

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 49

SAYI / NUMBER : 2

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>Baş Editör / Editor-in Chief ERİNÇ, Hakan; <i>Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey</i></p> <p>Editörler / Editors AVCI, Ayşe; <i>Sakarya University, Turkey</i> AYDIN, Furkan; <i>Aksaray University, Turkey</i> ÇAKIR, İbrahim; <i>Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; <i>Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey</i> DEMİRKESEN MERT; İlkem, <i>Ministry of Agriculture and Forestry, Turkey</i> DEMİROK SONCU, Eda; <i>Ankara University, Turkey</i> EYİLER, Esen; <i>Akdeniz University, Turkey</i> KULEAŞAN, Şükran; <i>Mehmet Akif University, Turkey</i> TORUN, Mehmet; <i>Akdeniz University, Turkey</i> YILMAZ, Merve Silanur; <i>Bilis Eren University, Turkey</i></p> <p>Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey</p> <p>Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org</p> <p>Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli</p> <p>Hazırlayan / Prepared Sim Ajans 19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com</p> <p>Yayın Tarihi / Publication Date 15 04 2024</p>	<p>Danışma Kurulu / Advisory Board Akköse, Ahmet; <i>Atatürk University, Turkey</i> Ank, Gökşen G.; <i>Balıkesir University, Turkey</i> Atalar, İlyas; <i>Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> Baysal, A. Handan; <i>İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey</i> Bezirtzoglou, Eugenia; <i>Democritus University of Thrace, Greece</i> Bozkır, Hamza; <i>Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey</i> Çilak, Gizem Ö.; <i>Hitit University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> El Soda, <i>Morsi University of Alexandria, Egypt</i> Erbay, Zafer; <i>Adana Bilim ve Teknik University, Turkey</i> Evren, Mustafa; <i>Ondokuz Mayıs University, Turkey</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Gerçekaslan, K. Emre; <i>Neşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Güneşer, Onur; <i>Uşak University, Turkey</i> Güven, Esra Ç.; <i>İstanbul Teknik University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Hoşoğlu, Müge İ.; <i>Gebze Teknik University, Turkey</i> Hüner, İrem D.; <i>Trakya University, Turkey</i> Kahraman, Kevser; <i>Abdullah Gül University, Turkey</i> Karaca, Hakan; <i>Pamukkale University, Turkey</i> Koçan, Deniz; <i>Aksaray University, Turkey</i> Konuskan, Dilşat B.; <i>Mustafa Kemal University, Turkey</i> Kuleaşan, Hakan; <i>Süleyman Demirel University, Turkey</i> Meral, Raciye; <i>Yüzüncü Yıl University, Turkey</i> Mete, Aylin A.; <i>Mersin University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Muhtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Mutlu, Türkan K.; <i>Çukurova University, Turkey</i> Öztürk, Fatma; <i>Kâtip Çelebi University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Sarı, Ferda; <i>Cumhuriyet University, Turkey</i> Şengün, İlkin Y.; <i>Ege University, Turkey</i> Soyer, Yeşim; <i>Orta Doğu Teknik University, Turkey</i> Toğay, Sine Ö.; <i>Bursa Uludağ University, Turkey</i> Toker, Ömer S.; <i>Yıldız Teknik University, Turkey</i> Velioglu, Murat; <i>Namık Kemal University, Turkey</i> Yemiş, Gökçe P.; <i>Sakarya University, Turkey</i> Yolaçaner, Elif; <i>Hacettepe University, Turkey</i> Yorulmaz, Aslı; <i>Adnan Menderes University, Turkey</i> Zorba, Murat; <i>Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey</i></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(2)

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Berk, B., Şirin, P., Ünlütürk, S. *Effect of partial replacement of sucrose with stevia and sucralose on the physicochemical and structural-mechanical properties of apple marmalade* / Sükrozun stevia ve sükraloz ile kısmen değiştirilmesinin elma marmelatının fizikokimyasal ve yapısal-mekanik özellikleri üzerindeki etkisi **223-237**

Serdaroglu, M., Yüncü-Boycu, Ö., Karaman, M. *The effects of marination with rosehip infusion on quality parameters of turkey breast fillets* / Kuşburnu infüzyonu ile marinasyonun hindi göğüs filetolarının kalite parametreleri üzerindeki etkileri . . . **238-251**

Erdem, Y. I., Kaya, S., Gökkaya Erdem, B. *Characterization and application of whey protein isolate based edible films containing clove and apricot essential oils* / Karanfil ve kayısı esansiyel yağları ile aktif hale getirilmiş peynir altı suyu proteini izolat bazlı yenilebilir filmler **299-311**

Dışban, A., Gönülalan, Z. *Acid-resistant *Limosilactobacillus fermentum* isolates recovered from fermented Turkish Sucuk: Screening of probiotic characterization and phylogeny* / Fermente Türk Sucuklarından elde edilen aside dirençli *Limosilactobacillus fermentum*: Probiyotik karakterizasyonu ve filogeninin taranması **312-325**

Özdemir, M., Torun, M. *Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the hazelnut skin: Optimization and comparison with conventional method* / Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle fındık zarından doğal antioksidanların ekstraksiyonu: Optimizasyon ve geleneksel yöntemle karşılaştırma **26-341**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Şahiner, Ö., Karagül Yüceer, Y. *Kırklareli Eski Kaşar peynirinin uçucu bileşen profili, fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri / Volatile component profile, physicochemical and sensory properties of Kırklareli Aged Kasar cheese* **193-204**

Özünlü, O., Yüksel, F. C., Ergezer, H. *Nugget üretiminde farklı oranlarda beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etinin kullanımı / The usage of chicken breast meat added with different rate of white stripe problem meats in production of chicken nuggets* **252-268**

Yanardağ Karabulut, Ş., Bulut, S. *Glutensiz şalgam suyu üretimi ve TS 11149 şalgam suyu standardına uygunluğunun araştırılması / Production of gluten-free shalgam juice and its compliance with the TS11149 turnip juice standard* **269-283**

