamy, H. (2014). Development of an innovative microwave assisted food freezing process. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 26, 176–181. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.04.003>
- Xin, Y., Zhang, M., Xu, B., Adhikari, B., Sun, J. (2015). Research trends in selected blanching pretreatments and quick freezing technologies as applied in fruits and vegetables: A review. *International Journal of Refrigeration*, 57, 11–25. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2015.04.015>
- Xu, D., Wang, Y., Jiao, N., Qiu, K., Zhang, X., Wang, L., Wang, L., Yin, J. (2020). The coordination of dietary valine and isoleucine on water holding capacity, pH value and protein solubility of fresh meat in finishing pigs. *Meat Science*, 163(November 2019), 108074. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108074>
- You, Y., Kang, T., Jun, S. (2021). Control of Ice Nucleation for Subzero Food Preservation. *Food Engineering Reviews*, 13(1), 15–35. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09211-6>
- Zhang, M., Haili, N., Chen, Q., Xia, X., & Kong, B. (2018). Influence of ultrasound-assisted immersion freezing on the freezing rate and quality of porcine longissimus muscles. *Meat Science*, 136, 1–8.
- Zhang, C., Sun, Q., Chen, Q., Kong, B., Diao, X. (2020). Effects of ultrasound-assisted immersion freezing on the muscle quality and physicochemical properties of chicken breast. *International Journal of Refrigeration*, 117, 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2020.05.006>
- Zheng, L., Sun, D. W. (2006). Innovative applications of power ultrasound during food freezing processes - A review. *Trends in Food Science and Technology*, 17(1), 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.08.010>

## BEZELYE KABUK PROTEİN KONSANTRATININ GIDA BİLEŞENİ OLARAK SUCUK ÜRETİMİNDE KULLANIMI

Semanur Yıldız<sup>1,2</sup>, Oktay Yemiş<sup>\*1,2</sup>

<sup>1</sup> Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sakarya, Türkiye

<sup>2</sup> Sakarya Üniversitesi Araştırma ve Geliştirme Merkezi (SARGEM), Sakarya, Türkiye

Geliş/Received: 20.08.2023; Kabul /Accepted: 07.02.2024; Online baskı /Published online: 09.02.2024

Yıldız, S., Yemiş, O. (2024). Bezelye kabuk protein konsantratının gıda bileşeni olarak sucuk üretiminde kullanımı. GIDA (2024) 49 (1) 160-178 doi: 10.15237/ gida.GD23095

Yıldız, S., Yemiş, O. (2024). Utilization of pea pod protein concentrate as a food ingredient in fermented sausage production (sucuk). GIDA (2024) 49 (1) 160-178 doi: 10.15237/ gida.GD23095

### ÖZ

Bu çalışmada, tarımsal bir yan ürün olan bezelye kabuklarından geleneksel alkali ekstraksiyon-izoelektrik noktada çöktürme tekniği ile %70 protein içeriğine sahip toz formda protein konsantratı (BKPK-N) üretilmiştir. Doğal haldeki bu protein konsantratı (BKPK-N) emülsiyon aktivitesini maksimize edilecek şekilde ultrases homojenizasyonu uygulanarak modifiye bezelye kabuk proteini konsantratına (BKPK-US) dönüştürülmüştür. Elde edilen hem doğal (BKPK-N) hem de modifiye protein konsantratları (BKPK-US) sucuğa %1 konsantrasyonlarında eklenerek, hem fermantasyon-kurutma (6 gün) hem de depolama (5 ay) sırasında lipit oksidasyonu üzerine etkileri incelenmiştir. Her üç uygulamada da hedeflenen pH değerine fermantasyonun 2. gününün sonunda ulaşıırken, hedeflenen nem (<%40) ve nem/protein (<2.5) değerlerine 6. günün sonunda erişilmiştir. Fermantasyon-kurutma sonunda, tüm sucuk örneklerinin (kontrol, BKPK-N ve BKPK-US) peroksit, TBARS ve karbonil değerlerinde istatistiksel olarak farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). Fermantasyon-kurutma sonrası depolama başlangıcında gerçekleştirilen duyu analize, BKPK-N ve BKPK-US eklenmiş çiğ sucuk örnekleri kontrole yakın bir beğeni puanı alırken, pişmiş haldeki sucuk örneklerinde BKPK-US eklenmiş sucuklar daha fazla beğenilmiştir. Depolama sürecinde ise, ilk 1 ay içerisinde tüm sucuk örneklerinin peroksit değerlerinde artışlar saptanmıştır. Bu artış en fazla BKPK-US katılmış sucuk örneklerinde gerçekleşmiş, ancak 3. ayın sonunda tüm sucuk örneklerinde birincil oksidasyon ürünlerinin parçalanmıştır. Peroksit değerlerindeki bu azalışa karşın, TBARS değerlerinde paralel artışlar gözlenmemiştir. Depolama boyunca elde edilen karbonil sonuçları, eklenen protein konsantratlarının (BKPK-N ve BKPK-US) kontrol örneklerine kıyasla mevcut protein oksidasyonuna ek olarak kısmi artışlara neden olabileceği, ancak bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığını ortaya koymuştur. Genel anlamda, bezelye kabuk protein konsantratlarının sucuk üretiminde kullanımının hem 6 günlük fermantasyon-kurutma hem de 5 aylık depolama periyodu boyunca oksidatif stabilite üzerine herhangi bir katkısının olmadığı tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Bezelye kabuk proteini, sucuk, oksidatif stabilite, bitkisel protein, ultrases, protein modifikasyonu, gıda bileşeni

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding Author

✉: oktayyemis@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 3192

☎: (+90) 264 295 5601

Oktay Yemiş; ORCID no: 0000-0002-7461-5185

Semanur Yıldız; ORCID no: 0000-0002-1845-7813

## UTILIZATION OF PEA POD PROTEIN CONCENTRATE AS A FOOD INGREDIENT IN FERMENTED SAUSAGE PRODUCTION (SUCUK)

### ABSTRACT

In this study, pea pod protein concentrate (PPPC-N) with 70% protein content was produced from pea pods, which is an agricultural by-product, by conventional alkaline extraction-isoelectric point precipitation technique. This native protein concentrate (PPPC-N) was converted into modified pea pod protein concentrate (PPPC-US) by applying ultrasound homogenization to maximize emulsion activity. Both native (PPPC-N) and modified protein concentrates (PPPC-US) obtained were incorporated into fermented sausage (sucuk) at 1% concentrations, and their effects on lipid oxidation during both fermentation (6 days) and storage (5 months) were investigated. For all treatments, the targeted pH value was reached at the end of 2 days, whereas the critical ratio of water content/ protein content (<2.5) and water content (<40%) values were reached at the end of 6 days. At the end of the fermentation-drying process, it was determined that there was no statistical difference among sausage samples ( $P > 0.05$ ). The sensory analysis revealed that the uncooked sausage samples with the addition of BKPK-N and BKPK-US had a high score compared to the control, while the cooked sausage samples with the addition of BKPK-US had the highest score. The increases were observed in the peroxide values of all sausage samples within the first month of storage. This increase was highest in sausage samples with BKPK-US added, but the primary oxidation products were degraded in all sausage samples at the end of the 3rd month. Despite this decrease in peroxide values, no parallel increases were observed in TBARS values. Carbonyl results obtained during storage revealed that PPPC-N and PPPC-US treatments could cause additional increases in protein oxidation present compared to control samples, but this increase was not statistically significant. In general, it was determined that the incorporation of PPPC-N and PPPC-US into sausage production did not contribute to oxidative stability during both the 6-day fermentation-drying and 5-month storage period.

**Keywords:** Pea pod protein, fermented sausage (sucuk), oxidative stability, plant protein, ultrasound, protein modification, food ingredient

### GİRİŞ

Tarımsal ürünlerin işlenmesi ile açığa çıkan atık veya yan ürünler hem hidrofilik hem de lipofilik nitelikteki birçok gıda bileşenini bir karışım halinde aynı anda yapılarında barındırmaya devam eden kompleks biyolojik materyallerdir. Gıda maddelerinin ana bileşim unsurlarından olan ve insan beslenmesinde çok önemli rol oynayan proteinler, geniş aralıklarda molekül ağırlıklarına sahip makromoleküllerdir. Proteinlerin sahip oldukları özellikler zincir uzunlukları, dallanmaları, elastikiyetleri, hidrofobisiteri, sahip oldukları yükler, zincir üzerinde yer alan monomerlerin sayısı, tipi, sıralanışı ve bağlanma şekli ile ilişkilidir. Proteinler hem yüksek molekül ağırlıkları hem de yoğun bir şekilde hidrofilik grup (-OH ve -COOH) barındırmalarından dolayı birçok fonksiyonel özelliğe sahiptirler. Proteinler beslenme değerinin yanı sıra sahip oldukları emülsiyon, jel ve köpük oluşturma; su, yağ ve aroma bağlama; viskozite artırma gibi fonksiyonel

özellikleriyle hem gıda hem de ilaç endüstrisinde bileşen olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadırlar. Özellikle emülsiyon tipi işlenmiş gıdalarda tekstür ve emülsiyon stabilitesi çok kritik olup, proteinler bu özelliklerin ürüne kazandırılmasında önemli rollere sahiptir. Bu makromoleküllerin fiziksel, kimyasal veya enzimatik uygulamalara maruz kalması onların konformasyonunu, yüzey özelliklerini ve sahip oldukları fonksiyonel özelliklerini değiştirebilmekte (Foegeding ve Davis, 2011; Foegeding, 2015; Kumar vd., 2022) ve dolayısıyla son ürünün kalite özelliklerine yön verebilmektedir.

Dünya nüfusu ve beslenme alışkanlıklarındaki değişimler, protein kaynağı olarak özellikle yenilenebilir nitelikteki 'bitkisel proteinleri' gündeme getirmiştir. Bitkisel üretim veya işleme sırasında oluşan yan ürünlerden yağlı tohum küspeleri (ay çekirdeği, fındık, kolza vb. küspeler)

ve baklagil kabukları (bezelye kabukları) dikkate değer miktarda protein barındırmaktadır (İsmail vd., 2020). Bu nedenle bugün gelinen noktada, sürdürülebilir kaynaklardan yeni protein elde edilmesi veya mevcut proteinlerin kullanım amacına göre fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesi çok büyük önem taşımaktadır. Bitkisel kaynaklardan elde edilen proteinlerin gıda endüstrisinde emülsiyonların hazırlanmasında gıda bileşeni olarak kullanımı her geçen gün artmaktadır. Artan dünya nüfusu, vejetaryenlik ve bitkisel proteinlere dayalı beslenme tercihleri, hayvansal proteinlere ve gıda katkı maddelerine karşı oluşan negatif algı, gıdaların fonksiyonel özelliklerinin geliştirme ihtiyacı sebebiyle gıda endüstrisi sürdürülebilir ve ucuz nitelikte yeni alternatif protein kaynaklarına yönelmiştir. Günümüzde gıda endüstrisi soya proteinlerini değerlendirerek birçok gıda maddesinin üretiminde bitkisel protein kaynağı olarak kullanmaktadır. Ancak protein içeren diğer tarımsal atık ve yan ürünler değerlendirilmemektedir. Nüfus, gelir, beslenme rejimi gibi değişen yaşam koşulları ve buna karşılık sahip olunan kaynaklar göz önünde bulundurulduğunda sürdürülebilir alternatif kaynaklardan düşük maliyetli bitkisel proteinlerin üretimine ya da mevcut kullanımda olan endüstriyel nitelikteki proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Akhamure vd., 2020).

Proteinlerin içerdikleri aminoasitlerin yan zincirlerindeki fonksiyonel gruplardan kaynaklanan antioksidan aktiviteleri iyi bilinmektedir. Nitekim proteinlerin içerdiği tirozin, fenilalanin, triptofan gibi aromatik aminoasitlerin, sistein gibi sülfür içeren aminoasitlerin ve histidin gibi bazik aminoasitlerin yan zincirlerinde yer alan aktif grupların serbest radikallere proton verme yeteneklerinden kaynaklanan antioksidan aktiviteleri bulunmaktadır. Yine proteinlerin yapısında yer alan lizin, arginin ve histidin gibi bazik nitelikteki aminoasitlerle aspartat ve glutamat gibi asidik nitelikteki aminoasitler ise yan zincirleri metal iyonları ile çelat oluşturma özelliklerinden kaynaklanan bir antioksidan aktivite

göstermektedir (Rajapakse vd., 2005; Hu vd., 2003; Arcan ve Yemenicioğlu, 2007).

Sucuk, ülkemizde işlenmiş kırmızı et ürünleri içerisinde en fazla talep gören ve tüketilen gıda maddesidir. Sucuk üretimi temelde fermantasyon ve kurutma (olgunlaştırma) işlemine dayalı ısıl işlemin uygulanmadığı bir prosestir (Kaban, 2013). Ancak son yıllarda, klasik fermantasyon-kurutmaya dayalı olan ısıl işlem görmemiş sucuk üretim tekniği, uzun sürmesi ve başlangıç et kalitesinin mikrobiyolojik açıdan düşük olmasına bağlı olarak üründe mikrobiyolojik bozulmaların görülebilmesi sebebiyle daha az tercih edilen bir üretim yöntemi haline gelmiştir. Buna karşın et endüstrisi günümüzde çoğunlukla 8–12 saatlik bir fermantasyon sonrasında sucukların merkez sıcaklığının 72–74°C'ye kadar ısıtıldığı ve belli bir süre bu sıcaklıkta tutulduğu ısıl işlemi tercih etmektedir. Böylece, çok daha kısa sürede ve kayıpsız olarak sucuk üretimi yapılabilmektedir (Ercoskun, 2006). Fermente et ürünlerinde görülen oksidasyon reaksiyonları, oksidasyonun derecesine bağlı olarak ılımlı bir oksidasyon gerçekleştiğinde ilgili ürünün tipik aroma bileşiklerinin oluşumundan sorumludur (Toldra, 1998; Pateiro vd., 2015). Ancak, bu oksidasyon reaksiyonları ileri bir seviyede gerçekleşme durumunda ise ürünün rengine, tekstürüne, besinsel değerine, istenmeyen ransit tat ve aroma bileşiklerinin oluşumu ile lezzetine etki ederek ciddi kalite kayıplarına neden olabilir (Gray vd., 1996; Domínguez vd., 2019).

Tarımsal bir yan ürün olan bezelye kabuğunun değerlendirilerek bitkisel protein üretimi için kullanılmasına yönelik olarak yapılan güncel bir çalışmada farklı ekstraksiyon teknikleri uygulanmış ve protein konsantratu üretilme potansiyeli ele alınmıştır (Karabulut vd., 2023). Bu çalışmanın amacı ise, bezelye kabuklarından elde edilen bitkisel protein konsantratlarının hem doğal hem de ultrases prosesiyle fonksiyonel özellikler açısından modifiye edilmiş formlarının sucuğa eklenerek fermantasyon-kurutma ve depolama süreçlerinde fermente et ürünlerinde en sık görülen ve kalite kaybına neden olan oksidatif acılaşıma reaksiyonlarına karşı önleyici bir katkısının olup olmayacağına irdelenmesidir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Araştırmada materyal olarak kullanılan bezelye kabukları, Sakarya ili semt pazarından satın alınan Araka çeşidi bezelyelerden elle ayıklanarak elde edilmiştir. Sucuk üretiminde kullanılan et karkasın döş kısmından, yağ ise kabuk yağı olarak yerel bir kasaptan temin edilmiştir. Kullanılan baharatlar (kırmızı toz biber, karabiber, kimyon ve sarımsak tozu) Bağdat Baharat A.Ş. (Ankara) firmasından satın alınmıştır. Starter kültür olarak, İnnovatif Biyoteknoloji (İstanbul) firmasından hibe edilen *Latilactobacillus sakei* ve *Staphylococcus carnosus* mikroorganizmalarından oluşan karışım kullanılmıştır.

### Protein konsantratu üretimi

*Geleneksel alkali ekstraksiyon / izoelektrik çöktürme*  
Elle ayıklanarak elde edilen bezelye kabukları, 45°C'de fanlı (1.5 m/s) bir kurutma sisteminde (Eksis, Türkiye) nem içeriği %10'un altına düşüncüye kadar 4 saat süreyle kurutulmuştur. Kurutulan bezelye kabukları (5 kg) laboratuvar tipi bir bitki değirmeni (Lavion, HC-500Y) yardımı ile 26000 rpm hızda 1 dakika süre ile öğütülmüştür. Öğütme sırasında sıcaklığın 50°C seviyesini aşmamasına dikkat edilmiştir. Elde edilen toz materyal 850 µm gözenek boyutuna sahip bir elek yardımı ile elenerek homojen bir kitle haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bezelye kabuklarının öncelikle yapısında yer alan klorofil ve mumsu yapıdaki lipit türevleri gibi safsızlık unsurları aseton ile muamele edilerek uzaklaştırılmıştır. Bu amaçla toz materyal soğuk aseton ile 1:2 (katı:sıvı) oranında karıştırılarak bir manyetik karıştırıcı yardımı ile 600 rpm'de 3 dakika süre ile muamele edilmiştir. Bu sürenin sonunda elde edilen kitle Buchner hunisi yardımı ile Whatman 1 nolu filtreden vakum altında filtre edilmiştir. Filtre üzerindeki kalıntıya bu işlem 1:1 oranında olacak şekilde 2 kez daha tekrarlanmıştır. Bu işlemler sonunda elde edilen kalıntı 1 gece oda sıcaklığında bırakılarak tüm aseton uzaklaştırılmıştır. Böylece safsızlık unsurları elemine edilmiş "yağsız bezelye kabuk tozu" elde edilmiştir.

Yağsız kabuk tozu katı:sıvı oranı 1:20 olacak şekilde bir cam behere tartılmış ve üzerine saf su ilave edilmiştir. Bu süspansiyon 1 gece oda

sıcaklığında 500 rpm'de manyetik karıştırıcı kullanılarak rehidrasyona bırakılmıştır. Rehidrasyona tabi tutulan örnekler yüksek devirli bir homojenizatör (ULTRA-TURRAX® T25, IKA, Almanya) yardımı ile 20.000 rpm'de 2 dakika homojenize edilmiştir. Elde edilen homojen süspansiyonun pH'sı 2 N NaOH ile 10'a ayarlanmış ve 30 dakika boyunca bu sabit pH altında manyetik karıştırıcı yardımıyla 750 rpm'de alkali ortamda proteinler ekstrakte edilmiştir. Alkali süspansiyon 10.000 rpm'de +4°C'de 20 dakika süreyle santrifüjlenerek (Beckman Coulter Inc., Allegra 64R, Indianapolis, IN, ABD) elde edilen supernatantlar Whatman 1 no'lu filtreden filtre edilerek berrak ekstrakt-1 elde edilmiştir. 1. Ekstraksiyon sonunda santrifüj sonrası kalan kalıntıya bu sefer 1:15 oranında distile su ilave edilmiş ve yine pH 10'da 30 dakika ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Bu 2. ekstraksiyon aynı koşullarda santrifüjlenerek süpernatant filtre edilmiştir (ekstrakt-2). Filtre edilmiş berrak ekstrakt-1 ve ekstrakt-2 birleştirilmiş, 2 N HCl ile ekstraktların pH'sı 10'dan izoelektrik nokta olan 3.55'e getirilmiş ve akabinde 15.500 rpm'de +4°C'de 20 dakika süreyle santrifüjlenerek protein peletleri elde edilmiştir. Elde edilen peletlerin protein içeriğinin ancak %50 seviyesinde olduğu tespit edilmiştir. Peletlerdeki safsızlık unsurlarını uzaklaştırıp protein içeriğini artırmak için peletlere yıkama işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla elde edilen peletler su içerisinde (pH 10) tamamen çözündürüldükten sonra, bu alkali protein çözeltisinin pH'sı tekrar izoelektrik noktaya (3.55) getirilerek proteinler bir kez daha çöktürülmüştür. Yıkama işlemi ile safsızlıkları kısmen giderilmiş protein peletleri 0.01 N NaOH ile pH 7.0'ye getirilmiş ve dondurarak kurutulduktan (Labconco, Freezone, Kansas, ABD) sonra toz haline getirilmiştir. Elde edilen toz ürün Kjeldahl protein tayini yöntemine göre analiz edilerek protein içeriği %70 olarak belirlenmiştir. Doğal formdaki bezelye kabuk protein konsantratu (BKPK-N) olarak adlandırılan bu gıda bileşenin antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile  $12.1 \pm 0.1 \mu\text{M}$  Trolox/g olarak saptanmıştır.