Köten, M. *Karpuz çekirdeği unu ikameli besleyici bisküvi üretimi / Production of nutritional cookies with watermelon seed flour substitution* **284-298**

Sarı, M. M., Yetişemiyen, A., Akal, C. *Farklı oranlarda evaporasyon uygulamasıyla aromalı süt reçeli üretimi / Production of flavoured milk jam by evaporation with different ratios* **356-369**

Encu, Ş. B., Yıldırım, A., Akbaş, S., Çakır, İ., Acar Soykut, E. *Taze dilimlenmiş meyvelerde *Salmonella Typhimurium*'un fajlarla biyokontrolü / Biocontrol of *Salmonella Typhimurium* in fresh sliced fruits using phages* **370-384**

Korkmaz, F. *Ayçiçeği proteini-arabik gam konjugatlarının bazı tekno-fonksiyonel özellikleri / Some techno-functional properties of sunflower protein-gum arabic conjugates* **385-396**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Halıcı Demir, F., Yılmaz, E., Damar İ. *Süt ve süt ürünlerinde mikroplastik varlığı, sağlık üzerine etkileri ve mikroplastik ayırma yöntemleri / Presence of microplastic in milk and dairy products, its effects on health and microplastic separation methods* **205-222**

Muyanlı, E.B., Yılmaz, R. *Gıda mikrobiyolojisi ve genetik: *Escherichia coli* / Food microbiology and genetics: *Escherichia coli** **342-355**

KIRKLARELİ ESKİ KAŞAR PEYNİRİNİN UÇUCU BİLEŞEN PROFİLİ, FİZİKOKİMYASAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİ

Özlem Şahiner, Yonca Karagül Yüceer*

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

Geliş/Received: 16.10.2023; Kabul /Accepted: 10.02.2024; Online baskı /Published online: 26.02.2024

Şahiner, Ö., Karagül Yüceer, Y. (2024). Kırklareli Eski Kaşar peynirinin uçucu bileşen profili, fizikokimyasal ve duyuşsal özellikleri. GIDA (2024) 49 (2) 193-204 doi: 10.15237/ gida.GD23124

Şahiner, Ö., Karagül Yüceer, Y. (2024). Volatile component profile, physicochemical and sensory properties of Kırklareli Aged Kasar cheese. GIDA (2024) 49 (2) 193-204 doi: 10.15237/ gida.GD23124

ÖZ

Bu çalışmada, 11.07.2023 tarihi itibarıyla coğrafi işaret ile tescillenen Kırklareli Eski Kaşar Peyniri'nin bazı karakteristik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla farklı üreticilerden sağlanan 7 peynir örneğinde fizikokimyasal ve duyuşsal özellikler ile uçucu bileşen profili belirlenmiştir. Peynirlerin genel bileşimi ve renk ölçümleri arasında farklılıklar olduğu saptanmıştır. Peynir örneklerinde gerçekleştirilen fizikokimyasal analizler sonucunda pH 5.17-5.65, titrasyon asitliği %0.59-0.79, kurumadde %60.71-69.63, kül %4.59-5.59, protein %22.06-28.73, yağ %25.25-35.75 ve tuz %1.23-1.99 aralığında tespit edilmiştir. Kenar ve merkez kısımlarında gerçekleştirilen renk ölçümünde peynirler arasında fark olduğu saptanmıştır. Duyusal değerlendirmeler sonucunda 'peyniraltı suyu', 'kremamsı', 'pişmiş', 'sülfür', 'ransit', 'tuzlu', 'ekşi' ve 'umami' terimleri belirlenen bazı karakteristik terimler olmuştur. Esterler, alkoller, ketonlar ve asitler peynir örneklerinde tespit edilen yaygın uçucu bileşenler olmuştur. Asidik uçucu bileşenlerden asetik asit, bütirik asit, hekzanoik asit, oktanoik asit ve dekanoik asit yüksek konsantrasyonlarda saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Kırklareli Eski Kaşar Peyniri, fizikokimyasal özellikler, duyuşsal özellikler, uçucu bileşenler

VOLALITE COMPONENT PROFILE, PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES OF KIRKLARELI AGED KASAR CHEESE

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine some characteristic features of Kırklareli Aged Kasar Cheese registered with geographical indication as of 11.07.2023. For this purpose, physicochemical and sensory properties and volatile component profile were determined in 7 cheese samples provided by different producers. It was determined that there were differences between the general composition and color measurement of the cheeses. As a result of physicochemical analyzes performed on the cheese samples pH 5.17-5.65, titratable acidity 0.59-0.79%, dry matter 60.71-69.63%, ash 4.59-5.59%, protein 22.06-28.73%, fat 25.25-35.75% and salt 1.23-1.99% were detected. It was determined that there was a significant difference between the cheeses in the color measurement performed on the edge and center parts. As a result of sensory evaluations, the terms 'whey', 'creamy', 'cooked', 'sulfur', 'rancid', 'salty', 'sour' and 'umami' were some of characteristic terms identified. Esters, alcohols, ketones, and acids were common volatile

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ yoncayuceer@comu.edu.tr

☎ (+90) 286 218 0018/20051

☎ (+90) 286 218 0541

Özlem Şahiner; ORCID no: 0009-0007-0147-5648

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

components detected in the cheese samples. Among the acidic volatile compounds, acetic acid, butyric acid, hexanoic acid, octanoic acid and decanoic acid were determined at high concentrations.

Keywords: Kırklareli Aged Kasar Cheese, physicochemical properties, sensory properties, volatile components

GİRİŞ

Türk Gıda Kodeksi'ne göre eski kaşar peyniri; üretiminden sonra kendine özgü karakteristik özelliklerini kazanabilmesi için belirli koşullarda en az 120 gün süreyle olgunlaştırılarak üretilen kaşar peyniri olarak tanımlanmaktadır (Anonymous, 2015). Kırklareli Eski Kaşar Peyniri; Kırklareli il sınırları içerisinde yetişen hayvanlardan elde edilen süt ve doğal şirden mayası kullanılarak üretilen, üretiminde sadece inek sütü kullanılabileceği gibi %30-45 koyun sütü, %25-40 keçi sütü ve %15-30 inek sütü karışımları da kullanılabilen, olgunlaştırılmış kaşar peyniri olarak tanımlanmaktadır (TPE, 2023). Üretimin yapılacağı döneme göre sütlerin ısıtma sıcaklığı değişmekte olup Nisan-Ekim döneminde 30-32 °C, Kasım-Mart döneminde ise 32-35 °C sıcaklığa kadar ısıtılan sütlerde mayalanma işlemi gerçekleştirilmektedir. Doğal şirden mayası kullanılarak mayalanan süt 60 dakika bekletilir ve pıhtı kontrol edilir. Oluşan pıhtı proses tankında 1 cm çapında parçalar halinde kırılarak 10 dakika boyunca karıştırıcı ile düşük devirde karıştırılır. Kırılan pıhtı ve peynir suyu karışımı 20-30 dakika boyunca 38-40 °C'de ısıtılır. Bu işlem ile telememin peynir suyundan ayrılması ve elastik bir yapı kazanması sağlanmaktadır. Daha sonra teleme 65-75 °C sıcaklıktaki haşlama suyunda 10 dakika haşlanarak yoğurma ünitesine alınır ve kaya tuzu ilave edilerek gerçekleştirilen yoğurma işlemi ile birlikte peynirlere teker şekli verilir. Elde edilen peynirler 12 kg'lık teker şeklindeki kaşar kalıplarına konularak dinlendirme odalarında 20-30 gün ön olgunlaştırmaya bırakılır. Dinlendirme esnasında tekerlekler her gün alt üst edilir ve bir hafta sonunda iki tekerlek üst üste dizilerek ön olgunlaştırmaya tabi tutulur. Ön olgunlaştırma sonrasında Kırklareli Eski Kaşar Peyniri için özel olarak üretilen keten çuvallara konularak 2-4 °C ve %90 bağıl neme sahip soğuk hava depolarında en az 6 ay asıl olgunlaştırma gerçekleştirilir (TPE, 2023).

Doğan ve Karagül Yüceer (2019) tarafından Ezine Eski Kaşar Peyniri üzerine yapılan bir çalışmada

peynir örneklerinin bazı fiziksel, kimyasal, duyuşal özellikleri ve uçucu bileşen profili belirlenmiştir. Çetinkaya (2021), Kars Kaşar Peynirlerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine yaptığı bir çalışmada; peynir örneklerinde ortalama kurumadde, yağ, titre edilebilir asitlik (%), tuz ve pH değerleri tespit edilmiştir. Işık vd. (2020) Muş Kaşar Peyniri üzerinde gerçekleştirdikleri bir çalışmada eski kaşar peynirlerinin mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri ile uçucu bileşen profillerini tespit etmişlerdir. Ayrıca peynir örneklerinin toplam kurumadde, protein, yağ ve tuz, iç ve dış yüzey renk değerlerini belirlemişlerdir. Bu çalışmada fizikokimyasal analizler sonucunda toplam kurumadde %52.33-59.71, protein %24.60-29.79, yağ %24.50-27.50 ve tuz %2.93-4.74 olarak belirlenmiştir. Peynir örneklerinin iç ve dış yüzey renk değerleri arasında da farklılıklar olduğu tespit edilmiş; dış kısımlarda belirlenen L^* ve b^* değerleri sırasıyla 51.07-61.53 ve 8.72-12.69 aralığında; iç kısımlarda belirlenen L^* ve b^* değerleri ise sırasıyla 62.69-68.49 ve 10.34-13.79 aralığında belirlenmiştir.

Kırklareli Eski Kaşar Peyniri üzerine yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, coğrafi işarete sahip bu peynirin fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri ile uçucu bileşen profilinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Gerçekleştirilen çalışmada Kırklareli'nde geleneksel yöntemlerle üretilen ve her biri farklı firmalardan temin edilen 7 adet Kırklareli Eski Kaşar Peyniri (Aldoğru, S.S. Kayalı Köyü Tarımsal Kalkınma Kooperatifi, Mustafa Mısırlı, Alkan Süt, Algündüz, Gürkaşlar, Dere) kullanılmıştır. Peynir örnekleri analiz edilinceye kadar uygun koşullarda ($+4\pm 1$ °C ve/veya -18 ± 1 °C) muhafaza edilmiştir.

Yöntem

Fizikokimyasal Analizler

Kırklareli Eski Kaşar Peyniri örneklerinde pH ve tuz (Bradley vd., 1992), titrasyon asitliği (%laktik

asit), kül, toplam kurumadde, protein (AOAC, 1990) ve yağ (NEN, 1969) belirlenmiştir. Peynirlerin renk ölçümleri Minolta renk ölçüm cihazı (Konica Minolta Sensing, Minolta CR-400, Osaka, Japonya) kullanılarak saptanmıştır. Peynir örneklerinin kenar kısımlarından üç, merkez kısımlarından ise iki ölçüm alınarak renk ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Renk ölçümlerinden önce cihaz beyaz kalibrasyon plakası kullanılarak kalibre edilmiş olup ölçümler beyaz zemin üzerinde yapılmıştır.

Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi

Örneklerde bulunan uçucu bileşenlerin belirlenmesi amacıyla Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) (GC 6890, MS6890 N, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılmıştır. Uçucu bileşenler peynir örneklerinden katı faz mikroekstraksiyon (SPME) yöntemi ile izole edilmiş ve bileşenlerin ayrımı HP-INNOWax (60 m uzunluk x 0.25 mm iç çap x 0.25 µm film kalınlığı) kolon (J&W Scientific, Folsom, California, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Amber renkli (40 mL) ekstraksiyon vialine 3 g peynir örneği ve 1 g NaCl tartılarak 5µL iç standart (5mL metil alkol içerisinde 20 µL 2-metil valerik asit ve 5 µL 2-metil-3-heptanon bulunmaktadır) ilave edilmiş ve 50 °C'lik su banyosunda (GFL, Model 1103, Burgwedel, Almanya) 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra SPME fiber (Carboxen/DVB/PDMS, 50/30 2cm) vialine batırılıp 50 °C'lik su banyosunda 30 dakika daha bekletilerek GC-MS'e Splitless moduyla enjekte edilmiştir. Kapilar kolonda taşıyıcı gazın akış hızı 1.0 mL/dk'dır. GC-MS cihazına ait fırın sıcaklık programı başlangıç sıcaklığı 40 °C'de 1 dakika bekleme süresi, son sıcaklık 250 °C'ye ulaşmaya kadar dakikada 5 °C artış ile 20 dakika bekleme süresi olarak ayarlanmıştır. Uçucu bileşenlerin tanımlanmasında Wiley Registry of Mass Spectral Data (Wiley, 2005) ve National Institute of Standards and Technology (NIST, 2008) kütüphaneleri ve miktar belirleme amacıyla iç standart metodu kullanılmıştır. Tespit edilen uçucu bileşenlerin alkonma indeksleri n-alkan serisi kullanılarak hesaplanmıştır (Doğan ve Karagül Yüceer, 2019).

Duyusal Analizler

Kırklareli Eski Kaşar Peyniri'nin karakteristik duyusal özelliklerinin belirlenebilmesi amacıyla gerçekleştirilen duyusal değerlendirmede Spectrum™ metodu kullanılmıştır (Meilgaard vd., 1999). Yaşları 23-55 arasında değişen ve daha önce peynir duyusal analizine katılmış deneyimli 7 kişilik panelist (6 kadın, 1 erkek) grubu ile değerlendirmeler gerçekleştirilmiştir. Duyusal değerlendirmelerde terimlerin yoğunluklarının belirlenmesi için 15 puanlık skala kullanılmıştır. Peynirler duyusal analiz için hazırlanırken kabuk kısmı da alınarak ve dikdörtgen şeklinde kesilmiş 10-15 g'lık porsiyonlar halinde servis edilmiştir. Değerlendirme sırasında panelistlerin test ettikleri örnekten ağızda kalan tadın giderilmesi amacıyla kraker ve su bulundurulmuştur.

İstatistiksel Analiz

Kırklareli Eski Kaşar Peyniri örneklerine ait fiziksel, kimyasal ve duyusal analiz sonuçları arasındaki benzerliklerin ve farklılıkların istatistiksel olarak ortaya koyulabilmesi amacıyla SPSS (Windows v21) paket programı ile tanımlayıcı istatistiksel analizler ve çok boyutlu ölçeklendirme (Multidimensional Scaling- MDS) (Baspınar vd., 2000) analizleri gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kırklareli Eski Kaşar Peyniri'ne ait kimyasal analizlerin sonuçları Çizelge 1'de yer almaktadır. Çizelge 1 incelendiğinde en düşük kurumadde içeriğine %60.71 ile B peynirinin, en yüksek kurumadde içeriğine ise %69.63 ile E peynirinin sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer sonuçlar Aydemir (2010) tarafından Kars Kaşar Peyniri üzerine yapılan çalışmada da belirlenmiştir. Çalışmada 180 gün süreyle olgunlaştırılan Kars Kaşar Peynirleri'nin kurumadde içeriklerinin %60.37-64.41 aralığında değiştiği belirlenmiş olup peynirlerin kurumadde değerlerinin olgunlaşma boyunca artış gösterdiği tespit edilmiştir. Aydoğan (2022) ise en az 120 gün olgunlaştırılmış ve piyasadan toplanan 20 adet kaşar peyniri üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada kurumadde içeriklerinin %57.73-64.95 aralığında değiştiğini belirlenmiştir.

Çizelge 1. Kırklareli Eski Kaşar Peynirlerinin bileşimi (n=7) (Ortalama±Standart Hata)
Table 1. Composition of Kırklareli Aged Kasar Cheeses (n=7) (Mean± Standard Error)

Peynir/ Cheese	pH	%Titrasyon Asitliği / Titratable Acidity %	% Kurumadde / Dry Matter %	% Kül / Ash %	%Protein / Protein %	%Yağ / Fat %	%Tuz / Salt %
A	5.24±0.02	0.79±0.03	60.94±0.06	5.24±0.01	24.34±0.30	28.50±0.50	1.70±0.05
B	5.59±0.00	0.68±0.03	60.71±0.07	4.68±0.01	25.39±0.47	25.25±0.75	1.23±0.05
C	5.26±0.05	0.59±0.02	63.64±0.16	5.05±0.00	27.66±0.15	30.25±0.75	1.29±0.11
D	5.20±0.05	0.75±0.00	62.37±0.45	4.59±0.00	23.96±0.36	32.25±0.75	1.99±0.11
E	5.46±0.01	0.66±0.02	69.63±0.16	5.59±0.10	28.73±0.01	35.75±0.25	1.52±0.11
F	5.17±0.01	0.68±0.03	62.03±0.08	5.07±0.87	28.69±0.81	29.50±0.00	1.46±0.17
G	5.65±0.04	0.66±0.02	64.46±0.79	4.79±0.03	22.06±0.87	31.75±0.25	1.35±0.05