### *Ultrases homojenizasyonu ile protein modifikasyonu*

Üretilen BKPK ile %1 konsantrasyonda sulu protein dispersiyonu hazırlanmış ve 25°C

sıcaklıkta 30 dk süreyle rehidrasyona bırakılmıştır. Süre sonunda protein dispersiyonu su sirkülatörü (Scientz, DC2006, Ningbo, Çin) bağlanmış olan çift cidarlı örnek kabına aktarılmış ve 1.3 cm çaplı probu olan ultrasones homojenizasyon sistemi (Sonics, VCX750, Newtown, ABD) kullanılarak proteinler modifikasyon işlemine tabi tutulmuştur. Su sirkülatörü 20°C sıcaklığa ayarlanmış olup ultrasonikasyon sırasında sıcaklık kontrolünün yapılması hedeflenmiştir. Ultrasones homojenizasyonu daha önceden yapılmış olan optimizasyon çalışmaları esas alınarak BKPK'nın emülsiyon oluşturma aktivitesini maksimize edecek koşullar altında (%80 genlik, 11 dakika, %1 protein konsantrasyonu) uygulanmıştır. Ultrasones homojenizasyonu sonrasında protein dispersiyonları -25°C'de dondurulmuş ve daha sonra bir liyofilizatör (Labconco, Freezone, Kansas, ABD) yardımı ile dondurularak kurutulmuştur. Toz formda elde edilen ürün ultrasones ile modifiye edilmiş bezelye kabuk protein konsantratu (BKPK-US) olarak adlandırılmış ve antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile  $14.2 \pm 0.4$  µM Trolox/g olarak saptanmıştır.

### Sucuk üretimi

Sucuk üretiminde kontrol (K, protein konsantratu eklenmemiş), %1 oranında ultrasones uygulanmamış bezelye kabuk protein konsantratu (BKPK-N) ve %1 oranında ultrasones uygulanmış bezelye kabuk protein konsantratu (BKPK-US) olmak üzere üç farklı uygulama yapılmıştır. Sucuk hamuru hazırlanmasında Çizelge 1'de verilen bileşenler

kullanılmıştır. Et ve yağ kıyma makinasından çekildikten sonra ilgili bileşenler eklenerek sucuk hamuru yoğrulmuş ve 12 saat süre ile +4°C'de bekletilmiştir. Bu süre sonunda, %0.2 oranında *Lactobacillus sakei* ve *Staphylococcus carnosus* mikroorganizmalarından oluşan kokteyl starter (İnnovatif Biyoteknoloji, İstanbul) eklenerek tekrar yoğrulmuştur. Starteri eklenmiş sucuk hamuru, sığır bağırsağından üretilmiş doğal kılıflara (40 mm çap) hava boşluğu kalmayacak şekilde yaklaşık 150 g dolum gerçekleştirilmiştir. Doğal kılıflar dolum öncesinde %5'lik laktik asit çözeltisinde bekletilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. Doldurulmuş sucuk örnekleri 6 gün süre ile sabit 20°C sıcaklık altında 1. gün %90–95, 2. gün %85–95, 3. gün %80–85, 4. gün %75–80, 5. gün %70–75 ve 6. gün %65–70 nem koşullarında fermantasyon-kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla, sabit hava sirkülasyon hızına sahip 250 litrelik bir soğutmalı inkübatör (Daihan Scientific, IR-250, Kore) ile ortam nemini istenen düzeye getirip burada sabit tutabilecek bir otomatik buhar makinası (Weewell WHC740, Almanya) kullanılmıştır. Fermantasyon-kurutma boyunca sucuk örneklerinde her gün hem pH hem de nem içeriği takip edilmiş, üretimin başında ve sonunda oksidasyon testleri (peroksit, TBARS ve karbonil sayısı) gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon-kurutma işlemi tamamlanan sucuk örnekleri polietilen poşetlere konularak +5°C'de 5 ay boyunca depolanmış ve her ay oksidasyon testleri yapılmıştır.

Çizelge 1. Sucuk üretiminde kullanılan bileşenler ve miktarları

Table 1. Ingredients used in fermented sausage production (sucuk)

Bileşenler <i>Ingredients</i>	Miktarı (g) <i>Amount (g)</i>
Yağsız et ( <i>Ground lean beef</i> )	800
Kabuk yağı ( <i>Tallow fat</i> )	200
Tuz ( <i>Salt</i> )	20
Sakkaroz ( <i>Sucrose</i> )	2
Sarımsak tozu ( <i>Garlic powder</i> )	4
Kırmızı toz biber ( <i>Red pepper powder</i> )	7
Karabiber ( <i>Black pepper powder</i> )	5
Kimyon ( <i>Cumin</i> )	9
Sodyum nitrit ( <i>Sodium nitrite</i> )	0.15
Starter ( <i>Starter culture</i> )	0.2
Bezelye kabuğu protein konsantratu (BKPK) <i>Pea pod protein concentrate (PPPC)</i>	1

### Oksidatif stabilitenin belirlenmesi

#### Peroksit sayısı

Bu analiz sucuk örneklerinde birincil oksidasyon ürünlerini (hidroperoksitler) belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla ilk önce yağ ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. 10 g sucuk örneği 100 mL metanol:kloroform (1:2) ile waring blender yardımı ile 2 dakika süreyle orta hızda homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat direkt olarak kaba filtre yardımı ile bir ayırma hunisine süzülmiştir. Süzüntünün üzerine 20 mL CaCl<sub>2</sub> (%0.4) eklenerek karıştırılmış ve 2 saat süre yağ fazının ayrılması için bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda alttaki yağ fazı direkt olarak rotary balonuna aktarılmış ve bir rotary evaporatör (Buchi R114, İsviçre) yardımı ile çözücü uzaklaştırılarak yağ elde edilmiştir. Elde edilen yağdan 1-2 g arasında bir örnek erlen-mayere tartılmış ve üzerine 30 mL asetik asit:kloroform (3:2) çözeltisi eklenerek çözündürülmüştür. 1 mL doymuş potasyum iyodür (KI) çözeltisi eklenerek 5 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda, 100 mL distile su ve 1 mL nişasta çözeltisi eklenerek karıştırılmış ve 0.01 N sodyum-tiyo sülfat (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) çözeltisi ile titre edilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki eşitlik yardımı ile hesaplanmış ve meq O<sub>2</sub>/kg yağ üzerinde verilmiştir (AOAC, 1995).

$$\text{Peroksit sayısı} = [(S - B) \times N \times 1000] / W$$

(Eşitlik-1)

S: Titrasyonda harcanan tiyosülfat (mL)

B: Kör için harcanan tiyosülfat (mL)

N: Tiyosülfat çözeltisinin normalitesi (mL)

W: Örnek Ağırlığı (kg)

#### Tiyobarbitürikasit (TBARS) sayısı

10 g sucuk örneği 50 mL %7.5'lük TCA (Trikloroasetik asit) çözeltisi içerisinde bir waring blender yardımı ile orta hızda 2 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat Whatman No:4 filtre yardımı ile süzülüdür. Berrak süzüntünden 5 mL bir test tüpüne aktarılmış ve üzerine 5 mL 0.02 M TBA (Tiyobarbitürik asit) çözeltisi eklenmiştir. Bu karışım 100°C'de 35 dakika ısı işlem uygulandıktan sonra, karışım hızla soğutulup 532 nm'de spektrofotometre (UVmini-1240, Shimadzu, Japonya) yardımı ile absorbans değeri belirlenmiştir. Sonuçlar TEP (1,1,3,3-

tetraethoxypropane) ayırıcı kullanılarak oluşturulan kurve yardımı ile mg malonaldehit (MA)/kg sucuk olarak ifade edilmiştir (Mielnik vd., 2006).

#### Karbonil sayısı

Bu analiz protein oksidasyon düzeyini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Lipid oksidasyonun son basamaktaki ürünleri ile bazı aminoasitler arasındaki etkileşim sonucu protein oksidasyonu gerçekleşmekte ve pek çok karbonil türevi oluşmaktadır. Bu amaçla Oliver vd. (1987) tarafından önerilen 2,4-DNPH indikatörünün kullanıldığı spektrofotometrik yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu analiz yönteminde, 5 g sucuk örneği 50 mL KCl (0.15 M) çözeltisi ile waring blender yardımı ile 2 dakika orta hızda homojenize edilmiştir. Bu homojenattan P (protein analizi için) ve C (karbonil analizi için) tüpü olarak kodlanmış test tüplerine 300 µL aktarılmış ve bu tüplere 3 mL %10'luk TCA (Trikloroasetik asit) çözeltisi eklenmiştir. Tüpler +4°C'de 5000 rpm'de 5 dakika süre bir santrifüj (Hettich 320 R, Almanya) yardımı ile santrifüjlenmiştir.

Supernatantlar uzaklaştırıldıktan sonra, protein konsantrasyonunu belirlemek amacıyla P tüpündeki kalıntı üzerine 3 mL 2 N HCl eklenmiştir. Karbonil miktarını belirlemek için ise, C tüpündeki kalıntı üzerine ise 3 mL 2 N HCl içerisinde hazırlanmış %0.2'lik DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazin) çözeltisi eklenmiştir. Tüpler oda sıcaklığında 1 saat süre ile inkübe edilmiş, daha sonra her iki tüpe de 3 mL %10'luk TCA çözeltisi eklenmiştir. Tüpler karıştırılıp +4°C'de 9000 rpm'de 5 dakika süre santrifüjlenip supernatantlar uzaklaştırılmıştır. Elde edilen peletlerdeki DNPH'ın fazlasının uzaklaştırılması amacıyla 3 mL etanol:etil asetat (1:1) karışımı eklenmiş ve +4°C'de 9000 rpm'de 2 dakika süre santrifüjlenmiştir. Supernatant atıldıktan sonra pelet bu şekilde iki kez daha aynı solvent karışımı ile yıkanmıştır. Daha sonra peletler azot gazı altında kurutulmuş ve üzerlerine 3 mL guanidin-HCl (6 M) çözeltisi eklenerek çözündürülmüştür. Tüp içerikleri, +4°C'de 9000 rpm'de 5 dakika süre santrifüjlenip elde edilen berrak çözeltiler protein analizi için 280 nm'de ve karbonil analizi için ise 370 nm'de spektrofotometrede okunmuştur.



Protein konsantrasyonunu belirlemek için standart BSA (Bovine Serum Albumine) proteininden oluşturulmuş kalibrasyon kurvesi kullanılmıştır. Hesaplama ekstinksiyon katsayısı ( $E_c$ )  $22000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  değeri kullanılmış ve sonuçlar nmol/mg protein üzerinden ifade edilmiştir.

### Duyusal değerlendirme

Duyusal değerlendirme, fermantasyon-kurutma işlemini tamamlamış üç grup sucuk örneğinde (Kontrol, BKPK-N ve BKPK-US) Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden oluşan 10 kişilik yarı eğitilmiş bir panelist grubu ile gerçekleştirilmiştir. Sucuk örnekleri çiğ olarak koku, renk, görünüş ve genel beğeni yönünden değerlendirmeye tabi tutulurken, pişmiş sucuk örnekleri ise koku, renk, tat, tekstür ve genel beğeni yönünden değerlendirilmiştir. Duyusal değerlendirmede 1–9 puanlı bir hedonik skala kullanılmış, 9 puan söz konusu özelliğin en iyi algılandığı 1 ise özelliğin hiç algılanmadığı puan olarak değerlendirilmiştir.

### İstatistiksel değerlendirme

Bu çalışmada 3 farklı sucuk üretimi (Kontrol, BKPK-N ve BKPK-US) aynı şartlar altında 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Analizler fermantasyon-kurutma sırasında 7 farklı sürede (0., 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. gün) ve sucukların depolanması aşamasında ise 5 farklı sürede (1., 2., 3., 4., ve 5. ay) ve 2 paralel olarak yapılmıştır. Kullanılan tam şansa bağlı faktöriyel deneme deseni  $3 \times (7+5) \times 2 \times 2$  şeklindedir. Söz konusu sucuğa eklenen proteinin türü (BKPK-N ve BKPK-US) ve süre bağımsız değişken iken, ölçülen pH, nem, peroksit, TBARS ve karbonil değerleri ile duysal özellikler bağımlı değişkenlerdir. Araştırma kapsamında elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi SPSS (ver.20.0, SPSS Inc., Chicago IL) istatistik paket programı kullanılarak varyans analiz tekniği (ANOVA) ile yapılmış ve farklılık görülen gruplarda farklılığın hangi düzeyde olduğu LSD (Asgari Önemli Fark) testi uygulanarak ( $P < 0.05$ ) belirlenmiştir. Çiğ ve pişmiş sucuğun duysal özellikleri için varyans analizi Minitab 16 (Minitab Inc., State College, PA) programı kullanılarak yapılmış ve örnekler arasındaki farklılık %95 güven aralığında belirlenmiştir

( $P < 0.05$ ). Sucuk türlerinin kimyasal (karbonil içeriği, TBARS değeri ve peroksit değeri) özellikleri ve duysal özellikleri arasındaki korelasyon gücü Pearson korelasyonu uygulanarak belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ) (<https://hiplot.cn/basic/cor-heatmap>).

### BULGULAR ve TARTIŞMA

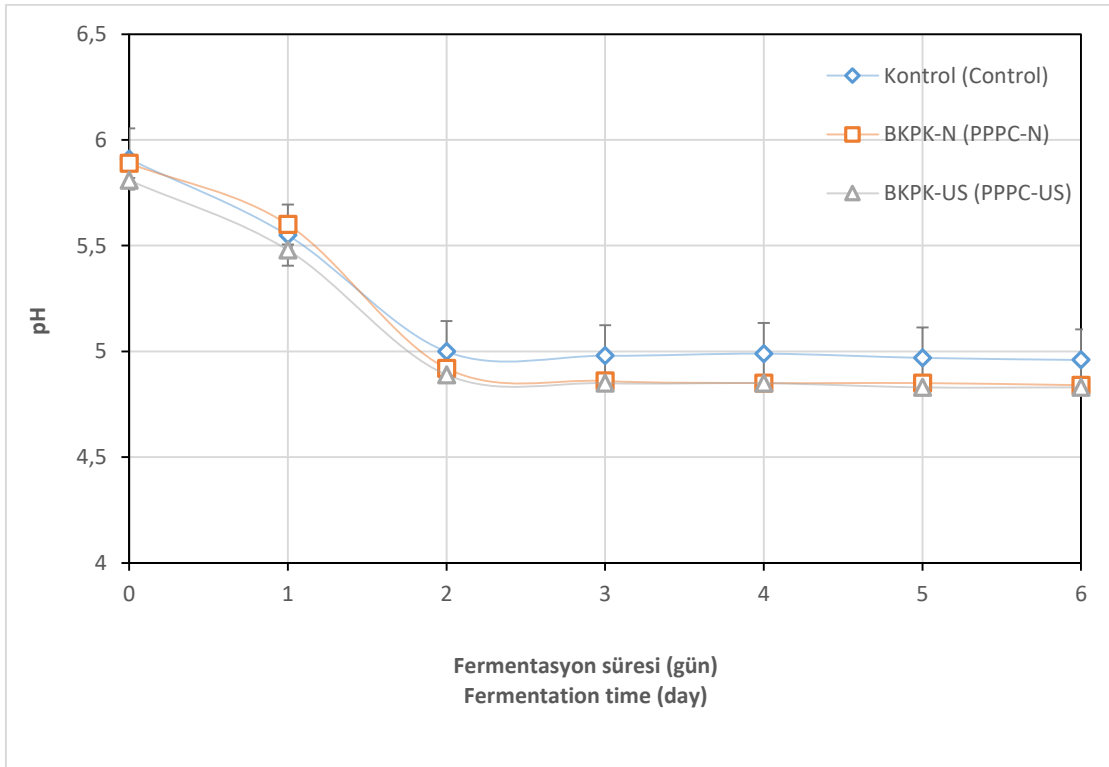
#### Fermantasyon-kurutma sırasında meydana gelen değişimler

Şekil 1'den de görüleceği üzere, her üç uygulamada da sucuk standardında (TSE, 2012) yer alan pH aralığına (4.7–5.4) 2. günün sonunda ulaşılmıştır. Fermantasyon-kurutma sonunda (6. gün), kontrol örneğinde pH değeri 4.96 ( $P < 0.05$ ) olarak saptanırken, BKPK-N ve BKPK-US örneklerinde 4.84 ve 4.83 ( $P > 0.05$ ) olarak tespit edilmiştir. Genel anlamda, uygulamalar arasında farklılıklar olmadığı ve 2. günden sonra günler arasında değişimlerin istatistiksel olarak önemli olmadığı ( $P > 0.05$ ) görülmüştür. Erçoşkun (2006) yaptığı çalışmada, fermantasyon-kurutma prosesinin başında 5.88 olan pH değerinin, fermantasyon-kurutmanın 5. gününde 4.85 değerine düştüğünü rapor etmiştir. 2–3 günlük bir fermantasyon işlemi ile hedeflenen kritik pH değerine ulaşıldığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Kurt (2009), farklı karbonhidrat kaynakları (sakkaroz, glukoz ve elma suyu konsantresi) kullanarak ürettikleri sucuklarda, başlangıçta yaklaşık 5.90 olan pH değerinin fermantasyonun 3. gününde 4.7–4.8 aralığına kadar düştüğünü saptamıştır. Çoşkun vd. (2010), geleneksel metot ile ürettikleri sucuklarda 7 günlük fermantasyon-kurutma sonunda pH değerinin 4.63 değerine kadar düştüğünü belirlemişlerdir.

Fermantasyon-kurutma boyunca sucukların nem içeriğindeki değişim Şekil 2'de verilmiştir. Şekil 2'den de anlaşılacağı üzere, fermantasyon-kurutmanın ilk 2 günü boyunca ciddi nem değişiminin gözlenmediği, 2. günden sonra asıl kurumanın gerçekleştiği saptanmıştır. Bu durum, fermantasyon-kurutmanın ilk 2 günü boyunca ortam neminin oldukça yüksek olması (1. gün %90-95, 2. gün %85-95) ile ilişkilendirilmiştir. Fermantasyon-kurutma başlangıcında kontrol örneklerinde  $64.36 \pm 0.29$  olan nem içeriği 2. günün sonunda  $61.74 \pm 0.58$  değerine ve

fermantasyon-kurutma sonunda (6. gün) ise hedeflenen değer olan  $40 \pm 1.00$  değerine ulaşmıştır. BKPK-N ve BKPK-US örneklerinde başlangıçta nem içeriklerinin  $60.05 \pm 0.70$  ve  $60.69 \pm 0.60$  olduğu saptanmıştır. Kontrol örneklerine kıyasla, protein konsantratu eklenen örneklerdeki nem içeriğinin daha düşük olması, eklenen protein konsantratının ortamın suyunu bağladığını göstermektedir. Protein konsantratu katılan örneklerin nem içeriklerinde, kontrol örneğinde olduğu gibi 2 gün boyunca ciddi değişimler gözlenmemiştir. Ancak 2. günden sonra ortam neminin azalmasına paralel olarak, kuruma başlamış ve fermentasyon-kurutmanın

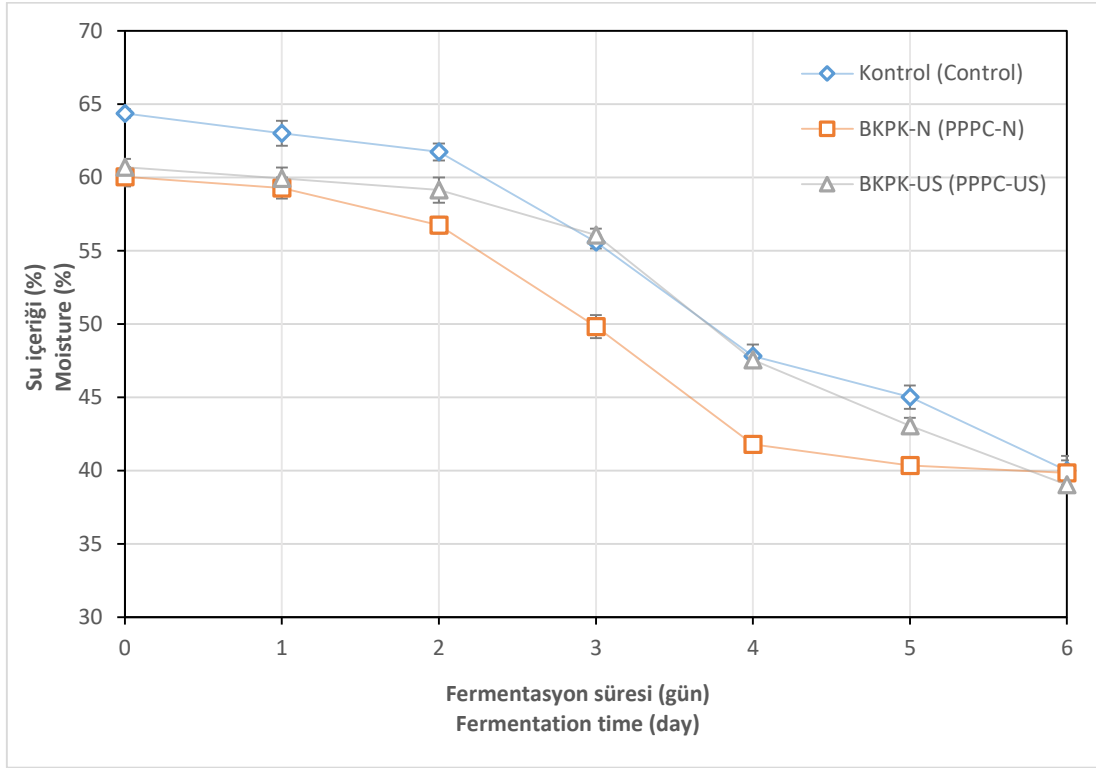
sonu olan 6. günde %39 değerine düşmüştür. Tüm uygulama gruplarında ulaşılan değerlerler arasında istatistiksel olarak fark olmadığı ( $P > 0.05$ ) tespit edilmiştir. Tüm sucuk örneklerinde hedeflenen nem içeriği olan %40 değerine 6. günün sonunda ulaşılmış ve fermentasyon-kurutma işlemine burada son verilmiştir. Bu sürenin sonunda kontrol, BKPK-N ve BKPK-US örneklerinde nem/protein oranları sırasıyla 2.27, 1.91 ve 1.91 olarak tespit edilmiş, Et ve Et Ürünleri Tebliği'ne (Tebliğ No: 2018/52) (Anonim, 2019) uygun nem/protein oranına ( $< 2.5$ ) ulaşılan sucukların üretimi sağlanmıştır.



Şekil 1. Sucuk örneklerinde fermentasyon-kurutma boyunca pH gelişimi

Kontrol: Bitkisel protein ilave edilmemiş sucuk, BKPK-N: Doğal formda bezelye kabuk proteini ilave edilmiş sucuk, BKPK-US: Ultrases ile modifiye edilmiş bezelye kabuk protein konsantratu ilave edilmiş sucuk

*Figure 1. Change of pH in the fermented sausage (sucuk) samples during fermentation-drying*  
*Control: The fermented sausage without pea pod protein concentrate (PPPC), PPPC-N: The fermented sausage with native pea pod protein concentrate, PPPC-US: The fermented sausage with ultrasound-modified PPPC.*



Şekil 2. Sucuk örneklerinde fermantasyon-kurutma boyunca su içeriğindeki değişim  
Kontrol: Bitkisel protein ilave edilmemiş sucuk, BKPK-N: Doğal formda bezelye kabuk proteinini ilave edilmiş sucuk, BKPK-US: Ultrases ile modifiye edilmiş bezelye kabuk protein konsantratu ilave edilmiş sucuk

Figure 2. Change of moisture in the fermented sausage (sucuk) samples during fermentation-drying  
Control: The fermented sausage without pea pod protein concentrate (PPPC), PPPC-N: The fermented sausage with native pea pod protein concentrate, PPPC-US: The fermented sausage with ultrasound-modified PPPC.

Fermentasyon-kurutma işleminin başında ve 6 günün sonunda sucuk örneklerinin peroksit, TBARS ve karbonil sayısı değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Protein konsantratu eklenmeyen kontrol örneklerinin peroksit değerleri  $4.11 \pm 0.24$  meq  $O_2/kg$  yağ'dan  $11.38 \pm 0.11$  meq  $O_2/kg$  yağ'a ulaşmıştır. Diğer bir deyişle kontrol örneklerinde 6 günlük fermantasyon-kurutma işlemi sonunda peroksit değerinde yaklaşık 3 katlık bir artış gözlenmiştir. Köseoğlu (2014), çeşitli et ürünlerinin (sucuk, salam, kavurma, pastırma) üretim aşamalarının yağ oksidasyonu ve yağ asidi bileşimi üzerine etkilerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, sucuk hamurunda  $0.55$  meq  $O_2/kg$  yağ olarak saptadıkları peroksit değerinin fermantasyon-kurutmanın 6. gününde  $7.81$  meq  $O_2/kg$  yağ değerine ulaştığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz değerler, bu çalışma

ile kıyaslandığında hem başlangıç seviyesi hem de 6. gün değerlerinin oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Peroksit değerlerinde saptanan bu farklılık, sucuk hamurunda yer alan yağ miktarı, yağın başlangıç peroksit değeri ve fermantasyon koşullarındaki farklılıklar (sıcaklık, nem ve starter) ile ilişkilendirilebilir.

Hem doğal (BKPK-N) hem de ultrases uygulanarak modifiye edilmiş protein konsantratu (BKPK-US) eklenmiş sucuklarda başlangıç peroksit değerleri sırasıyla  $8.19 \pm 1.65$  meq  $O_2/kg$  yağ ve  $9.12 \pm 0.92$  meq  $O_2/kg$  yağ saptanmıştır. Kontrol örneğinin başlangıç peroksit değeri ( $4.11$  meq  $O_2/kg$  yağ) ile kıyaslandığında, hem doğal hem de ultrases uygulanmış formdaki konsantratların lipit oksidasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Ancak kontrol örneğine kıyasla

başlangıçta gözlenen bu artış, fermantasyon süresince gözlenmemiştir. Hem BKPK-N hem de BKPK-US katılmış sucuk örneklerinde peroksit değerinde fermantasyon boyunca meydana gelen değişim istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır

( $P > 0.05$ ). Bu bağlamda, kontrol örnekleri ile kıyaslandığında hem BKPK-N hem de BKPK-US ilave edilmiş sucuk örneklerinde fermantasyon boyunca peroksit değerinin artmasını önlediği ve kısmi bir stabilizasyon sağladığı söylenebilir.

Çizelge 2. Fermantasyon-kurutma işleminin sucuk örneklerinin peroksit, TBARS ve karbonil sayısı üzerine etkisi

Table 2. Effect of fermentation-drying process on peroxide, TBARS and carbonyl value of the fermented sausage (sucuk) samples

	Peroksit değeri (meq O <sub>2</sub> /kg yağ) <i>Peroxide value</i> (meq O <sub>2</sub> /kg fat)		TBARS değeri (mg MA/kg sucuk) <i>TBARS value</i> (mg MA/kg sucuk)		Karbonil sayısı (nmol/mg protein) <i>Carbonyl content (nmol/mg protein)</i>	
	FÖ (BF)	FS (AF)	FÖ (BF)	FS (AF)	FÖ (BF)	FS (AF)
Kontrol (Control)	4.11±0.24 <sup>bb</sup>	11.38±0.11 <sup>aA</sup>	1.33±0.05 <sup>ba</sup>	2.64±0.56 <sup>aA</sup>	1.24±0.56 <sup>aA</sup>	2.61±0.47 <sup>aA</sup>
BKPK-N (PPPC-N)	8.19±1.65 <sup>aA</sup>	8.15±0.32 <sup>ba</sup>	1.23±0.04 <sup>ba</sup>	2.24±0.13 <sup>aA</sup>	2.32±0.24 <sup>aA</sup>	4.37±0.88 <sup>aA</sup>
BKPK-US (PPPC-US)	9.12±0.92 <sup>aA</sup>	9.97±1.18 <sup>aA</sup>	1.62±0.02 <sup>aB</sup>	3.10±0.12 <sup>aA</sup>	3.86±1.48 <sup>aA</sup>	4.29±0.09 <sup>aA</sup>

FÖ: Fermantasyon-kurutma öncesi, FS: Fermantasyon-kurutma sonrası, BF: Before fermentation-drying, AF: After fermentation-drying

a-b: Aynı sütun içerisindeki farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ )

A-B: Aynı satır içerisindeki farklı harfler fermantasyon-kurutma öncesi ve sonrası arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ )

Her bir analiz kendi içinde istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Kontrol: Bitkisel protein ilave edilmemiş sucuk, BKPK-N: Doğal formda bezelye kabuk proteini ilave edilmiş sucuk, BKPK-US: Ultrases ile modifiye edilmiş bezelye kabuk protein konsantratı ilave edilmiş sucuk

a-b: The different letters given in the column indicate a statistically significant difference among groups ( $P < 0.05$ )

A-B: The different letters given in the row indicate a statistically significant difference between before and after fermentation-drying ( $P < 0.05$ )

Each analysis was statistically evaluated within itself.

Control: The fermented sausage without pea pod protein concentrate (PPPC), PPPC-N: The fermented sausage with native pea pod protein concentrate, PPPC-US: The fermented sausage with ultrasound-modified PPPC

Protein konsantratı eklenmeyen kontrol örneklerinde, 6 günlük fermantasyon-kurutma sırasında TBARS değeri 1.33±0.05 mg MA/kg'dan 2.64±0.56 mg MA/kg düzeyine çıkmıştır. Köseoğlu (2014), sucuk hamurunda 0.18 mg MA/kg düzeyinde saptadığı TBARS değerinin 6 günlük fermantasyon sonunda 0.60 mg MA/kg düzeyine yükseldiğini saptamıştır. Yine benzer şekilde, Toptancı ve Erçoşkun (2017) sucuk hamurunda TBARS değerini 0.40 mg MA/kg düzeyinde belirlemişlerdir. Ayrıca fermente sosislerde, fermantasyon sırasında TBARS değerlerinde artış gözlemlendiği birçok

bilimsel çalışmada rapor edilmiştir (Liaros vd., 2009; Olivares vd., 2011, Soyer ve Ertaş, 2007; Lorenzo vd., 2012). Literatürdeki bu değerler ile kıyaslandığında, elde ettiğimiz değerlerin yüksek olduğu görülmüştür. Bu farklılık, yağ miktarı, kullanılan ekstraksiyon yöntemlerindeki ve fermantasyon koşullarındaki (süre, bağıl nem ve starter kültür) farklılıklar ile ilişkilendirilebilir. Doğal (BKPK-N) ve ultrases uygulanmış protein konsantratı (BKPK-US) eklenmiş sucuk örneklerinde ise TBARS değerleri sırasıyla, 1.23±0.04 mg MA/kg'dan 2.24±0.13 mg MA/kg'a ve 1.61±0.02 mg MA/kg'dan 3.1±0.12

mg MA/kg değerine ulaşmıştır. Elde edilen değerler incelendiğinde, doğal protein konsantratu eklenmiş sucuk örneklerinde TBARS değerleri kontrol örneğine kıyasla daha düşük olmasına karşın, istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $P>0.05$ ). En yüksek TBARS değerlerine BKPK-US eklenmiş sucuk örneklerinde saptanmıştır. Ancak yapılan istatistiksel değerlendirmede, üç grubunda (kontrol, BKPK-N ve BKPK-US) arasında farklılığın önemli olmadığı görülmüştür ( $P>0.05$ ). Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, sucuk üretimine bezelye kabuk protein konsantratu eklemenin fermantasyon-kurutma prosesi sırasındaki lipit oksidasyonu üzerine herhangi bir etkisi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Örneklerin fermantasyon-kurutma prosesi sırasında protein oksidasyon düzeyinde meydana gelen değişim karbonil sayısı ile belirlenmiştir (Çizelge 2). Protein konsantratu eklenmeyen kontrol örneklerinde, 6 günlük fermantasyon-kurutma sırasında karbonil sayısı  $1.24\pm 0.56$  nmol/mg proteinden  $2.61\pm 0.47$  nmol/mg protein düzeyine çıkmıştır. Öztürk-Kerimoğlu vd. (2019), yaptıkları çalışmada ısı işlem uygulamadan önce sucuk hamurunda karbonil sayısını  $1.55$  nmol/mg protein düzeyinde belirlemişlerdir. BKPK-N eklenmiş sucuk örneklerinde başlangıçta  $2.32\pm 0.24$  nmol/mg protein olan karbonil değeri, fermantasyon-kurutma sonunda  $4.37\pm 0.88$  nmol/mg protein düzeyine ulaşmıştır. BKPK-US eklenmiş örneklerde ise,  $3.86\pm 1.48$  nmol/mg proteinden  $4.29\pm 0.09$  nmol/mg protein düzeyine ulaşmıştır. Tüm uygulamalarda fermantasyon-kurutma boyunca karbonil içeriğinin yükseldiği, ancak meydana gelen değişimin gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli olmadığı gözlenmiştir ( $P>0.05$ ). Bu bağlamda, sucuk hamuruna bezelye kabuk protein konsantratu eklemenin fermantasyon-kurutma prosesi sırasındaki protein oksidasyonu üzerine herhangi bir etkisi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

#### **Depolama sırasında meydana gelen değişimler**

Fermantasyon-kurutma prosesini tamamlayan her üç grup sucuk örnekleri  $+5^{\circ}\text{C}$ 'de 5 ay boyunca depolanmış ve bu depolama süresi boyunca

örneklerde lipit ve protein oksidasyon ürünlerindeki değişimi ortaya koymak amacıyla peroksit, TBARS ve karbonil sayısı analizleri gerçekleştirilmiştir.

#### **Peroksit değeri**

Birincil oksidasyon ürünlerini ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilen bu analiz, oksidasyonun başlangıç aşamasında oluşmaya başlayan hidrojen peroksitlerin ilerleyen aşamalarda ikincil oksidasyon ürünlerine (malonaldehitler) dönüştüğünü ortaya koymuştur. Çizelge 3'ten de görüleceği üzere, her üç grup sucuk örneklerinde ilk ay içerisinde peroksit değerlerinde artış gözlenmiştir. Bu artışın, ultrases ile modifiye edilmiş protein konsantratları (BKPK-US) eklenmiş sucuk örneklerinde en fazla olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak yağlı gıdalarda peroksit sayısının maksimum  $25$  meq  $\text{O}_2/\text{kg}$  değerinin altında olması gerektiği bildirilmektedir (Narasimhan vd., 1986; Evranuz, 1993). BKPK-US eklenmiş sucuklarda peroksit değerinin 1. ayın sonunda bu kritik değerin üzerine çıktığı tespit edilmiştir. Kontrol ve BKPK-N örneklerinde de artışlar saptanmış ancak, birinci ayın sonunda ulaşılan değerler arasında istatistiksel olarak farklılık olmadığı ( $P>0.05$ ) saptanmıştır. Ultrases uygulaması ile modifiye edilen protein konsantratu lipit oksidasyonunu engellemeye aksine artırmıştır. Bu durum, ultrases uygulaması ile söz konusu protein yapısının kısmen denatürasyona uğrayıp, açılması sonucu protein içinde gömülü hidrofobik grupların açığa çıkması ile protein konsantratının lipit oksidasyonu açısından daha reaktif bir hale geldiğini ortaya koymuştur (Zhang vd., 2013).

Depolamanın birinci ayından sonra, ortamdaki hidroperoksitlerin hızla parçalandığı ve üçüncü ayın sonunda ise tamamen ikincil oksidasyon ürünlerine dönüştüğü saptanmıştır. Bu durum hidroperoksitlerin lipit oksidasyonunun başlangıç aşamasında artma eğiliminde olduğu ancak daha sonraki aşamada ise parçalanma hızının oluşum hızından yüksek olmasından dolayı azalma eğilimi göstermesi ile açıklanabilir (Georgantelis vd., 2007). Ancak bu durum TBARS değerlerindeki değişim ile doğrulanmamıştır.