Peynirlerin titrasyon asitliği verileri incelendiğinde C örneği %0.59 ile en düşük titrasyon asitliğine sahip peynir, A örneği ise %0.79 ile en yüksek titrasyon asitliğine sahip peynir olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Çetinkaya (2021) gerçekleştirdiği çalışmada Kars Kaşar Peynirleri'nin titrasyon asitliği değerlerini %1.05-1.91 aralığında tespit etmiştir. Doğan ve Karagül Yüceer (2019) Ezine Eski Kaşar Peyniri üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerini %0.67-1.21 aralığında belirlemiştir; olgunlaşma süresi uzun olan peynirlerde titrasyon asitliği değerlerinin genel olarak yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Çizelge 1'de yer alan pH değerleri incelendiğinde F örneğinin 5.17 ile en düşük, G örneğinin ise 5.65 ile en yüksek pH değerine sahip peynirler olduğu belirlenmiştir. Peynirde pH değerleri; peynirin karakteristik özelliklerini ve kalitesini belirleyen tanımlayıcı bir parametre olup, peynirlerde oluşan pH değişimi kaliteyi etkilemektedir (Bansal ve Veena, 2022). Peynirlerde pH değişikliğinin sebebi peynir üretiminde kullanılan starter laktik asit bakterilerinden ve üretim metodlarından kaynaklanabilmektedir (Bansal ve Mishra, 2020). Peynirlerde olgunlaşma aşamasından sonra ortaya çıkan karbonil bileşikler, amonyak ve bazik bileşikler nedeniyle ya da organik asit metabolizması ve aminoasitlerin deaminasyonu pH değişimine neden olabilmektedir (Madkor vd., 1987; McSweeney vd., 1993; Yüzbaşı, 1996). Yapılan çalışmalarda Malkara Eski Kaşar Peynirleri'nin pH değerlerinin 4.91-5.77 (Subaşı,

2021); Ezine Eski Kaşar Peynirleri'nin ise 5.14-5.79 (Doğan ve Karagül Yüceer, 2019) arasında değiştiği saptanmıştır.

Peynirlerin protein içeriklerinin %22.06-28.73, yağ içeriklerinin ise %25.25-35.75 arasında değiştiği görülmektedir (Çizelge 1). Hayaloğlu (2009) kaşar peynirlerinin protein içeriklerini %23.14-31.75 aralığında belirlemiştir. Işık vd. (2020) Muş'ta üretilen geleneksel kaşar peynirinin protein içeriklerini %24.60-29.79 aralığında tespit etmişlerdir. Kullanılan sütün bileşimi ve uygulanan işlemler bileşiminde farklılıkların oluşmasına neden olabilmektedir. Peynir örneklerinin bileşim ve renk analiz sonuçlarının birbiriyle olan ilişkisinin ve peynirlerin dağılımının çok boyutlu ölçeklendirme haritaları sırasıyla Şekil 1(a) ve 1(b)'de sunulmuştur. Şekil 1(a) incelendiğinde peynir örneklerinin protein ve yağ içerikleri bakımından geometrik olarak yakın olduğu tespit edilmiş; bu iki özelliğin birbirleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Bir gıdadaki kül miktarı, gıdada bulunan maddesindeki organik maddelerin yakılması sonrasında açığa çıkan inorganik kalıntı olarak tanımlanmaktadır (AMC, 1960). Peynirlerin içerdikleri mineral madde kompozisyonu, üretim ve olgunlaştırma tekniklerine bağlı olarak değişebilmektedir (Feeley vd., 1972). Çizelge 1 incelendiğinde ise peynirlerin kül içeriklerinin %4.59-5.59 arasında değiştiği belirlenmiştir. Temizkan (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışmada inek, koyun ve keçi sütlerinden üretilen

kaşar peynirlerinin 90 gün boyunca olgunlaşması sonucunda kül değerlerinin %4.32-4.62 aralığında değiştiği ve en yüksek kül içeriğine inek sütünden üretilen kaşar peynirinin sahip olduğunu saptamıştır. Çakmakçı ve Tahmas Kahyaoğlu (2023) Ardahan Göbek Kaşarı üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada peynir örneklerinin kül değerlerini %2.38-4.19 aralığında tespit etmiştir.

Kırklareli Eski Kaşar Peynirleri'nin renk ölçümleri peynir dilimlerinin kenar ve merkez kısımları olmak üzere iki ayrı kısımda gerçekleştirilmiş olup elde edilen değerler Çizelge 2'de sunulmuştur. L^* değerleri parlaklığı ve beyaz rengi, a^* değerleri kırmızılık ve yeşilliği, b^* değerleri ise sarılık ve maviliği temsil eden parametrelerdir. L^* ve b^* değerleri peynirlerin kalitesinin belirlenmesinde önemli olan özelliklerdir (Doğan ve Karagül Yüceer, 2019).

Çizelge 2. Kırklareli Eski Kaşar Peynirlerinin renk analiz sonuçları (n=7) (Ortalama±Standart Hata)
Table 2. Color analysis results of Kırklareli Aged Kasar Cheeses (n=7) (Mean±Standard Error)

Peynir/ Cheese	L^* (K)	a^* (K)	b^* (K)	L^* (M)	a^* (M)	b^* (M)
A	80.85±0.54	-4.49±0.14	23.63±0.59	83.17±0.85	-4.61±0.15	23.34±0.44
B	72.33±0.97	-5.51±0.05	19.88±0.46	80.51±0.53	-4.68±0.00	20.05±0.05
C	81.29±0.73	-3.87±0.08	18.50±0.22	83.63±0.30	-4.83±0.33	23.06±1.35
D	81.94±0.24	-4.70±0.17	19.86±0.87	84.44±0.03	-4.47±0.04	19.15±0.21
E	65.89±1.22	-5.84±0.13	20.77±0.49	73.21±0.39	-5.17±0.24	21.65±0.51
F	75.36±1.94	-5.40±0.35	24.05±0.65	79.28±0.33	-5.18±0.12	24.87±0.52
G	69.68±1.33	-5.78±0.26	20.31±0.89	77.66±0.47	-5.46±0.58	20.81±1.54

(K): Kenar ölçümleri; (M): Merkez ölçümleri
(K): Edge measurements; (M): Center measurements

Kenar kısımlarda ölçülen L^* değerlerinin 65.89-81.94 aralığında değiştiği, merkez kısımlarda ölçülen L^* değerlerinin ise 73.21-84.44 aralığında değiştiği saptanmıştır. Kenar kısımlarda ölçülen L^* değerleri ile merkez kısımlarda ölçülen L^* değerleri kıyaslandığında tüm değerlerde kenar kısımların daha düşük olduğu belirlenmiştir. Peynir örneklerine ait b^* değerleri incelendiğinde ise kenar kısımlarda ölçülen b^* değerlerinin 18.50-24.05 aralığında değiştiği, merkez kısımlarda ölçülen b^* değerlerinin 19.15- 24.87 aralığında değiştiği saptanmıştır (Çizelge 2).