Çizelge 3. Depolama sırasında sucuk örneklerinin peroksit, TBARS ve karbonil değerinde meydana gelen değişim

Table 3. Change of peroxide, TBARS and carbonyl values of the fermented sausage (sucuk) samples during storage

Depolama süresi (ay) Storage (month)	Peroksit değeri (meq O <sub>2</sub> /kg yağ) Peroxide value (meq O <sub>2</sub> /kg fat)		
	Kontrol (Control)	BKPK-N (PPPC-N)	BKPK-US (PPPC-US)
0	11.38±0.11 <sup>bA</sup>	8.15±0.32 <sup>aB</sup>	9.97±1.18 <sup>bAB</sup>
1	17.33±3.88 <sup>aAB</sup>	12.07±2.86 <sup>aB</sup>	25.92±4.03 <sup>aA</sup>
2	12.98±1.28 <sup>abA</sup>	7.84±1.73 <sup>aA</sup>	9.27±2.02 <sup>bA</sup>
3	0.60±0.85 <sup>cA</sup>	0.28±0.40 <sup>bA</sup>	0.87±1.23 <sup>cA</sup>
4			
5			

	TBARS değeri (mg MA/kg sucuk) TBARS value (mg MA/kg sucuk)		
	Kontrol (Control)	BKPK-N (PPPC-N)	BKPK-US (PPPC-US)
0	2.64±0.56 <sup>abA</sup>	2.24±0.13 <sup>bcA</sup>	3.10±0.12 <sup>aA</sup>
1	2.99±0.02 <sup>aA</sup>	2.89±0.06 <sup>abA</sup>	2.99±0.06 <sup>aA</sup>
2	2.72±0.10 <sup>aA</sup>	2.63±0.51 <sup>abA</sup>	3.09±0.43 <sup>aA</sup>
3	2.65±0.50 <sup>abA</sup>	2.54±0.14 <sup>abA</sup>	2.28±0.45 <sup>bA</sup>
4	3.42±0.60 <sup>aA</sup>	2.92±0.10 <sup>aA</sup>	3.28±0.20 <sup>aA</sup>
5	1.65±0.09 <sup>bA</sup>	1.89±0.28 <sup>cA</sup>	1.67±0.01 <sup>bA</sup>

	Karbonil sayısı (nmol/mg protein) Carbonyl content (nmol/mg protein)		
	Kontrol (Control)	BKPK-N (PPPC-N)	BKPK-US (PPPC-US)
0	2.61±0.47 <sup>bcA</sup>	4.37±0.88 <sup>bA</sup>	4.29±0.09 <sup>bcA</sup>
1	1.50±0.12 <sup>cB</sup>	2.84±0.66 <sup>bA</sup>	2.28±0.28 <sup>dAB</sup>
2	4.05±0.23 <sup>abA</sup>	4.60±0.54 <sup>bA</sup>	3.67±0.22 <sup>cA</sup>
3	4.04±0.34 <sup>abB</sup>	7.58±0.27 <sup>aA</sup>	4.16±0.86 <sup>bcB</sup>
4	5.18±1.32 <sup>aA</sup>	6.61±0.51 <sup>aA</sup>	5.74±0.25 <sup>aA</sup>
5	4.29±0.73 <sup>abA</sup>	6.73±1.07 <sup>aA</sup>	5.12±0.54 <sup>abA</sup>

Kontrol: Bitkisel protein ilave edilmemiş sucuk, BKPK-N: Doğal formda bezelye kabuk proteinini ilave edilmiş sucuk, BKPK-US: Ultrases ile modifiye edilmiş bezelye kabuk protein konsantratu ilave edilmiş sucuk  
a-d: Aynı sütun içerisindeki farklı harfler aylar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ( $P<0.05$ )

A-B: Aynı satır içerisindeki farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ( $P<0.05$ )

Her bir analiz kendi içinde istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Kontrol: Bitkisel protein ilave edilmemiş sucuk, BKPK-N: Doğal formda bezelye kabuk proteinini ilave edilmiş sucuk, BKPK-US: Ultrases ile modifiye edilmiş bezelye kabuk protein konsantratu ilave edilmiş sucuk

a-d: The different letters given in the column indicate a statistically significant difference among months ( $P<0.05$ )

A-B: The different letters given in the row indicate a statistically significant difference among groups ( $P<0.05$ )

Each analysis was statistically evaluated within itself.

Control: The fermented sausage without pea pod protein concentrate (PPPC), PPPC-N: The fermented sausage with native pea pod protein concentrate, PPPC-US: The fermented sausage with ultrasound-modified PPPC.

### TBARS değeri

Lipid oksidasyonunun başlangıç aşamasında oluşan hidroperoksitler ara ürünler olup bunlar bitiş aşamasında daha kısa zincirli ve kararlı aldehit, keton, organik asit gibi son ürünlere

dönüşerek, üründe ransid tat oluşumuna neden olmaktadır. İşte bu amaçla et ürünlerinde lipid oksidasyonun son ürünlerini belirlemek için TBARS değeri göz önünde bulundurulmaktadır. Çizelge 3'ten de görüleceği üzere, depolamada ilk

bir ayın sonunda BKPK-N örneklerinin TBARS değeri  $2.24 \pm 0.13$  mg MA/kg değerinden  $2.89 \pm 0.06$  mg MA/kg değerine yükselmiştir. Daha sonra ise peroksit değerindeki azalışa paralel olarak, TBARS değerlerinde artma beklenirken TBARS değerlerinde böyle bir artış gözlenmemiştir. Her üç uygulamada da, depolamanın 1–4 ayları arasında TBARS değerleri lineer bariz azalış veya artış sergilememiş, meydana gelen değişimin istatistiksel olarak önemsiz olduğu görülmüştür. Her üç uygulamada da TBARS değeri depolamanın 4. ayında maksimum değerine ulaşmıştır. Kontrol, BKPK-N ve BKPK-US sucuk örneklerinin 4. aydaki TBARS değerleri  $3.42 \pm 0.60$ ,  $2.92 \pm 0.10$  ve  $3.28 \pm 0.20$  mg MA/kg'dan 5. ayın sonunda  $1.65 \pm 0.09$ ,  $1.89 \pm 0.28$  ve  $1.67 \pm 0.01$  mg MA/kg değerine düşmüştür. Ancak 5. ayın sonunda her üç uygulama arasında istatistiksel olarak fark olmadığı saptanmıştır ( $P > 0.05$ ). Bu durum ise, oluşan malonaldehitlerin çok stabil bileşikler olmadığı başka bileşiklere dönüşebileceği ile açıklanabilir (Melgar vd., 1990; Lorenzo ve Franco, 2012). Viogere-Amor vd. (2022) kuru fermente sosisler üzerine yaptıkları çalışmada, 30 günlük olgunlaştırma periyodundan sonra örnekleri depolanmışlar ve 4. ayda TBARS değeri maksimum değere ulaştığını saptamışlardır. Araştırmacılar 4. aydan sonra keskin bir düşüş gözlemlemişler ve bu düşüşü malonaldehitlerin stabil olmayışları ile ilişkilendirmişlerdir.

Yapılan detaylı literatür taramasında, protein konsantralarının fermente et ürünlerine eklenerek lipit oksidasyonu üzerine etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu konuda yapılan tek çalışma, Pena-Ramos ve Xiong (2003) tarafından whey (peyniraltı suyu) ve soya protein hidrolizatlarının pişmiş domuz köftesinde lipit oksidasyonunun inhibisyonuna yöneliktir. Ancak bu çalışmada, whey ve soya protein izolatları enzimlerle muamele edilerek hidrolizat formuna dönüştürüldükten sonra ete eklenmiştir. Kontrol örneklerine kıyasla soya ve whey protein hidrolizatı eklenmiş örneklerin 7 günlük depolama boyunca TBARS değerlerinin daha düşük düzeyde kaldığı rapor edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, sucuk üretimine BKPK'nın doğal veya ultrases uygulanmış formu ile eklenmesinin,

sucuk örneklerinin TBARS değerleri üzerine herhangi bir olumlu etki yaratmadığını ortaya koymuştur.

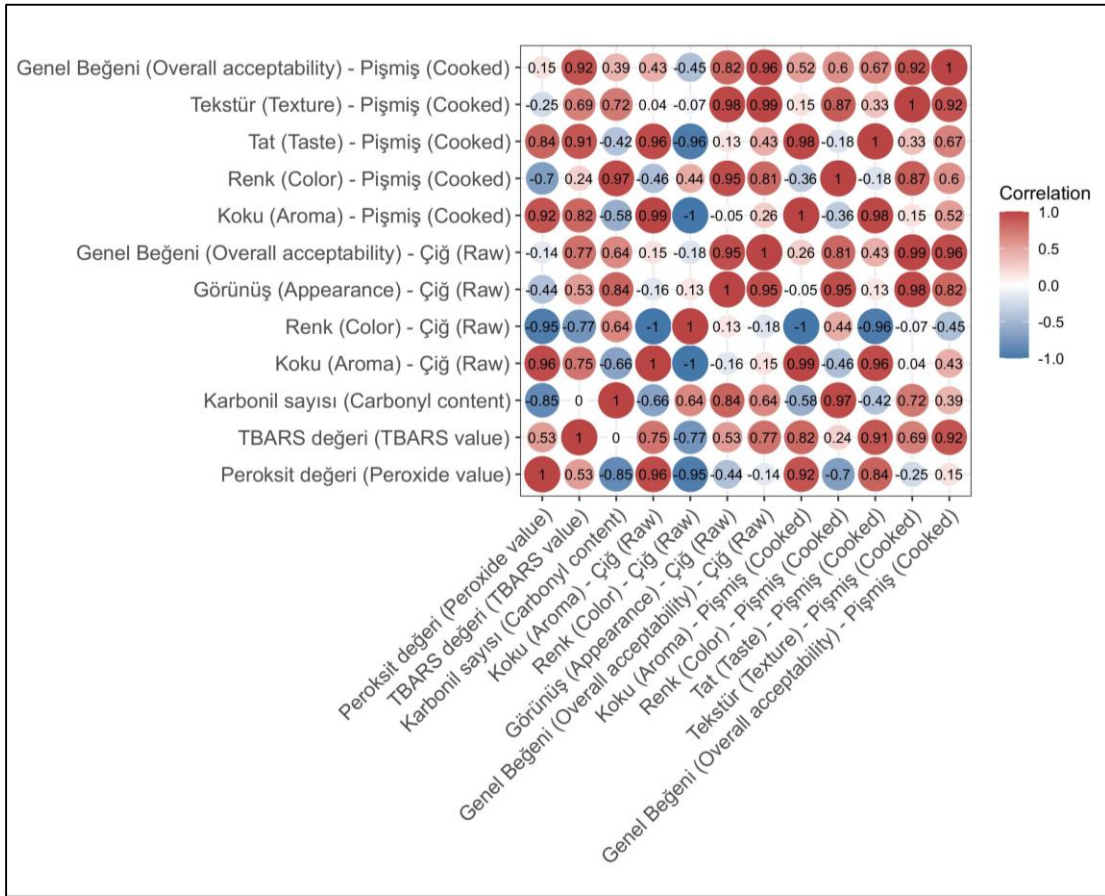
#### **Karbonil sayısı**

Her üç uygulamaya ilişkin (Kontrol, BKPK-N ve BKPK-US)  $+5^{\circ}\text{C}$ 'de 5 aylık depolama periyodu boyunca meydana gelen protein oksidasyonu karbonil değerleri ile izlenmiştir (Çizelge 3). Protein konsantratu eklenmemiş kontrol örneklerinde karbonil değeri en düşük  $1.5 \pm 0.12$  nmol/mg protein ile 1. ayın sonunda, en yüksek  $5.18 \pm 1.32$  nmol/mg protein ile 4. ayın sonunda gözlenmiştir. BKPK-N eklenmiş sucuk örneklerinde en düşük karbonil değeri,  $2.84 \pm 0.12$  nmol/mg protein ile 1. ayın sonunda, en yüksek  $7.58 \pm 0.27$  nmol/mg protein ile 3. ayın sonunda saptanmıştır. BKPK-US eklenmiş sucuk örneklerinde ise, en düşük karbonil değeri,  $2.28 \pm 0.28$  nmol/mg protein ile 1. ayın sonunda, en yüksek  $5.74 \pm 0.25$  nmol/mg protein ile 4. ayın sonunda saptanmıştır. Protein konsantratu eklenmemiş kontrol örneklerinin depolama başlangıcında karbonil sayısının, eklenmiş sucuk örneklerine kıyasla daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu durum eklenen protein konsantratlarının, mevcut protein oksidasyonuna ek olarak kendilerinin oksidasyona uğrayarak karbonil sayısını kısmen artırması ile açıklanabilir. Depolamanın ilk birinci ayında her üç örnekte de paralel bir azalma görülmüş ve BKPK-N ve BKPK-US örneklerinin karbonil değerleri arasında istatistiksel olarak farklılık olmadığı ( $P > 0.05$ ) tespit edilmiştir. 1. ayın sonunda kontrol örneklerinin karbonil değeri, konsantrat eklenmiş örneklerden istatistiksel olarak farklılık arz ederken, 2. ayın sonunda her üç grup uygulamanın karbonil değerleri birbirinden istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir. 3. ayın sonunda, BKPK-N eklenmiş örneklerin karbonil değeri  $7.58 \pm 0.27$  nmol/mg protein ile maksimum değerine ulaşırken, BKPK-US ve kontrol örnekleri arasında farklılık saptanamamıştır ( $P > 0.05$ ). BKPK-US ve kontrol örnekleri 4 ayın sonunda maksimum değerlerine ulaşırken, BKPK-N eklenmiş örneklerde azalma trendi gözlenmiştir. Her üç grup uygulamanın hem 4. ayın sonunda hem de 5. ayın sonunda erişilen karbonil değerleri arasında istatistiksel olarak farklılık

saptanmamıştır. Genel anlamda, eklenen protein izolatları (BKPK-N ve BKPK-US) kontrol örneklerine kıyasla mevcut protein oksidasyonunda ek kısmı artışlara neden olabileceği, ancak bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. Literatürde bu şekilde protein konsantratu eklenerek oksidasyon özelliğinin incelendiği bir çalışma olmadığı için herhangi bir kıyaslama yapılamamıştır.

Bu üç bağımsız değişkenlerin birbiri ile korelasyonu incelendiğinde TBARS değerinin karbonil sayısı ile bir ilişkisi saptanamazken,

peroksit değeriyle 0.53 düzeyinde zayıf bir korelasyonunun olduğu görülmüştür. Peroksit değeri ile karbonil sayısı arasında ise negatif güçlü bir ilişki ( $r = -0.85$ ) tespit edilmiştir (Şekil 3). Ancak bu korelasyon düzeyleri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $P > 0.05$ ). Bizim sonuçlarımızın aksine, Öztürk-Kerimoğlu vd. (2019) ısıtma işlem görmüş sucuklar üzerine yaptıkları çalışmada peroksit ile TBARS değerleri arasında güçlü negatif bir ilişki ( $r = -0.805$ ), buna karşın peroksit ile karbonil sayısı arasında pozitif bir ilişki ( $r = 0.768$ ) olduğunu ortaya koymuşlardır.



Şekil 3. Sucuk örneklerinin kimyasal ve duyu özelliklerinin korelasyonu  
 Figure 3. Correlation between chemical and sensory properties of fermented sausages (sucuk)

### Duyusal değerlendirme

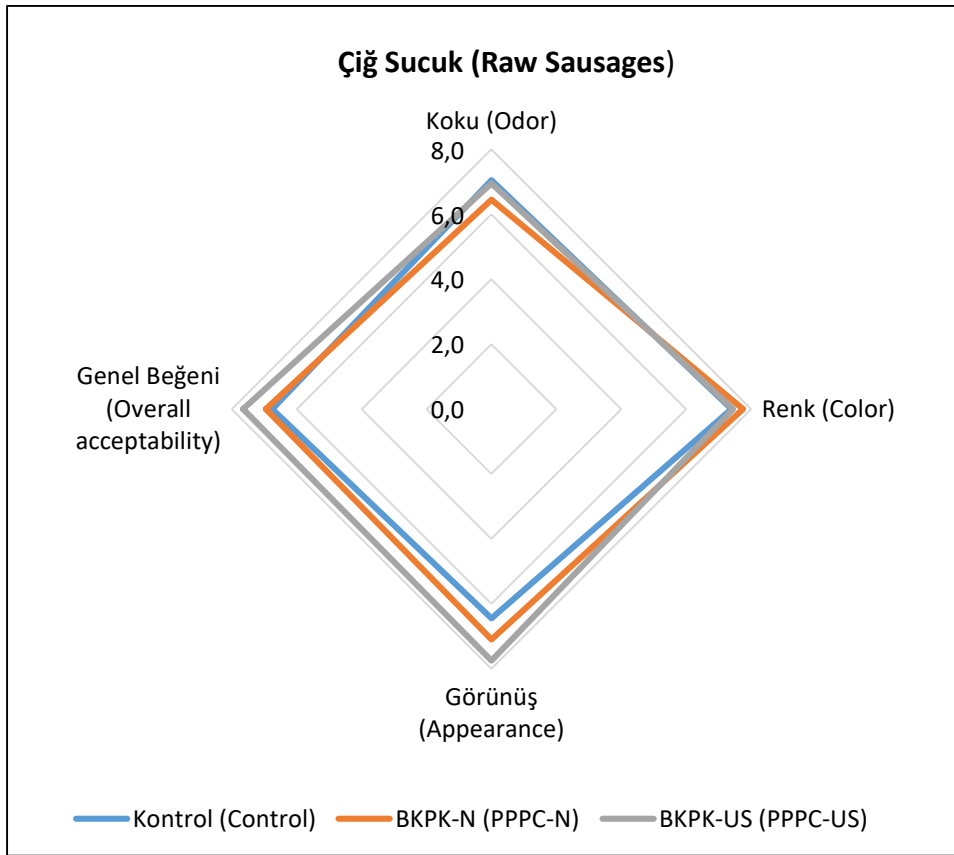
Fermentasyon sonrasında elde edilen çiğ sucuk örneklerine ait duyu analiz sonuçları Şekil 4'te verilmiştir. Koku, renk, görünüş ve genel beğeni çiğ sucuk için sırasıyla 6.5–7.1, 7.4–7.8, 6.5–7.8,

6.8–7.7 aralıklarında değişmiş olup tüm örnekler 9 noktalı hedonik skalada ortalamının üzerinde yer almıştır. Bu durum, bezelye kabuğu protein konsantratının çiğ sucuğa ilave edilmesinin duyu olarak olumsuz bir duruma yol açmadığı



ve kontrole yakın özelliklerin elde edildiği sonucunu doğurmaktadır. Sucuk pişirilerek servis edildikten sonra koku, renk, tat, tekstür ve genel beğeni açısından değerlendirildiğinde sırasıyla 6.7–7.6, 7.3–8, 7.3–7.6, 7.3–7.5 aralığında puanlar verildiği görülmektedir (Şekil 5). Doğal formda bulunan protein konsantratu ilavesi ile yapılan sucuklarda koku ve renk açısından protein katılmayan (kontrol) ve US uygulanmış protein

konsantratu katılı sucuk örneklerine göre sapmalar görülmektedir ( $P<0.05$ ). Tüm özellikler bir arada değerlendirildiğinde puanlar açısından önemli düzeyde bir farklılık olmamakla beraber ( $P>0.05$ ), US uygulanmış protein konsantratu katılı sucuklar daha fazla beğeni kazanmıştır. Bu bulgular fermentasyon-kurutmanın hemen sonrasında ve depolama sürecinin başındaki sucuk örneklerini temsil etmektedir.

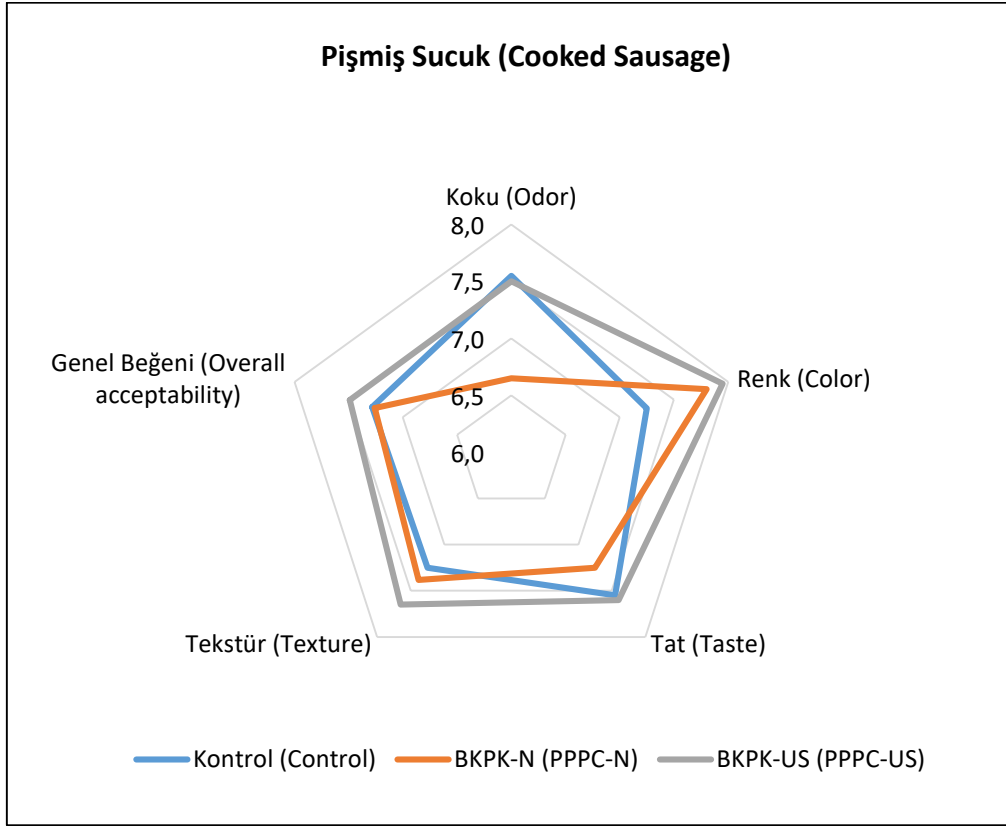


Şekil 4. Çiğ sucuklara ilişkin duyu analizi sonuçları

Kontrol: Bitkisel protein ilave edilmemiş sucuk, BKPK-N: Doğal formda bezelye kabuk proteinini ilave edilmiş sucuk, BKPK-US: Ultrases ile modifiye edilmiş bezelye kabuk protein konsantratu ilave edilmiş sucuk

*Figure 4. Sensory evaluation mean scores of raw fermented sausages (sucuk)*

*Control: The fermented sausage without pea pod protein concentrate (PPPC), PPC-N: The fermented sausage with native pea pod protein concentrate, PPC-US: The fermented sausage with ultrasound-modified PPC*



Şekil 5. Pişmiş sucuklara ilişkin duyu analizi sonuçları

Kontrol: Bitkisel protein ilave edilmemiş sucuk, BKPK-N: Doğal formda bezelye kabuk proteinini ilave edilmiş sucuk, BKPK-US: Ultrases ile modifiye edilmiş bezelye kabuk protein konsantratu ilave edilmiş sucuk

Figure 5. Sensory evaluation mean scores of cooked fermented sausages (sucuk)

Control: The fermented sausage without pea pod protein concentrate (PPPC), PPC-N: The fermented sausage with native pea pod protein concentrate, PPC-US: The fermented sausage with ultrasound-modified PPC

Bu çalışmada sucuk üretimi, ısı işlem uygulanmadan gerçekleştirilmiştir. Üretilen sucuklar +5°C'de depolanmasına karşın, sucuk örneklerinde küflenme başlamış ve depolamanın ilerleyen haftalarında (2 ay) sucuk örneklerinde yoğun bir sülfür kokusunun eşlik ettiği bozulma kokusu algılanmıştır. Sucuklardaki küf dışında belirlenen olası mikrobiyel bozulmaya, sucuk hamurunun mikroflorasında bulunması olası olan ve risk oluşturan *Clostridium* spp. gibi anaerobik basiller ile koliform grup bakteriler gibi fakültatif anaerobik karakterdeki bakterilerin neden olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle sucukta gözlemlenen mikrobiyel bozulma nedeniyle panelistlerin sağlığı göz önüne alınarak sadece depolama sürecinin başında duyu analizi

gerçekleştirilmiştir. Depolama süresince ise, sadece genel görünüş ve koku takibi yapılmıştır. Tüm sucuk örneklerinin 2. aydan itibaren duyu analizi olarak tüketiminin uygun olmayacağı kararlaştırılmış olsa da protein ve yağ oksidasyonu ile ilişkili reaksiyonların ortaya koyulabilmesi için sucuk kalite özellikleri 5 aylık depolama süresince kimyasal analizlerle takip edilmiştir. Ayrıca lipit fraksiyonlarının oksidasyonunda gözlenen değişimler, depolama boyunca mikrobiyel kökenli enzimatik faaliyetlerle ilişkilendirilebilir. İşlenmiş et ürünlerinden izole edilen mikroorganizma suşlarının yüksek lipolitik veya proteolitik aktiviteye sahip olabilecekleri ve dolayısı ile ürünün oksidasyonunda değişimlere neden olabilecekleri bilinmektedir (Dominguez vd.,

2021; Tatiyaborworntham vd., 2022). Duyusal değerlendirme parametreleri arasındaki korelasyonlara ilişkin yapılan değerlendirmede, pişmiş sucuklarda genel beğeni ile tekstür arasında ( $r=0.92$ ), çiğ sucuklarda genel beğeni ile görünüş arasında güçlü pozitif bir ilişki ( $r=0.95$ ) olduğu saptanmıştır. Yine pişmiş sucuk örneklerinde koku ile tat arasında çok güçlü pozitif bir ilişki ( $r=0.98$ ) gözlenmiştir (Şekil 3).

## SONUÇ

Bu çalışmada, bezelye kabuk protein konsantratinin gıda bileşeni olarak sucuk üretiminde oksidatif stabilite üzerine etkisi incelenmiştir. Sucuk üretiminde kontrol (K, protein konsantrati eklenmemiş), %1 oranında ultrases uygulanmamış bezelye kabuk protein konsantrati (BKPK-N) ve %1 oranında ultrases uygulanmış bezelye kabuk protein konsantrati (BKPK-US) olmak üzere üç farklı uygulama yapılmıştır. Söz konusu uygulamaların hem 6 günlük fermantasyon-kurutma hem de 5 aylık depolama periyodu boyunca oksidatif stabilite üzerine herhangi bir katkısı olmadığı tespit edilmiştir. Alternatif kaynaklardan elde edilen bitkisel proteinlerin hidrolizat formları elde edilerek farklı gıda çeşitlerinde test edilmesi hem yeni ürün geliştirme hem de mevcut ürünlerin kalite özelliklerini iyileştirme yönünde atılan adımlara önemli düzeyde katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmada sucuk üretiminde kullandığımız starter kültürü ücretsiz olarak sağlayan Prof. Dr. Gürhan Çiftçiöğlü'na (İnovatif Biyoteknoloji, İstanbul) teşekkür ediyoruz. Ayrıca sucuk üretiminde ve analizlerinde çok kıymetli deneyimleri ve bilgilerini bizimle paylaşan Doç. Dr. Hüdayi Ercoşkun'a, Doç. Dr. Haluk Ergezer'e ve Gıda Yüksek Mühendisi Orhan Özünlü'ye sonsuz teşekkür ediyoruz. Ayrıca bu makaleyi inceleyip, yapıcı eleştirileri ve önerileri ile makalenin içerik olarak geliştirilmesinde çok ciddi katkılar sağlayan hakemlere müteşekkirimiz. Bu araştırma TÜBİTAK 119O488 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

## YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar çalışmanın deneysel kısmının gerçekleştirilmesinde, makalenin hazırlanmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır

## KAYNAKLAR

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.

Anonim (2019). Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği. No: 2018/52.

AOAC. (1995). Official methods of analysis (16th ed.), Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists.

Arcan, I., Yemenicioğlu, A. (2007). Antioxidant activity of protein extracts from heat-treated or thermally processed chickpeas and white beans. *Food Chemistry*, 103(2), 301–312.

Çoşkun, Ö., Ertaş, H., Soyer, A. (2010). The effect of processing method and storage time on constituents of Turkish sausages (sucuk). *Journal of Food Processing and Preservation*, 34, 125–135.

Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8(10), 429.

Domínguez, R., Pateiro, M., Munekata, P. E., Zhang, W., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., ... Lorenzo, J. M. (2021). Protein oxidation in muscle foods: A comprehensive review. *Antioxidants*, 11 (1), 60.

Erçoşkun, H. (2006). Isıl işlem uygulanarak üretilen sucukların bazı kalite özelliklerine fermantasyon süresinin etkileri (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.

Evranuz, O.E. (1993). "The effects of temperature and moisture content on lipid peroxidation during storage of unblanched salted roasted peanuts: shelf life studies of unblanched salted roasted peanuts, *International Journal of Food Science and Technology*, 28:193–199.

- Foegeding, E. A., Davis, J. P. (2011). Food protein functionality: A comprehensive approach. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1853–1864.
- Foegeding, E. A. (2015). Food protein functionality—a new model. *Journal of Food Science*, 80(12), C2670–C2677.
- Georgantelis, D., Blekas, G., Katikou P., Ambrosiadis, I. and Fletouris, D. J. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*, 75:256–264.
- Gray, J. I., Gomaa, E. A., Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43, 111–123.
- Hu, M., McClements, D. J., Decker, E. A. (2003). Lipid oxidation in corn oil-in-water emulsions stabilized by casein, whey protein isolate, and soy protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1696–1700.
- Hu, H., Wu, J., Li-Chan, E. C., Zhu, L., Zhang, F., Xu, X., ... Pan, S. (2013). Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. *Food Hydrocolloids*, 30(2), 647–655.
- Ismail, B. P., Senaratne-Lenagala, L., Stube, A., Brackenridge, A. (2020). Protein demand: Review of plant and animal proteins used in alternative protein product development and production. *Animal Frontiers*, 10(4), 53–63.
- Kaban, G. (2013). Sucuk and pastırma: Microbiological changes and formation of volatile compounds. *Meat Science*, 95(4), 912–918.
- Karabulut, G., Yıldız, S., Karaca, A. C., Yemiş, O. (2023). Ultrasound and enzyme-pretreated extraction for the valorization of pea pod proteins. *Journal of Food Process Engineering*, 46(12), e14452.
- Köseoğlu, İ.E. (2014). Çeşitli et ürünlerinde üretim aşamalarının yağ asidi bileşimi ve yağ oksidasyonu üzerine etkisi (Doktora Tezi). Selçuk Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.
- Kumar, M., Tomar, M., Punia, S., Dhakane-Lad, J., Dhupal, S., Changan, S., ... & Kennedy, J. F. (2022). Plant-based proteins and their multifaceted industrial applications. *LWT*, 154, 112620.
- Kurt, E. (2009). Sucukta organik asit kompozisyonuna farklı karbonhidrat kaynaklarının etkisi (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Liaros, N. G., Katsanidis, E., Bloukas, J. G. (2009). Effect of ripening time under vacuum and packaging film permeability on processing and quality characteristics of low-fat fermented sausages. *Meat Science*, 83, 589–598.
- Lorenzo, J. M., Franco, D. (2012). Fat effect on physico-chemical, microbial and textural changes through the manufactured of dry-cured foal sausage lipolysis, proteolysis and sensory properties. *Meat Science*, 92, 704–714.
- Melgar, M. J., Sanchez-Monge, J. M. and Bello, J. (1990). A study of the changes in the chemical properties of fat during ripening of dry Spanish sausage. *Journal of Food Composition and Analysis*, 3, 73–80.
- Mielnik, M. B., Olsen, E., Vogt, G., Adeline, D., Skrede, G. (2006). Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. *LWT-Food Science and Technology*, 39, 191–198.
- Narasimhan, S., Raghuvver, K. G., Arumngam, C., Bhat, K. K., Sen, D. P. (1986). Oxidative rancidity of groundnut oil evaluation by sensory and chemical indices and their correlation. *Journal of Food Science and Technology*, 23:273–277.
- Oliver, C. N., Ahn, B. W., Moerman, E. J., Goldstein, S. Stadtman, E. R. (1987). Aged-related changes in oxidized proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 262:5488–5491.
- Olivares, A., Navarro, J. L., Flores, M. (2011). Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages. *Meat Science*, 87, 264–273
- Öztürk-Kerimoğlu, B., Nacak, B., Özyurt, V.H., Serdaroğlu, M. (2019). Protein oxidation and in vitro digestibility of heat-treated fermented sausages: How do they change with the effect of

- lipid formulation during processing?. *Journal of Food Biochemistry*, 43(11), 1–13.
- Pateiro, M., Franco, D., Carril, J. A., Lorenzo, J. M. (2015). Changes on physico-chemical properties, lipid oxidation and volatile compounds during the manufacture of celta dry-cured loin. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 4808–4818.
- Peña-Ramos, E.A., Xiong, Y.L. (2003). Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties. *Meat Science*, 64(3), 259–263.
- Rajapakse, N., Mendis, E., Jung, W., Je, J., Kim, S. (2005). Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. *Food Research International*, 38, 175–182.
- Soyer, A., Ertas, A. H. (2007). Effects of fat level and storage time on lipid and color stability of naturally fermented Turkish sausages (Sucuk). *Journal of Muscle Foods*, 18, 330–340.
- Tatıyaborworntham, N., Oz, F., Richards, M. P., Wu, H. (2022). Paradoxical effects of lipolysis on the lipid oxidation in meat and meat products. *Food Chemistry: X*, 14, 100317.
- TSE. (2012). TS 1070. Türk Sucuğu, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara.
- Toldra, F. (1998). Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Science*, 49, S101-S110.
- Toptancı, İ., Erçoşkun, H. (2017). Physicochemical and microbiological properties of Sucuk produced with different heat treatment temperatures. *Akademik Gıda*, 15(4), 344–349.
- Vioque-Amor, M., Gómez-Díaz, R., Clemente-López, I.; Sánchez-Giraldo, M.; Avilés-Ramírez, C. (2022). Influence of common reducing agents on technological parameters of dry-fermented sausages with low fat Content. *Foods*, 11, 2606.
- Zhang, W., Xiao, S., Ahn, D. U. (2013). Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(11), 1191–1201.

**FARKLI İLLERDEN TOPLANAN EKŞİ HAMUR ÖRNEKLERİNDEN  
SACCHAROMYCES CEREVISIAE SUŞLARININ İZOLASYONU, MOLEKÜLER  
KARAKTERİZASYONU VE POPÜLASYON ANALİZLERİ\***

**Nilgün Koçak\*\*, Mustafa Ardıç\***

Aksaray Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aksaray, Türkiye

Geliş/Received: 09.11.2023; Kabul /Accepted: 01.02.2024; Online baskı /Published online: 12.02.2024

Koçak, N., Ardıç, M. (2024). Farklı illerden toplanan ekşi hamur örneklerinden *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının izolasyonu, moleküler karakterizasyonu ve popülasyon analizleri. GIDA (2024) 49 (1) 179-192 doi: 10.15237/gida.GD23072

*Koçak, N., Ardıç, M. (2024). Isolation, molecular characterization, and population analysis of Saccharomyces cerevisiae from sourdough collected from different provinces. GIDA (2024) 49 (1) 179-192 doi: 10.15237/gida.GD23072*

**ÖZ**

Bu çalışmada 3 farklı ilden (Aksaray, Niğde ve Konya) toplanan 18 adet geleneksel ekşi hamur örneğinden *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının izolasyonu, farklı DNA markörleri ile genotipik karakterizasyonu ve popülasyon analizlerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. İzole edilen 72 adet endojen mayanın 58 tanesi *S. cerevisiae* olarak tanımlanmıştır. Tür içi genetik varyasyonun belirlenmesinde SCoT 13 primeri, iPBS ve ISSR primerlerine göre daha faydalı sonuçlar vermiştir. Popülasyonlar arasındaki mesafe arttıkça genetik uzaklık dereceleri de artış göstermiştir ( $R=0.74$ ). Popülasyonlar arası (%16) ve popülasyonlar içindeki (%84) genetik varyasyon dereceleri istatistiki olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). UPGMA dendrogramı üzerinde suşlar birçok alt gruba ayrılmış olup STRUCTURE analizine göre anlamlı alt grup sayısı iki çıkmıştır ( $\Delta K=2$ ). UPGMA ve PCoA'ya göre kümelenme suşların izole edildiği bölgelere göre gerçekleşmemiş olup rastgele dağılım gözlemlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Ekşi hamur, mayalar, moleküler karakterizasyon, DNA markörleri

**ISOLATION, MOLECULAR CHARACTERIZATION, AND POPULATION  
ANALYSIS OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE FROM SOURDOUGH  
COLLECTED FROM DIFFERENT PROVINCES**

**ABSTRACT**

It was aimed to isolate *Saccharomyces cerevisiae* strains from 18 traditional sourdough samples collected from 3 different provinces (Aksaray, Niğde, and Konya), and to conduct the genotypic characterization and population analyses using different DNA markers. In total, 58 of the 72 endogenous yeasts were identified as *S. cerevisiae*. In determining intraspecific genetic variation, SCoT 13 primer gave more useful results than iPBS and ISSR primers. As the distance between populations increased, the degree of genetic distance also increased ( $R = 0.74$ ). The degree of genetic variation between populations (16%) and within populations (84%) was found to be statistically significant ( $P$

\*Bu çalışma Nilgün Koçak'ın yüksek lisans tez çalışmasından üretilmiştir. This paper was produced from MSc thesis study of Nilgün Koçak

\*\*Yazışmadan sorumlu yazar/Corresponding author

✉: nilgunkocak6@gmail.com

☎: 0 (382) 217 2207

Nilgün Koçak; ORCID: 0000-0002-2136-786X

Mustafa Ardıç; ORCID: 0000-0002-4193-1990

<0.001). Strains were divided into many subgroups on the UPGMA dendrogram, and according to STRUCTURE analysis, the number of significant subgroups was two ( $\Delta K = 2$ ). According to UPGMA and PCoA, clustering did not occur according to the regions where the strains were isolated, and random distribution was observed.