Benzer bir çalışmada (Aydemir, 2010) Kars Kaşar Peyniri'nin L^* değerlerinin 66.56-71.78, b^* değerlerinin ise 21.30-24.09 aralığında değiştiği saptanmıştır. Temizkan (2012) inek, koyun ve keçi sütleri kullanarak ürettiği ve 90 gün süre ile olgunlaştırdığı kaşar peynirlerinde L^* değerlerini 75.73-78.69, b^* değerlerini ise 13.77-24.20 aralığında tespit etmiştir. Işık vd. (2020) Muş'ta üretilen geleneksel kaşar peynirleri için dış kısımda belirlenen L^* değerlerinin 51.07-61.53 aralığında, iç kısımda belirlenen L^* değerlerinin ise 62.69-

68.49 aralığında olduğu bulunmuştur. Dış kısımda belirlenen b^* değerlerinin 8.42-12.69, iç kısımda belirlenen b^* değerlerinin ise 10.34-13.79 arasında değiştiği saptanmıştır.

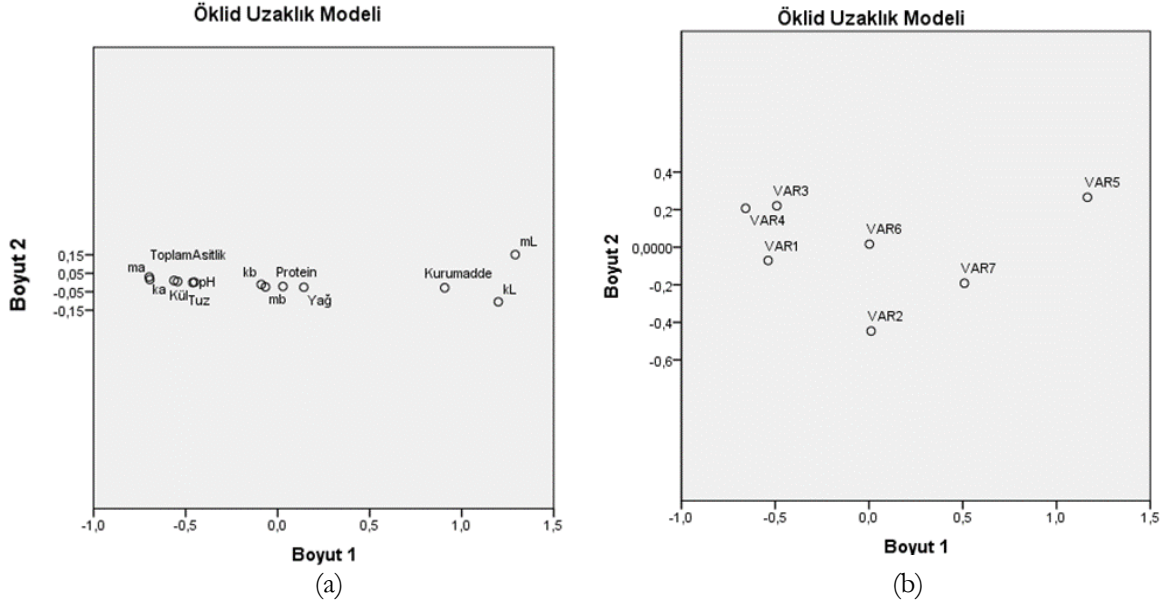
Beyazlık ve parlaklık olarak tanımlanan L^* değerlerinin peynirlerin kurumadde içerikleri ile doğrudan ilişkili olduğu yapılan istatistiksel sonuçlar ile desteklenmiş olup Şekil 1(a)'da gösterilmiştir. Analizleri gerçekleştirilen peynirlerin yağ ve protein içerikleri ile sarılık olarak tanımlanan b^* değerleri aralarında ilişki olduğu da Şekil 1(a)'da görülmektedir.

Çizelge 2 incelendiğinde B, E ve G örneklerinin merkez ve kenar L^* değerleri arasında belirgin bir fark olduğu gözlemlenmiştir. E örneğinde ise hem merkez hem de kenar kısımlar için ölçülen L^* değerlerinin tüm peynir örnekleri arasında en düşük değerler olduğu tespit edilmiştir.

Şekil 1'de peynir örneklerinin bileşim ve renk analizi sonuçları kullanılarak oluşturulmuş çok boyutlu ölçeklendirme haritası verilmiştir. Genel

olarak Şekil 1 (a) incelendiğinde peynirlerdeki a^* değerlerinin kül, toplam asitlik, tuz ve pH değerleri ile; b^* değerlerinin ise protein ve yağ

değerleri ile geometrik olarak yakın dağılım gösterdiği ve birbirleriyle ilişkili olduğu belirlenmiştir.



Şekil 1. (a) Kırklareli Eski Kaşar Peyniri örneklerinin bileşim ve renk analiz sonuçlarının birbirleriyle olan ilişkisinin çok boyutlu ölçeklendirme haritası (Stress-I: 0.017694; R²: 0.099969); (b) Kırklareli Eski Kaşar Peyniri örneklerinin bileşim ve renk analiz sonuçlarına göre peynirlerin dağılımının çok boyutlu ölçeklendirme haritası (Stress-I: 0.075817; R²: 0.994252).