**Keywords:** Sourdough, yeasts, molecular characterization, DNA markers

## GİRİŞ

Ekşi hamur, un ve su karışımının spontan bir şekilde ortamda bulunan mikroorganizmalar tarafından fermantasyonu sonucunda oluşur. Fermantasyonu sağlayan mikroorganizmalar laktik asit bakterileri (LAB) ile mayalardır. Bu mikroorganizmalar havadan, sudan ve undan gelmektedir (De Vuyst ve Neysens, 2005). Ekşi hamurda bulunan mikroorganizmaların üç temel görevi vardır. Bunlar ortamın asitliğini artırmak (LAB), aroma oluşumu (mayalar ve LAB) ve hamurun kabarması (mayalar ve LAB) olarak bildirilmiştir (De Vuyst vd., 2016). Mayalar temel olarak CO<sub>2</sub> üreterek hamurun kabarmasından sorumludurlar. Ayrıca, aldehit ve asetonlar gibi birçok aroma maddeleri de üreterek ekmeğin tat ve aromasına katkıda bulunurlar (Birch vd., 2013). Ekmekte meydana gelen bir takım yapısal problemler de sentezlenen glutatyon, gliserol ve pirüvik asit gibi bileşenler ile glüten ağını geliştirmek sureti ile iyileşmektedir (Lampignano vd., 2013).

Tip I ekşi hamur olarak da nitelendirilen geleneksel ekşi hamurdan en çok izole edilen maya türünün *Saccharomyces cerevisiae* olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Gül vd., 2005; Arıcı vd., 2018; Perricone vd., 2014; Yang vd., 2020). *Saccharomyces cerevisiae* suşlarından beklenen en önemli teknolojik özellik ekmeği hızlı bir şekilde kabartmasıdır. Bunun da mikroorganizmaların genetik farklılaşmalarından ileri geldiği bildirilmiştir (Huys vd., 2012). *S. cerevisiae* suşları arasındaki genetik farklılıkların belirlenmesinin farklı teknolojik özelliklere sahip suşların tespitinde kilit bir rol oynayacağı rapor edilmiştir (Aydın vd., 2023). Bu bağlamda farklı DNA markör yöntemleri DNA parmak izi üretmek suretiyle mayaların genetik yapısını incelemeye birçok araştırmacı tarafından kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP; Esteve-Zarzoso vd., 1999), Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD; Yang vd.,

2020), Simple Sequence Repeats (SSR; Börlin vd., 2020), Inter Simple Sequence Repeats (ISSR; Liu vd., 2021), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP; Gallego vd., 2005), Inter-primer binding site (iPBS; Aydın vd., 2020) ve Start Codon Targeted (SCoT; Aydın vd., 2022a) yer almaktadır.

Her bir markör tekniğinin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmakla birlikte uygun yöntemin seçimi çoğunlukla çalışılacak mikroorganizma türüne ve laboratuvar alt yapısına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Doğru yöntemin seçimi genetik olarak farklı uzaklığa sahip suşların belirlenmesinde önem arz etmektedir (Yeken vd., 2022). Günümüzde birçok mikroorganizmada sıklıkla kullanılan RFLP yönteminin tür içi genetik varyasyonu belirlemede yetersiz düzeyde olması ve bazı maya türlerini birbirinden ayırmadaki yetersizliği, RAPD yönteminin ise düşük bağlanma sıcaklığı ve kısa primer boyundan dolayı tekrar edilebilirliğinin düşük olması her iki yöntemin de kullanımını kısıtlayan en büyük unsurlardır (Esteve-Zarzoso vd., 1999; Pathania vd., 2010).

ISSR markörleri tekrarlayan oligonükleotid motifleri arasında kalan bölgeyi hedef almaktadır. Bu teknik; RFLP, RAPD gibi tekniklerle kıyaslandığında, uygulaması kolay ve ekonomik olması ile yüksek polimorfizm göstermesinden dolayı farklı maya türlerinin türler arası ve tür içi genetik varyasyonunu belirlemek suretiyle kullanılmaktadır (Gallardo vd., 2014; Liu vd., 2021). Genomun bir yerinden diğer yerine kopyala yapıştır modeli ile çalışan ve genom boyunun uzamasına yol açan retrotranspozonlar genetik varyasyonun oluşmasında kritik bir öneme sahiptir (Feschotte ve Pritham, 2007). Retrotranspozon temelli olan universal iPBS markörleri de genetik varyasyonun belirlenmesinde oldukça faydalı bir araç olarak nitelendirilmektedir (Kalendar vd., 2010). Son yıllarda mayaların tanımlanması ile türler arası ve

tür içi genetik varyasyonun belirlenmesinde oldukça faydalı bilgiler sağladığı da bildirilmiştir (Aydın vd., 2020; Aydın vd., 2022b; Kahve vd., 2022; Kahve, 2023). Son olarak, SCoT markörleri DNA başlangıç kodonunun (ATG) etrafındaki bölgeyi hedef almaktadır. Bu yöntem ilk olarak Collard ve Mackill (2009) tarafından bitki genomu baz alınarak tasarlanmış olmasına karşın aralarında maya ve küf türlerinin de bulunduğu birçok mikroorganizma için kullanılmıştır (Aydın vd., 2022a; Palacıoğlu vd., 2023). Mevcut SCoT markörleri maya genomu baz alınarak tasarlanmadığından dolayı spesifik bağlantılar gerçekleşmemektedir. Ancak yüksek bağlanma sıcaklıkları ile uzun primer boyu sayesinde tekrar edilebilirliği çok yüksektir (Tikendra vd., 2021).

Mevcut literatür incelendiğinde DNA markörlerinin farklı popülasyonlardaki genetik varyasyonu belirleme faydalı sonuçlar verebileceği görülmektedir (Börlin vd., 2020; Drumonde-Neves vd., 2018). İç Anadolu bölgesindeki farklı illerden toplanan ekşi hamurlardan izole edilen *S. cerevisiae* suşlarının yüksek genetik varyasyon gösterdiği bildirilmekle birlikte (Aydın vd., 2022b; 2023) farklı markör sistemlerini genetik varyasyonu belirlemede bir arada kullanımına ilişkin İç Anadolu popülasyonu ile ilgili bir araştırmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada; Aksaray, Niğde ve Konya illerinden toplanan Tip I ekşi hamur örneklerinden *S. cerevisiae* suşlarının izolasyonu ile ISSR, iPBS ve SCoT markörlerinin bir arada kullanılması sureti ile genetik karakterizasyonun ve popülasyon analizlerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Ekşi hamur temini

Toplam 18 adet Tip I ekşi hamur örneği Aksaray ( $n=6$ ), Konya ( $n=6$ ) ve Niğde ( $n=6$ ) illerinden temin edilmiştir. Numuneler soğuk zincir altında Aksaray Üniversitesi Gıda Biyoteknolojisi Laboratuvarına getirilerek ivedi bir şekilde analize alınmıştır.

#### LAB ve mayaların sayımı

Toplam 10 g ekşi hamur örneği 90 mL %0.85 oranında NaCl içeren steril fizyolojik tuzlu su içerisinde homojenize edilerek seri dilüsyonlar

hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan paralelli ve tekerrürlü bir şekilde yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Mayalar için Chloramphenicol Glucose Agar (CGA; Biokar, Fransa), LAB için de 100 mg/L oranında sikloheksimid içeren (Sigma, USA) MRS Agar (Biokar, Fransa) kullanılmıştır. İnkübasyon koşulları mayalar için aerobik şartlar altında 25 °C'de 48-72 saat, LAB için ise anaerobik olarak 28 °C'de 48-72 saat olarak gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonucunda her iki mikroorganizma grubu da sayılarak sonuçlar log KOB/g olarak ifade edilmiştir. Elde edilen LAB sayısı (KOB/g) maya sayısına (KOB/g) bölünerek LAB/maya oranı da hesaplanmıştır.

#### Mayaların izolasyonu

Sayımı yapılan petrilerden *S. cerevisiae* olduğu düşünülen koloniler rastgele seçilerek Sabouraud Dextrose Broth (SDB; Biokar, Fransa) besiyerine alınmıştır. Bir gece geliştirilen koloniler CGA besiyerine sürülmüştür. İnkübasyon sonucu elde edilen tek koloniler alınarak yatık agarlarda +4 °C'de depolanmıştır.

#### DNA izolasyonu

DNA izolasyonunda Aydın vd. (2022a) tarafından önerilen yöntem minör modifikasyonlar ile kullanılmıştır. Yatık agarda stok olarak muhafaza edilen mayalar SDB kullanılarak aktifleştirilmiş olup, CGA besiyerine sürme yöntemi ile ekilmiştir. CGA üzerinde gelişen koloniler steril bir büstüri yardımı ile kazınarak içerisinde 200 µL'lik ddH<sub>2</sub>O bulunan 2.0 mL'lik eppendorf tüplere aktararak 90 °C'de yarım saat boyunca bekletilmiştir. Üzerine 650 µL ekstraksiyon çözeltisi (200 mM Tris-HCl pH: 8.5, 25 mM NaCl, 25 mM EDTA, %0.5 SDS) eklenerek 65 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, 650 µL kloroform izoamil alkol (24:1, v/v, AppliChem, Almanya) eklenerek 14000 rpm'de 20 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Oluşan üst fazdan 500 µL alınarak üzerine 500 µL izopropanol (Merck, Almanya) eklenerek karışım 14000 rpm'de 20 dakika boyunca +4 °C'de santrifüj edilmiştir. Oluşan pellet %70'lik etanol ile yıkanarak pellet kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan pelletin üzerine 50 µL ddH<sub>2</sub>O eklenerek -20 °C'de depolamaya alınmıştır. DNA konsantrasyon tayini bir nanospektrofotometre



(DS-11 FX, DeNovix Inc., Wilmington, ABD) yardımı ile gerçekleştirilmiştir.

### *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının tanımlanması/doğrulaması

*S. cerevisiae* izolatlarının moleküler doğrulaması, türe özgü SC1 (5' – AAC GGT GAG AGA TTT CTG TGC – 3') ve SC2 (5' – AGC TGG CAG TAT TCC CAC AG – 3') primer çiftlerinden yararlanılarak yapılmıştır (Josepa vd., 2000). Pozitif kontrol olarak GenBank'ta MK358173 erişim numarasıyla saklanan *S. cerevisiae* suşu 105-E2 kullanılmıştır. PCR reaksiyonları, 1x PCR reaksiyon tamponu, 0,4 µM SC1 ve SC2 primerleri, her birinden 200 µM dNTP, 20 ng şablon DNA ve 1,5 birim Ampliçon TEMPase Hot Start DNA polimeraz (Berntsen, Rdovre, Danimarka). PCR amplifikasyonu, 94 °C'de 5 dakikalık başlangıç denatürasyonu, daha sonra ise 94 °C'de 30 saniyelik denatüre edilerek 30 döngü, 50 °C'de 30 saniyelik tavlama, 72 °C'de 1 dakikalık uzatma ve 72 °C'de 7 dakikalık son uzatmadan oluşmuştur. Amplikonlar %1.4 agaroz jel üzerinde analiz edilmiş ve etidyum bromür ile boyanmıştır. Ardından bir UV altında jel görüntüleme sistemi (G:BOX F3, Syngene, Cambridge, İngiltere) kullanılarak görselleştirilmiştir.

### Moleküler markör analizleri

Çalışmada farklı genetik uzalığa sahip *S. cerevisiae* izolatlarının belirlenmesinde etkili olduğu bildirilen iki dejenere ISSR primeri (ISSR-4; 5'-HVHTGTGTGTGTGTG-3', ISSR-7; 5'-AGAGAGAGAGAGAGAGAGY-3') (Aydın vd., 2023), bir iPBS primeri (iPBS2078; 5'-GCGGAGTCGCCA-3') (Aydın vd., 2022b) ve bir SCoT primeri (SCoT13; 5'-ACGACATGGCGACCATCG-3') (Aydın vd., 2022a) kullanılmıştır. Primerlere ilişkin detaylar Çizelge 1'de sunulmuştur. PCR amplifikasyonları 25 µL reaksiyon karışımı içerisinde gerçekleştirilmiş olup karışım 25 ng DNA, 1 x MgCl<sub>2</sub>, 0.24 mM dNTPs, 0.8 µM primer ve 1 ünite Dream Taq polimerase (Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD) içermiştir. PCR amplifikasyonlarında ISSR, iPBS ve SCoT markörleri için sırasıyla Aydın vd. (2023), Aydın vd. (2022b) ve Aydın vd. (2022a) tarafından önerilen koşullar kullanılmıştır. PCR ürünleri %1.2'lik agaroz jelde yürütülerek etidyum bromür ile boyanmıştır. Görüntüleme için bir görüntüleme cihazı (G:BOX F3, Syngene, Cambridge, İngiltere) kullanılmıştır. Farklı *S. cerevisiae* suşlarının iPBS-2078 primeri ile elde edilen bant desenleri Şekil 1'de sunulmuştur.

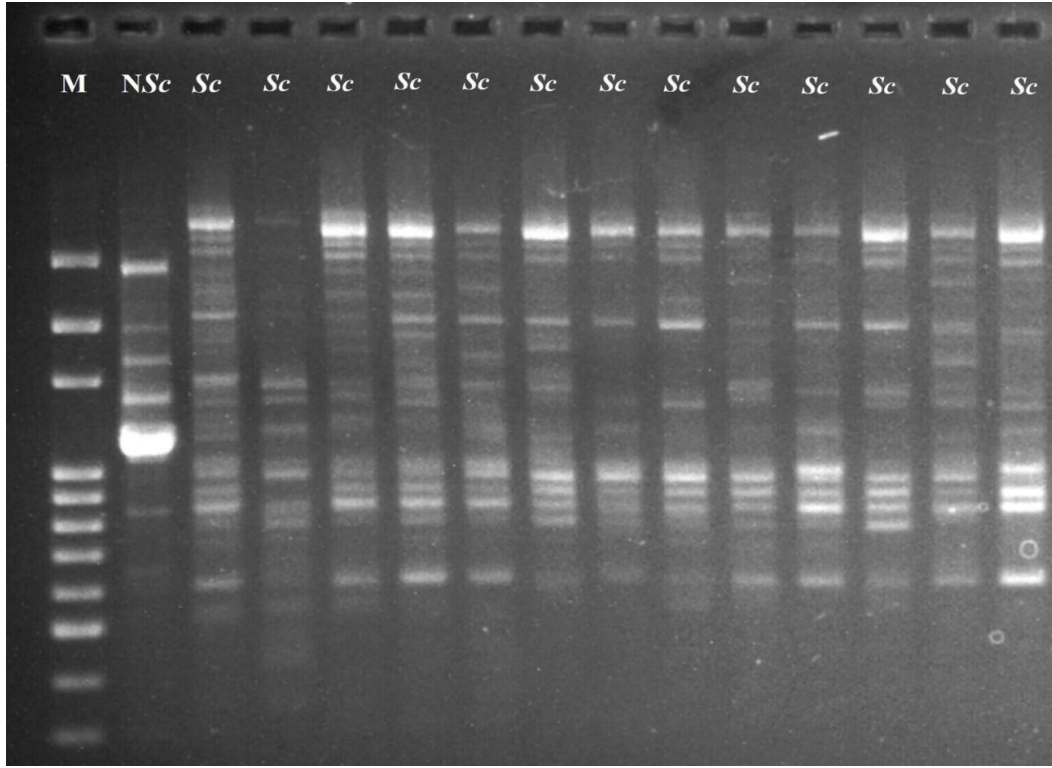
Çizelge 1. Kullanılan primerlere ilişkin bilgiler.

Table 1. Information on the primers used.

Primer	Dizilim (3'-5')	TB	PB	PPY	PIC	RP
ISSR-4	HVHTGTGTGTGTGTG	17	15	88.23	0.31	3.62
ISSR-7	AGAGAGAGAGAGAGAGY	14	12	85.71	0.34	3.97
iPBS-2078	GCGGAGTCGCCA	11	10	90.91	0.23	2.68
SCoT-13	ACGACATGGCGACCATCG	18	17	94.44	0.39	4.42

TB: toplam bant, PB: polimorfik bant, PPY: polimorfik bant yüzdesi, PIC: polimorfik bilgi indeksi, RP: çözme gücü.

TB: total band, PB: polymorphic band, PPY: percentage of polymorphic band, PIC: polymorphic information index, RP: resolving power.



Şekil 1. Farklı *S. cerevisiae* suşlarının iPBS-2078 primeri ile elde edilen bant desenleri. M: Marker, NSc: Non-*cerevisiae*, Sc: *S. cerevisiae*.

Figure 1. Band patterns obtained with iPBS-2078 primer of different *S. cerevisiae* strains. M: Marker, NSc: Non-*cerevisiae*, Sc: *S. cerevisiae*.

### İstatistiksel analizler

Elde edilen veriler PCR bantlarının var oluş pozisyonuna göre var (1) ve yok (0) olarak kodlanarak ikili bir veri matrisi oluşturulmuştur. İlk olarak kullanılan markörlerin kullanılabilirliğini test etmek için çözme gücü (RP) ve polimorfik bilgi indeksi (PIC) değerleri hesaplanmıştır. Markörlerin PIC değeri,  $PIC=2f(1-f)$  formülü kullanılarak hesaplanmış olup  $f$  değeri amplifiye edilen allelin frekansını ifade etmektedir (Roldan-Ruiz vd., 2000). RP değerini hesaplamak için ise bant bilgisi  $(I_b)=1 - (2 \times 10.5^{-p})$  ile hesaplanmıştır. Burada  $p$  değeri maya izolatlarının oranını temsil etmektedir. Son olarak her bir primer için elde edilen  $I_b$  toplamı ( $\Sigma I_b$ ) hesaplanmıştır (Prevost ve Wilkinson, 1999).

Elde edilen ikili veri matrisi primerlerin paylaşılan alel oranına dayanan Jaccard'ın benzerlik katsayısı kullanılarak genetik benzerlik matrisine çevrilmiştir. R paket programı ile ağırlıklı olmayan

aritmetik ortalama eş grup metodu (UPGMA) analizi yapılarak dendrogram elde edilmiştir (Oksanen vd., 2017; R studio Team, 2020).

Tür içi genetik varyasyonun belirlenmesi amacı ile farklı popülasyonlara ilişkin gruplar belirlenmiştir. Tür içi genetik varyasyonun belirlenmesi amacıyla POPGENE v1.32 istatistik yazılımı kullanılmış olup gözlenen aleller sayısı, etkili allel sayısı, Nei'nin gen çeşitliliği ve Shannon'un bilgi indeksi değerleri belirlenmiştir (Yeh vd., 1999). Moleküler varyans analizi (AMOVA) ise GenAlEX 6.5 kullanılarak yapılmıştır (Peakall ve Smouse 2012).

Oluşan anlamlı alt popülasyon sayısının ( $\Delta K$ ) belirlenmesi için ikili veri matrisi Structure v2.3.4 ile analiz edilmiştir. Varsayımsal küme aralığı 1-10 arası seçilmiş olup analiz 10 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Burn-in-time ve MCMC verileri de 100.000'e 100.000 olarak ayarlanmış olup sonuçlar STRUCTURE HARVESTER v.

0.6.94 ara yüzü ile işlenerek  $\Delta K$  değeri hesaplanmıştır (Earl, 2012; Evanno vd., 2005; Pritchard vd., 2020).

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan çalışmada 18 adet ekşi hamur numunesine ait LAB ve maya sayım sonuçları Çizelge 2'de

gösterilmiştir. Buna göre LAB sayısı  $7.41 \pm 0.35$  ile  $9.23 \pm 0.20$  log KOB/g arasında değişirken ortalama değerin  $8.37 \pm 0.58$  log KOB/g olduğu saptanmıştır. Maya sayım sonuçlarının ise  $5.27 \pm 0.09$  ile  $7.60 \pm 0.15$  log KOB/g arasında değiştiği ve ortalama değerin  $6.33 \pm 0.78$  log KOB/g olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Ekşi hamur numunelerine ilişkin mikrobiyolojik sayım sonuçları.

Table 2. Microbiological count results for sourdough samples.

No	LAB (Log KOB/g)	Maya (Log KOB/g)	LAB/Maya
N1	$8.76 \pm 0.18$	$6.78 \pm 0.08$	97
N2	$7.69 \pm 0.23$	$5.44 \pm 0.17$	178
N3	$9.07 \pm 0.17$	$7.27 \pm 0.56$	63
N4	$8.25 \pm 0.31$	$7.00 \pm 0.15$	18
N5	$9.04 \pm 0.15$	$7.60 \pm 0.15$	27
N6	$9.23 \pm 0.20$	$7.17 \pm 0.28$	113
N7	$8.00 \pm 0.14$	$5.95 \pm 0.07$	111
N8	$7.95 \pm 0.05$	$5.44 \pm 0.14$	321
N9	$9.14 \pm 0.19$	$6.77 \pm 0.05$	233
N10	$8.30 \pm 0.46$	$5.71 \pm 0.09$	384
N11	$7.48 \pm 0.37$	$5.39 \pm 0.23$	120
N12	$8.88 \pm 0.10$	$6.95 \pm 0.15$	84
N13	$8.57 \pm 0.48$	$5.27 \pm 0.09$	1995
N14	$7.41 \pm 0.35$	$5.40 \pm 0.16$	101
N15	$7.58 \pm 0.27$	$6.14 \pm 0.41$	27
N16	$8.79 \pm 0.09$	$5.89 \pm 0.25$	794
N17	$8.08 \pm 0.30$	$6.67 \pm 0.13$	25
N18	$8.50 \pm 0.07$	$7.14 \pm 0.34$	22

Tip 1 ekşi hamurlarda LAB/Maya oranının 1000:1-100:1 olması beklenmektedir. Bu oranlar Tip I ekşi hamurların analizinde belirleyici rol oynamakla birlikte fermantasyon koşullarına bağlı olarak 10:1 civarına kadar düştüğü bilinmektedir (Arora vd., 2021). Yapılan bu çalışmada ise, ekşi hamur numunelerinin LAB ve maya sayılarının oranları incelendiğinde, oranların 10 örnekte 100/1'den yüksek olduğu 8 örnekte ise bu değer altında kaldığı görülmektedir. Bu oranın en düşük 18/1, en yüksek 1995/1 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Türkiye'de ve diğer ülkelerde üretilen ekşi hamurlara ilişkin sayım sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Arıcı vd., 2018; Aydın vd., 2022a; Lhomme vd., 2015; Minervini vd., 2012; Zhang vd., 2011).

Analize alınan 18 adet geleneksel ekşi hamur örneğinden toplamda 72 adet maya saflaştırılmıştır. *Saccharomyces cerevisiae* türüne spesifik primer çiftinin kullanılması sonucunda bunlardan 58 tanesinin *S. cerevisiae* türü olduğu tespit edilmiştir. PCR ürünü *S. cerevisiae* izolatları için yaklaşık 1170-1180 bp arasında oluşmuştur. İki maya suşunda ise birden fazla noktada spesifik olmayan bağlantılar gerçekleşmiştir. Josepa vd. (2000) tarafından bildirildiği üzere bant vermeyen ve spesifik olmayan bağlantı gerçekleşen suşlar non-*cerevisiae* olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca doğrulama bu çalışma kapsamında kullanılan farklı markörler ile de yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak sekans sonucu bulunan ve NCBI Genbank veri sisteminde MK358173 erişim numarası ile yer alan *S. cerevisiae* 105-E2 suşu kullanılmıştır.

Böylece toplam maya mikrobiyotasının %80.55'inin *S. cerevisiae* tarafından oluştuğu tespit edilmiştir. Çalışma sadece *S. cerevisiae* suşlarının moleküler karakterizasyonu ile popülasyon analizlerini içerdiğinden non-*cerevisiae* türleri çalışmanın diğer kısmında değerlendirilmemiştir. Tüm örneklerden *S. cerevisiae* suşu izole edilmiştir. Diğer yandan, 7 farklı örnekten (N2, N5, N7, N8, N11, N13, N16) izole edilen toplam 14 adet maya suşu non-*cerevisiae* olarak tanımlanmıştır.

Tip I ekşi hamur geleneksel yollarla, starter kültür kullanılmadan belirli aralıklarla pasajlanarak elde edilen un ve su karışımıdır. Geleneksel olarak üretilen ekşi hamurlar un, su veya diğer katkı maddelerinden gelen mikroorganizmalar ile fermente olmaktadır. Ancak fırıncılık ürünlerinin yapıldığı ortamlarda *S. cerevisiae* suşlarının bulunabileceği, bunların da ekşi hamuru kontamine edebileceği farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Minervini vd., 2015). Ancak *S. cerevisiae* suşunun birçok ekşi hamurda dominant olarak bulunmasının tek sebebi bu da değildir. Vrancken vd. (2010) tarafından bildirildiği üzere fırıncılık ürünlerinin üretilmediği laboratuvar ortamlarında bile *S. cerevisiae* suşlarının izole edilebileceğini, özellikle kullanılan un türünün bunda ana rol oynayabileceğini bildirmiştir. Bu yaklaşım birçok araştırmacı grubu tarafından da desteklenmiştir (De Vuyst vd., 2016; Vernocchi vd., 2004). Hem Türkiye hem de yurt dışında yapılan çalışmalar sonucunda da *S.*

*cerevisiae* ekşi hamur mikrobiyotasında baskın tür olduğu bildirilmiştir (Aydın vd., 2022a; Boyacı-Gündüz ve Erten, 2020; Gül vd., 2005; Lhomme vd., 2015; Yağmur vd., 2016; Minervini vd., 2012).

Toplam 18 adet ekşi hamur örneğinden izole edilen 58 adet *S. cerevisiae* suşu örneklerin ilişkili olduğu bölgelere göre gruplandırılmıştır. Buna göre Aksaray'dan 20, Niğde'den 19 ve Konya'dan 19 olmak üzere toplam 3 popülasyon oluşturulmuştur. Veri matrisi GenAlex formatına uygun olarak düzenlenerek başta bölgelere göre alleller sayısı, etkili alleller sayısı, Nei'nin (1973) gen çeşitliliği ve Shannon bilgi indeksi hesaplanmış olup tüm değerler Çizelge 3'te verilmiştir. Farklı DNA sistemleri kullanılarak elde edilen değerlerin Aksaray ve Niğde popülasyonları için Aydın vd. (2022b) tarafından bildirilen değerlerden yüksek olduğu saptanmıştır. Benzer sonuçlar farklı şaraplık üzüm popülasyonlarından izole edilen *S. cerevisiae* izolatları için de bildirilmiştir (Tello vd., 2012). Elde edilen bulgular ekşi hamurdan izole edilen *S. cerevisiae* suşlarının yakın popülasyonlarda bile farklı genetik yapı sergileyebileceğini göstermiştir. Popülasyonlar kendi içinde değerlendirildiğinde ise Aksaray ve Niğde illerinden toplanan ekşi hamurlara ilişkin *S. cerevisiae* suşlarında genetik farklılaşmanın daha yüksek olduğu, Konya'dan toplanan izolatlarda ise daha sınırlı bir genetik varyasyon tespit edildiği görülmektedir.

Çizelge 3. Farklı popülasyonlara ilişkin genetik varyasyon verileri.

Table 3. Genetic variation data for different populations.

Popülasyon	Na*	Ne	I	h	PL (%)
Aksaray (n=20)	1.625±0.067	1.445±0.044	0.375±0.032	0.254±0.023	68.75
Niğde (n=19)	1.563±0.073	1.414±0.045	0.350±0.032	0.236±0.023	65.00
Konya (n=19)	1.325±0.085	1.251±0.036	0.240±0.029	0.156±0.20	50.00
Toplam (n=58)	1.504±0.044	1.370±0.025	0.322±0.018	0.215±0.013	61.25±5.73

\*Na: Alleller sayısı, Ne: Etkili alleller sayısı, I: Shannon Bilgi indeksi, h: Nei'nin gen çeşitliliği, PL: Polimorfik lokus yüzdesi

\*Na: Number of alleles, Ne: Number of effective alleles, I: Shannon Information index, h: Gene diversity of Nei, PL: Percentage of polymorphic locus

Popülasyonların genetik yapısının birbirlerine olan yakınlığı GenAlEx ile incelenmiş olup sonuçlar Çizelge 4'te verilmiştir. Buna göre birbirlerine daha yakın olan iller Nei'nin genetik benzerliğine yakınlık indeksinde de daha yakın olarak gözlemlenmiştir. Örneğin birbirine uzaklık olarak en yakın ve ekolojik olarak daha benzer olan Aksaray ve Niğde popülasyonları birbirlerine daha yakın (0.968), birbirlerine en uzak ve ekolojik

olarak daha farklı olan Niğde ve Konya popülasyonları da genetik olarak en uzak (0.922) popülasyonlar olmuştur. Popülasyonların birbirlerine olan mesafesi ve genetik yakınlığı GenAlEx programında yer alan Mantel testi ile de test edilmiş olup popülasyonlar arasındaki mesafe ile genetik yakınlık arasında yüksek korelasyon bulunmuştur ( $R=0.74$ ).

Çizelge 4. Popülasyonların Nei'ye göre genetik benzerlik matrisi.  
Table 4. Genetic similarity matrix of populations according to Nei.

Popülasyon	Aksaray	Niğde	Konya
Aksaray	1.000		
Niğde	0.968	1.000	
Konya	0.922	0.915	1.000

Farklı popülasyonların moleküler varyans analizi (AMOVA) sonucuna göre belirlenen genetik farklılığın %16'sı popülasyonlar arasında bulunurken %84'ü popülasyonlar içinde bulunmuştur (Çizelge 5). Popülasyonlar arası ve popülasyon içi tespit edilen genetik varyasyon önemli bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Bu yüksek varyasyon oranı suşlar arasındaki varyasyon derecesini gösteren  $F_{ST}$  değeri (0.164) ile de tutarlıdır. Coğrafi ve ekolojik farklılıkların farklı coğrafi kökenlerden izole edilen *S. cerevisiae* suşlarının genetik yapısında önemli roller oynamış olabileceğini düşündürmektedir. Bu genetik farklılık sadece genetik farklılaşmanın belirlenmesinde etkili değildir. Farklı genetik uzaklığa sahip *S. cerevisiae* suşlarının seçiminde de ön eleme aracı olarak kullanılabilir. Diğer bir ifade

ile, tüm izolatların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi yerine farklı genetik uzaklığa sahip suşların tümünü temsilen teknolojik özelliklerinin belirlenmesi farklı araştırmacılar tarafından sıklıkla tercih edilir olmuştur (Yang vd., 2020). Farklı genetik uzaklığa sahip suşlar ile teknolojik özellikler arasındaki ilişki de istatistik olarak değerlendirilebilmektedir. Aydın vd. (2023), ISSR markörleri ile karakterize ettiği mayalarda spesifik bölgelerdeki polimorfik yapı ile fermantasyon kapasitelerinin yüksek korelasyon içinde olduğunu rapor etmiştir. Bu gibi durumlarda SCAR (Sequence-Characterized Amplified Regions) yaklaşımı ile direkt ilgili teknolojik özelliğe sahip suşların belirlenebilmesi mümkün olmaktadır (Luan vd., 2014).

Çizelge 5. Popülasyonların AMOVA sonucu.  
Table 5. AMOVA result of populations.

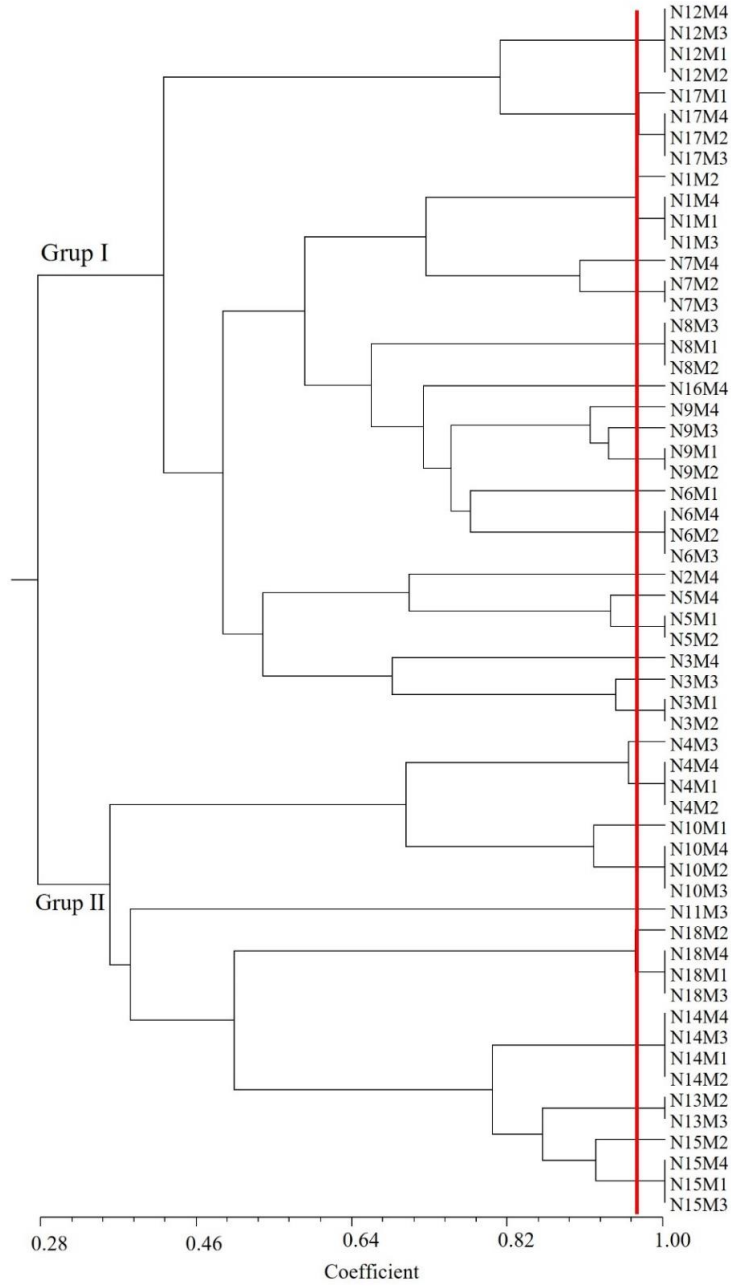
Kaynak	b.d*	KT	OK	TV	%	$F_{ST}$	P
Pop. arası	2	90.315	45.158	1.848	16		
Pop. içi	55	518.805	9.433	9.433	84	0.164	0.001
Toplam	57	609.121		11.281	100		

\*b.d: Bağımsızlık derecesi, KT: Karelerin toplamı, OK: Ortalama kare, TV: Tahmini varyans,  $F_{ST}$ : F-statistics, P: Anlamlılık düzeyi

\*b.d: Degree of independence, KT: Sum of squares, OK: Mean square, TV: Estimated variance,  $F_{ST}$ : F-statistics, P: Significance level

UPGMA dendrogramı toplamda 58 *S. cerevisiae* suşunu iki ana gruba ayırmış olup her bir grup da kendi içinde iki majör gruba ayrılmaktadır (Şekil 2). En yüksek ayırım gücü 0.97 değerinde gerçekleşmiştir. Genetik karakterizasyonun toplamda 4 primer ile yapılması yüksek ayırım derecesine sahip sonuçlar elde edilmesini

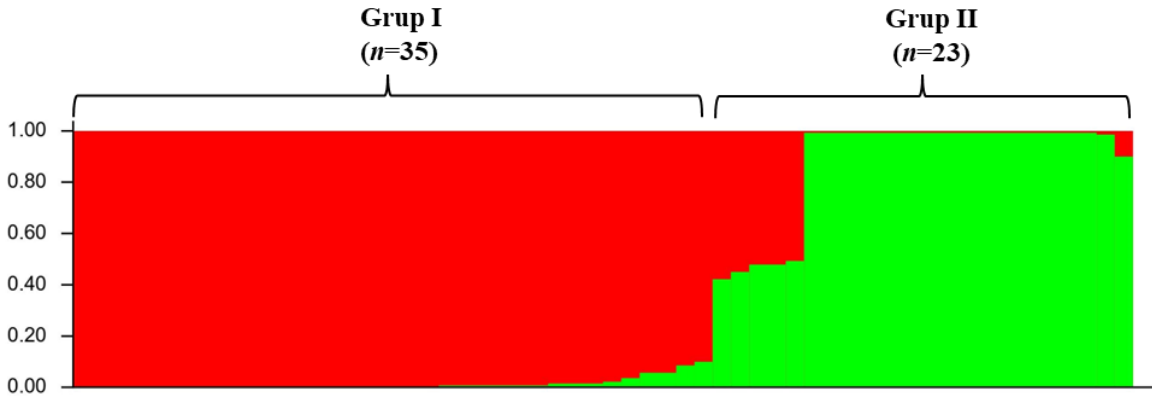
sağlamıştır. Benzer bir ayırım gücü ekşi hamurdan izole edilen *S. cerevisiae* suşlarının RAPD ve ISSR primerleri ile karakterize edilmesi ile de elde edilmiştir (Yang vd., 2020; Aydın vd., 2023). Ayrıca, izolatların izole edildiği coğrafi bölgelere göre ayrılmadığı da belirlenmiştir.



Şekil 2. UPGMA dendrogramı.  
Figure 2. UPGMA dendrogram.