Sırasıyla ma, mb, mL, ka, kb, kL: merkez a^* , merkez b^* , merkez L^* , kenar a^* , kenar b^* ve kenar L^* değerlerini; VAR ise her bir peynir örneğini temsil etmekte olup sırasıyla VAR1- VAR7: A, B, C, D, E, F, G)

Figure 1. (a) Multidimensional scaling map of the relationship between the composition and color analysis results of Kırklareli Aged Kasar Cheese samples (Stress-I: 0.017694; R²: 0.099969); (b) Multidimensional scaling map of the distribution of cheeses according to the composition and color analysis results of Kırklareli Aged Kasar Cheese samples (Stress-I: 0.075817; R²: 0.994252).

The values of ma, mb, mL, ka, kb, kL: center a^* , center b^* , center L^* , edge a^* , edge b^* , and edge L^* are respectively; VAR represents each cheese sample and VAR1- VAR7: A, B, C, D, E, F, G)

Şekil 1 (b)'de peynir örneklerinin bileşim ve renk analiz sonuçlarına göre dağılımının çok boyutlu ölçeklendirme haritası verilmiştir. Harita incelendiğinde VAR5 olarak adlandırılan E örneğinin diğer peynir örneklerinden geometrik olarak uzak dağılım gösterdiği ve diğer peynir örneklerinden farklı olduğu tespit edilmiştir. E (VAR5) örneğinin diğer örneklerden geometrik olarak uzak konumda olmasının sebebi kurumadde, kül, protein ve yağ oranının diğer peynir örnekleriyle kıyaslandığında yüksek olmasına bağlanabilir (Çizelge 1). Birbirleriyle geometrik olarak yakın olan A (VAR1), C (VAR3)

ve D (VAR4) örneklerinin ise birbirlerine daha benzer özelliklerde peynirler olduğu belirlenmiştir (Şekil 1(b)). Birbirlerine benzer olan bu peynir örneklerinin hem pH değerlerinin (Çizelge 1) hem de merkez ve kenar kısımlarda ölçülen L^* değerlerinin birbirlerine yakın olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Peynirin arzu edilen aroma özelliklerini kazanmasında ısı işlem, mayalama, tuzlama, olgunlaştırma gibi işlem aşamaları etkili rol oynamaktadır (Şelem vd., 2020). Asitler, alkoller, ketonlar, aldehitler ve esterler peynirlerde

aromaya katkı sağlayan uçucu bileşikler olup süt ve süt ürünlerinde işleme ve depolama süresince mikrobiyel ve enzimatik reaksiyonlar ya da ısıl işlem sonucunda meydana gelmektedir (McSweeney ve Sousa, 2000). Kırklareli Eski

Kaşar Peyniri örneklerinde SPME/GC-MS metodu kullanılarak gerçekleştirilen uçucu bileşen analizi sonucunda belirlenen asidik ve bazik nötral bileşikler sırasıyla Çizelge 3 ve 4' te sunulmuştur.

Çizelge 3. Peynir örneklerinde belirlenen asidik uçucu bileşenler (n=7) (Ortalama±Standart Hata)

Table 3. Acidic volatile compounds determined in the cheese samples (n=7) (Mean± Standard Error)

Uçucu Bileşenler/ Volatile Compounds	Peynirler (µg/ 100 g) Cheeses (µg/ 100g)							
	RI	A	B	C	D	E	F	G
Asetik Asit / Acetic acid	1439	340.42±57.70	415.41±21.20	1217.14±230	655.37±141	540.59±9.65	1194.26±97.50	432.03±15.10
Propanoik Asit / Propanoic acid	1520	36.91±7.69	33.6±2.34	90.16±25.60	62.88±11.60	53.36±41.10	85.43±10.20	28.03±1.50
2-Metil Propanoik Asit / Propanoic acid, 2-methyl	1548	-	15.09±1.53	9.8±0.82	2.43±0.11	10.83±0.30	10.21±0.8	14.31±1.75
Bütirik Asit / Butanoic acid	1605	560.1±102	503.23±18.3	1947.09±447	825.75±177	1101.51±95.70	1344.74±138	609.24±52.30
3-Metil Bütirik Asit / Butanoic acid, 3-methyl	1647	25.68±5.35	59.79±8.11	28.72±2.18	3.44±2.20	132.27±20.90	89.04±9.22	49.71±5.38
Hekzanoik Asit / Hexanoic acid	1763	844.09±123	885.35±22.7	1697.07±424	1038.40±294	5117.97±3904	1587.91±177	1185.00±93.90
Pentanoik Asit / Pentanoic acid	1770	12.75±2.02	13.79±0.41	135.57±114	13.96±4.07	115.34±30.20	10.01±8.66	12.81±0.34
Heptanoik Asit / Heptanoic acid	1830	18.95±2.29	33.97±0.76	29.85±6.54	18.36±4.00	72.83±54.90	23.49±4.43	3.84±2.54
Oktanoik Asit / Octanoic acid	1937	536.31±62.40	714.95±17.10	775.38±175	469.58±119	2892.05±2258	714.90±109	921.22±68.0
Nonanoik Asit / Nonanoic acid	2047	10.69±1.22	20.74±0.84	16.54±2.49	13.12±2.29	55.72±43.60	12.09±4.31	17.41±2.48
Dekanoik Asit / Decanoic acid	2155	285.52±48.9	482.45±12.30	235.84±27.70	169.09±38.60	1114.51±849	269.45±60.90	58019.00±37.50
9-Dekanoik Asit / 9-Decanoic acid	>2200	16.34±3.79	23.32±0.42	20.23±5.25	7.18±1.95	37.58±31.30	10.21±3.12	28.50±0.11
Benzoik Asit / Benzoic acid	>2200	7.21±0.71	5.65±0.10	10.84±4.40	4.78±0.71	19.51±14.20	9.12±1.17	5.72±0.73
Dodekanoik Asit / Dodecanoic acid	>2200	39.36±5.94	56.38±2.17	56.57±21.20	15.73±2.94	68.16±52.0	17.59±3.96	57.54±0.34
Hekzadekanoik Asit / Hexadecanoic acid	>2200	48.45±4.20	53.27±3.05	54.93±2.82	6.17±8.79	574.79±268	101.59±35.10	83.64±45.10
Tetradekanoik Asit / Tetradeconoic acid	>2200	17.33±0.20	18.34±2.16	16.09±0.11	7.02±2.08	37.05±26.30	8.22±1.02	21.05±0.45

RI: Alikonma indeksi, -: belirlenmedi. / RI: Retention index, -: not determined.