Anlamalı alt popülasyonların sayısı ( $\Delta K$ ) Bayesian kümeleme modeli ile STRUCTURE datalarının STRUCTURE HARVESTER ara yüzü ile işlenmesi ile test edilmiş olup  $\Delta K=2$  çıkmıştır. Grupları temsil eden alanlar Şekil 3'te verilmiştir. Elde edilen gruplar UPGMA ile uyumlu olup

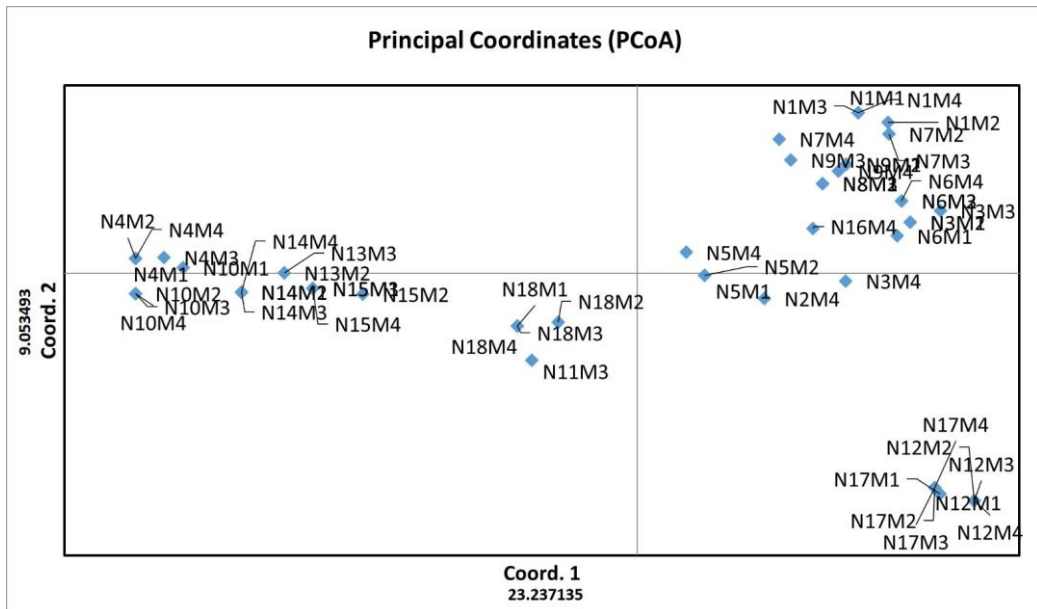
Grup I 35, Grup II ise 23 *S. cerevisiae* suşu içermektedir. Ancak Grup II'de yer alan 5 izolat (N11M3, N18M1;4) her iki gruba da benzer bir yakınlık göstermiştir. Bu izolatlardan renk haritasında hem yeşil hem de kırmızı renk ile ifade edildiği görülmektedir.



Şekil 3. STRUCTURE analizine göre oluşan gruplar ( $\Delta K=2$ ).  
Figure 3. Groups formed according to STRUCTURE analysis ( $\Delta K=2$ ).

İzolatlardan PCoA analiz sonuçları dikkate alındığında UPGMA dendrogramı ile uyum içerisinde olduğu görülmektedir (Şekil 4). PCoA dendrogramı incelendiğinde grafiğin sağ kısmında toplam 35 adet suşun yer aldığı Grup I, sol tarafında ise 23 izolatanın yer aldığı Grup II

bulunmaktadır. STRUCTURE sonuçlarına göre out-group olarak ifade edilen ve her iki gruba da yakın mesafede sonuç veren 5 adet suşun ise koordinat düzleminde her iki grubun ortasında yer aldığı görülmektedir.



Şekil 4. İzolatların PCoA dendrogramı.  
Figure 4. PCoA dendrogram of isolates.

**SONUÇ**

Sonuç olarak, 58 adet *S. cerevisiae* suşunun genetik varyasyonu ve popülasyon analizleri ISSR, İPBS ve SCoT primerleri kullanılarak incelenmiştir. Bulgular, ISSR, İPBS ve SCoT primerlerinin, farklı lokasyonlardan elde edilen *S. cerevisiae* suşlarının genetik çeşitliliğini değerlendirmede bir arada kullanılabileceğini ve faydalı sonuçlar ortaya koyduğunu göstermiştir. Bu markör sistemlerinin bir arada kullanımının sadece popülasyonların genetik yapısını incelemeye değil, teknolojik özelliklerin belirlenmesinden önce de bir ön eleme aracı olarak kullanılmak suretiyle iş yükü ve maliyeti azaltmada önemli bir rol oynayacağı düşünülmektedir. Ayrıca, tür içi farklı polimorfik suşlar ile teknolojik özellikler arasındaki farkın istatistiksel açıdan değerlendirilmesi ile rutin analizlerde ilgili teknolojik özelliğe sahip suşların direkt olarak DNA markörü ile belirlenmesi üstün suşların tespiti için önemli bir kilometre taşı olacaktır. İleriki çalışmalarda teknolojik özellikler ile polimorfik suşlar arasındaki ilişki incelenecektir.

**ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI**

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

**YAZAR KATKILARI**

Yazarlar tüm süreç boyunca eşit düzeyde katkı sağlamıştır.

**KAYNAKÇA**

Arıcı, M., Özülcü, G., Yıldırım, R. M., Sağdıç, O., Durak, M. Z. (2018). Biodiversity and technological properties of yeasts from Turkish sourdough. *Food science and biotechnology*, 27, 499-508. doi:10.1007/s10068-017-0282-0.

Arora, K., Ameer, H., Polo, A., Di Cagno, R., Rizzello, C. G., Gobbetti, M. (2021). Thirty years of knowledge on sourdough fermentation: A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 71-83, doi: 10.1016/j.tifs.2020.12.008

Aydın, F., Özer, G., Alkan, M., Çakır, İ. (2020). The utility of iPBS retrotransposons markers to analyze genetic variation in yeast. *International*

*Journal of Food Microbiology*, 325, 108647, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108647

Aydın, F., Özer, G., Alkan, M., Çakır, İ. (2022a). 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, F., Özer, G., Alkan, M., Çakır, İ. (2022b). Genetic diversity and population structure of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from Turkish sourdough by iPBS-retrotransposons markers. *Archives of Microbiology*, 204(12), 693, doi: 10.1007/s00203-022-03313-x

Aydın, F., Günen, T. U., Kahve, H. İ., Güler, E., Özer, G., Aktepe, Y., Çakır, İ. (2023). Molecular and Technological Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* from Sourdough. *Fermentation*, 9(4), 329, doi: 10.3390/fermentation9040329.

Birch, A. N., Petersen, M. A., Arneborg, N., Hansen, Å. S. (2013). Influence of commercial baker's yeasts on bread aroma profiles. *Food Research International*, 52(1), 160-166, doi: 10.1016/j.foodres.2013.03.011

Boyacı-Gündüz, C. P., Erten, H. (2020). Predominant yeasts in the sourdoughs collected from some parts of Turkey. *Yeast*, 37(9-10), 449-466, doi: 10.1002/yea.3500

Börnin, M., Claisse, O., Albertin, W., Salin, F., Legras, J. L., Masneuf-Pomarede, I. (2020). Quantifying the effect of human practices on *S. cerevisiae* vineyard metapopulation diversity. *Scientific Reports*, 10(1), 16214, doi: 10.1038/s41598-020-73279-7

Collard, B. C., Mackill, D. J. (2009). Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 27, 86-93, doi: 10.1007/s11105-008-0060-5

De Vuyst, L., Neysens, P. (2005). The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 43-56, doi: 10.1016/j.tifs.2004.02.012



- De Vuyst, L., Harth, H., Van Kerrebroeck, S., Leroy, F. (2016). Yeast diversity of sourdoughs and associated metabolic properties and functionalities. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 26-34, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.018
- Drumonde-Neves, J., Franco-Duarte, R., Vieira, E., Mendes, I., Lima, T., Schuller, D., Pais, C. (2018). Differentiation of *Saccharomyces cerevisiae* populations from vineyards of the Azores Archipelago: Geography vs Ecology. *Food Microbiology*, 74, 151-162, doi: 10.1016/j.fm.2018.03.017
- Earl, D. A., VonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4, 359-361, doi: 10.1007/s12686-011-9548-7
- Esteve-Zarzoso, B., Belloch, C., Uruburu, F., Querol, A. (1999). Identification of yeasts by RFLP analysis of the 5.8 S rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers. *International Journal of Systematic and evolutionary microbiology*, 49(1), 329-337, doi: 10.1099/00207713-49-1-329
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611-2620, doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
- Feschotte, C., Pritham, E. J. (2007). DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes. *Annual Review of Genetics*, 41, 331-368. doi: 10.1146/annurev.genet.40.110405.090448
- Gallardo, G., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., Benito, M. J., Córdoba, M. G., Pérez-Nevado, F., Martín, A. (2014). Application of ISSR-PCR for rapid strain typing of *Debaryomyces hansenii* isolated from dry-cured Iberian ham. *Food Microbiology*, 42, 205-211. doi: 10.1016/j.fm.2014.03.022
- Gallego, F. J., Perez, M. A., Núñez, Y., Hidalgo, P. (2005). Comparison of RAPDs, AFLPs and SSR markers for the genetic analysis of yeast strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiology*, 22(6), 561-568, doi: 10.1016/j.fm.2004.11.019
- Gül, H., Özçelik, S., Sağdıç, O., Certel, M. (2005). Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs. *Process Biochemistry*, 40(2), 691-697, doi: 10.1016/j.procbio.2004.01.044
- Huys, G., Daniel, H. M., De Vuyst, L. (2012). Taxonomy and biodiversity of sourdough yeasts and lactic acid bacteria. In Handbook on sourdough biotechnology (pp. 105-154). New York, NY: Springer US. doi: 10.1007/978-1-4614-5425-0\_5
- Josepa, S., Guillamon, J. M., Cano, J. (2000). PCR differentiation of *Saccharomyces cerevisiae* from *Saccharomyces bayanus*/*Saccharomyces pastorianus* using specific primers. *FEMS Microbiology Letters*, 193(2), 255-259, doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09433.x
- Kahve, H. I., Akbulut, M., Coklar, H. (2022). Identification and technological characterization of endogenous yeast isolated from fermented black carrot juice, shalgam. *LWT-Food Science and Technology*, 154, 112823, doi: 10.1016/j.lwt.2021.112823
- Kahve, H. İ. (2023). In Vitro Evaluation of the Technological and Probiotic Potential of *Pichia kudriavzevii* Strains Isolated from Traditional Fermented Foods. *Current Microbiology*, 80(12), 379, doi: 10.1007/s00284-023-03505-8
- Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P., Schulman, A. H. (2010). iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 121, 1419-1430, doi: 10.1007/s00122-010-1398-2
- Lampignano, V., Laverse, J., Mastromatteo, M., Del Nobile, M. A. (2013). Microstructure, textural and sensorial properties of durum wheat bread as affected by yeast content. *Food Research International*, 50(1), 369-376, doi: 10.1016/j.foodres.2012.10.030
- Lhomme, E., Lattanzi, A., Dousset, X., Minervini, F., De Angelis, M., Lacaze, G., Onno, B., Gobbetti M. (2015). Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of sixteen French traditional sourdoughs. *International Journal of Food Microbiology*, 215:161-170. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.09.015.

- Liu, J., Li, X., Liu, Y., Xing, C., Xie, Y., Cai, G., Lu, J. (2021). Evaluation of genetic diversity and development of core collections of industrial brewing yeast using ISSR markers. *Archives of Microbiology*, 203, 1001-1008, doi: 10.1007/s00203-020-02091-8
- Luan, C., Li, X., Zheng, G., Yao, J., & Wang, J. (2014). ISSR fingerprint analysis and SCAR marker of 23 strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Science*, 35, 163-167. Doi: 10.7506/spkx1002-6630-201403033.
- Minervini, F., Di Cagno, R., Lattanzi, A., De Angelis, M., Antonielli, L., Cardinali, G., Cappelle, S., Gobbetti, M. (2012). Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of 19 sourdoughs used for traditional/typical Italian breads: Interactions between ingredients and microbial species diversity. *Applied Environmental Microbiology*, 78 (4), doi: 10.1128/AEM.07721-11
- Minervini, F., Lattanzi, A., De Angelis, M., Celano, G., Gobbetti, M. (2015). House microbiotas as sources of lactic acid bacteria and yeasts in traditional Italian sourdoughs. *Food Microbiology*, 52, 66-76, doi: 10.1016/j.fm.2015.06.009
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Henry, M., Stevens, H., Szoecs, E., Wagner, H. (2017.) Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.4-2.2017. <<https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>>
- Palacioğlu, G., Alkan, M., Derviş, S., Bayraktar, H., Özer, G. (2023). Molecular phylogeny of plant pathogenic fungi based on start codon targeted (SCoT) polymorphism. *Molecular Biology Reports*, 1-9, doi: 10.1007/s11033-023-08735-4
- Pathania, N., Kanwar, S. S., Jhang, T., Koundal, K. R., Sharma, T. R. (2010). Application of different molecular techniques for deciphering genetic diversity among yeast isolates of traditional fermented food products of Western Himalayas. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(9), 1539-1547, doi: 10.1007/s11274-010-0329-3
- Peakall, R. Smouse, P.E. (2012). GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update, *Bioinformatics*, 28, 2537-2539, doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x
- Perricone, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Sinigaglia, M. (2014). Technological characterization and probiotic traits of yeasts isolated from Altamura sourdough to select promising microorganisms as functional starter cultures for cereal-based products. *Food Microbiology*, 38, 26-35, doi: 10.1016/j.fm.2013.08.006.
- Prevost, A., Wilkinson, M. J. (1999). A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 98, 107-112, doi: 10.1007/s001220051046
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959, doi: 10.1093/genetics/155.2.945
- R Studio Team. (2020). RStudio: integrated development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>
- Roldan-Ruiz, I., Dendauw, J., Van Bockstaele, E., Depicker, A., De Loose, M. (2000). AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Molecular Breeding*, 6, 125-134, doi: 10.1023/A:1009680614564
- Tello, J., Cordero-Bueso, G., Aporta, I., Cabellos, J. M., Arroyo, T. (2012). Genetic diversity in commercial wineries: effects of the farming system and vinification management on wine yeasts. *Journal of Applied Microbiology*, 112(2), 302-315, doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.05202.x
- Tikendra, L., Potshangbam, A. M., Dey, A., Devi, T. R., Sahoo, M. R., & Nongdam, P. (2021). RAPD, ISSR, and SCoT markers based genetic stability assessment of micropropagated *Dendrobium fimbriatum* Lindl. var. *oculatum* Hk. f.-an important endangered orchid. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27, 341-357, doi: 10.1007/s12298-021-00939-x

- Vernocchi, P., Valmorri, S., Gatto, V., Torriani, S., Gianotti, A., Suzzi, G., Gardini, F. (2004). A survey on yeast microbiota associated with an Italian traditional sweet-leavened baked good fermentation. *Food Research International*, 37 (5), 469–476, doi: 10.1016/j.foodres.2004.01.004
- Vrancken, G., De Vuyst, L., Van der Meulen, R., Huys, G., Vandamme, P., Daniel, H.-M. (2010). Yeast species composition differs between artisan bakery and spontaneous laboratory sourdoughs. *FEMS Yeast Research*, 10, 471–481, doi: 10.1111/j.1567-1364.2010.00621.x
- Yağmur, G., Tanguler, H., Leventdurur, S., Bağder-Elmacı, Simel, Turhan, E., Francesca, N., Erten, H. (2016). Identification of predominant lactic acid bacteria and yeasts of Turkish sourdoughs and selection of starter cultures for liquid sourdough production using different flours and dough yields. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 66(2), doi: 10.1515/pjfn-2015-0041
- Yang, H., Liu, T., Zhang, G., He, G. (2020). Intraspecific diversity and fermentative properties of *Saccharomyces cerevisiae* from Chinese traditional sourdough. *LWT-Food Science and Technology*, 124, 109195, doi: 10.1016/j.lwt.2020.109195
- Yeh, F. C. (1999). POPGENE (version 1.3. 1). Microsoft window-bases freeware for population genetic analysis. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/>.
- Yeken, M. Z., Emiralioğlu, O., Çiftçi, V., Bayraktar, H., Palacioğlu, G., Özer, G. (2022). Analysis of genetic diversity among common bean germplasm by start codon targeted (SCoT) markers. *Molecular Biology Reports*, 49(5), 3839-3847, doi: 10.1007/s11033-022-07229-z
- Zhang, J., Liu, W., Sun, Z., Bao, Q., Wang, F., Yu, J., Chen, W., Zhang, H. (2011). Diversity of lactic acid bacteria and yeasts in traditional sourdoughs collected from western region in Inner Mongolia of China. *Food Control*. 22:767–774. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.11.012.

# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Karaoğlu, M.M., Zabibollabi, N. *The effect of reducing the sugar and fat content on the physical and sensory properties of cupcakes / Şeker ve yağ içeriğini azaltmanın top keklerin fiziksel ve duyu özelliklerine etkisi*.....39-51

Güldane, M., Bozker, M. *Drying of cherry laurel juice using foam mat drying technique and investigating the effect of drying temperature on drying characteristics and bioactive components / Karayemiş özütünün köpük mat kurutma yöntemiyle kurutulması ve kurutma sıcaklığının kuruma karakteristikleri ve biyoaktif bileşenler üzerine etkisinin araştırılması*.....88-100

Cozain Montiel, A., G., Soyocak, H., Turban, S. *The effect of ultrasound pretreatment on oil absorption and quality of deep-fried chicken schnitzels / Ultrason ön işlem uygulamasının derin yağda kızartılmış tavuk şnitzellere yağ emilimine ve kalitesine etkisi*.....119-131

Aktaş, N. *An improved differential scanning calorimetry study for thermal properties of pekmez samples adulterated with sugar syrup / Şeker şurubuyla tağış edilen pekmez örneklerinin termal özellikleri için geliştirilmiş bir differential scanning calorimetry çalışması*.....132-141

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Atay, E., Altan, A. *Zeolitik imidazolat kafes yapısının sentezi ve karakterizasyonu / Synthesis and characterization of zeolitic imidazolate framework*.....52-67

Sabuncu, M., Özdemir, G., Dülger Altın, D., Şahan, Y. *Civanperçemi ve karahindiba ile zenginleştirilen ekmeklerin bazı fizikokimyasal ve in-vitro biyoelenebilir özelliklerinin araştırılması / Investigation of some physicochemical and in-vitro bioaccessibility properties of bread enriched with yarrow and dandelion*.....101-118

Yüksel Sarıoğlu, H., Köprülalan Aydın, Ö., Dirim, S.N., Kaymak-Ertekin, F. *Ultrason destekli dondurma ve çözündürme işleminin dana narin etinin kalite özellikleri üzerine etkisi / Effects of ultrasound-assisted freezing and thawing on beef meat quality characteristics freezing and thawing of meats with ultrasound-assisting*.....142-159

Yıldız, S., Yemiş, O. *Bezelye kabuk protein konsantratının gıda bileşeni olarak sucuk üretiminde kullanımı / Utilization of pea pod protein concentrate as a food ingredient in fermented sausage production (sucuk)*.....160-178

Koçak, N., Ardıç, M. *Farklı illerden toplanan ekşi hamur örneklerinden Saccharomyces cerevisiae suşlarının izolasyonu, moleküler karakterizasyonu ve popülasyon analizleri / Isolation, molecular characterization, and population analysis of Saccharomyces cerevisiae from sourdough collected from different provinces*.....179-192

## Derlemeler / Reviews

Çelik Atalay, E., Sağıdıoğlu Celep, A.G. *Gıda katkı maddeleri ve genetik etkileri / Food additives and genetic influences*.....1-24

Nuriler, T., Uyarcan, M. *Fonksiyonel et ürünlerinin üretiminde probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotik kullanımına yönelik yeni eğilimler / New trends in the use of probiotics, prebiotics and synbiotics in the production of functional meat products*.....25-38

Gümüş, S., Yıldız, S. *Ultrason prosesinin bitkisel atık ve yan ürünlerden protein elde edilmesinde kullanımı ve proteinlerin fonksiyonel özellikleri üzerine etkisi / Use of ultrasound process to obtain protein from plant-based waste and by-products and its effect on functional properties of proteins*..... 68-87