Çizelge 3 incelendiğinde belirlenen asidik uçucu bileşenlerden sadece 2-metil propanoik asit A peynirinde tespit edilememiş olup geriye kalan diğer asidik bileşenler tüm peynir örneklerinde tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada hekzanoik, oktanoik ve dekanoik asit gibi bileşiklerin peynirlerde keskin ekşi tadın oluşmasına neden olduğu bildirilmiştir (Carunchia Whetstine vd., 2003). Örneğin G peynirinde 58019 µg/100 g dekanoik asit tespit edilmiş olup gerçekleştirilen duyuşal değerlendirmelerde (Çizelge 5) panelistler tarafından G örneğinin ransit lezzet açısından puanının yüksek olduğu saptanmıştır. E örneğinde de hekzanoik asit, oktanoik asit ve

dekanoik asit miktarları sırasıyla 5117.97 µg, 2892.05 µg ve 1114.51 µg/100 g tespit edilmiş olup gerçekleştirilen duyuşal değerlendirmelerde de ransit lezzet açısından yüksek değerlerle puanlandırılmıştır.

Esterler peynirlerde yoğun olarak bulunan uçucu bileşenlerden olup aminoasitler tarafından oluşturulan acı tadın ve yağ asitlerince oluşturulan ransit lezzetin azalmasını sağlayarak aromaya olumlu katkılarda bulunmaktadır (Gallois ve Langlois, 1990). Esterler meyvensi ve çiçeğimsi aromadan sorumlu olup alkollerin ve yağ asitlerinin esterleşmesiyle meydana gelmektedir

(McSweeney ve Sousa, 2000). Esterler, ketonlar, laktonlar ve serbest yağ asitleri peynirlerde düşük seviyelerde bulunsalar bile aromaya doğrudan katkı sağları ve olgunlaşma esnasında peynirlerdeki lipit metabolizması tarafından oluşmaktadır (Adda vd., 1982).

katkı sağları ve olgunlaşma esnasında peynirlerdeki lipit metabolizması tarafından oluşmaktadır (Adda vd., 1982).

Çizelge 4. Peynir örneklerinde belirlenen bazik ve nötral uçucu bileşenler (n=7) (Ortalama±Standart Hata)

Table 4. Basic and neutral volatile compounds determined in the cheese samples (n=7) (Mean± Standard Error)

Peynirler (µg/ 100 g) Cheeses (µg/ 100g)								
Uçucu Bileşenler / Volatile Compounds	RI	A	B	C	D	E	F	G
2-Pentanon/ 2-Pentanone	996	213.05±73.7	-	60.98±4.72	78.12±0.02	167.96±1.17	185.3±20.0	174.03±9.06
2-Bütanol/ 2-Butanol	1029	3.82±3.48	28.4±27.7	8.93±0.1	11.54±0.99	15.84±0.00	12.79±7.46	-
Alfa Pinen/ Alpha pinen	1031	-	-	-	-	-	-	99,97±53.3
Bütirik asit etil ester/ Butanoic acid, ethyl ester	1045	30.61±0.13	-	14.35±0.47	34.73±2.56	50.63±1.59	37.46±9.45	39.07±5.24
Beta Pinen/ Beta pinen	1110	-	9.45±0.85	-	-	-	-	17.02±1,79
2- Pentanol/ 2-Pentanol	1123	50.89±3.51	19.41±1.81	-	-	-	19.35±4.30	20.89±2.49
Bütirik asit propil ester/ Butanoic acid, propyl ester	1124	-	-	-	15.12±1.51	-	8.64±1.25	-
3-Metil 2-Bütanol/ 3-methyl, 2-Butanol	1130	4.07±0.42	-	8.9±0.51	-	48.02±1.41	-	-
3-Metil 1-Bütanol/ 3-Methyl, 1-Butanol	1133	11.41±0.32	61.52±6.06	27.15±0.64	59.66±5.55	69.11±4.22	33.05±0.99	81.76±19.70
1-Bütanol/ 1-Butanol	1150	-	-	8.43±0.32	-	-	-	-
2- Heptanon/ 2-Heptanone	1187	404.7±28.2	35.18±1.29	58.9±9.70	65.09±5.77	558.39±2.76	216.34±13.8	289.21±32.1
Hekzanoik asit etil ester/ Hexanoic acid, ethyl ester	1232	289.42±2.56	310.01±21.40	60.84±4.18	117.1±3.42	90.49±1.56	186.92±1.40	206.14±15.10
1-Pentanol/ 1- Pentanol	1244	-	-	-	0.26±0.14	1.76±0.10	2.09±0.73	-
Bütirik asit 3 metil bütül ester/ Butanoic acid, 3-methylbutyl ester	1259	-	20.12±2.97	-	3.99±0.12	-	-	-
2- Oktanon/ 2-Octanone	1284	8.67±0.13	9.02±1.33	-	-	11.0±2.08	2.85±0.89	12.55±3.60
Asetoin/ Acetoin	1289	7.32±1.49	20.85±3.03	7.51±0.02	4.1±0.50	10.99±0.18	9.94±0.27	22.28±0.98
2-Heptanol/ 2-Heptanol	1308	54.36±1.34	53.56±4.58	13.75±0.74	2.58±0.12	66.59±0.23	10.41±0.51	32.1±4.16
Hekzanoik asit propil ester/ Hexanoic acid, propyl ester	1314	26.63±0.16	5.63±0.93	-	3.79±0.84	-	32.96±1.82	6.83±0.50
Heptanoik asit etil ester / Heptanoic acid,ethyl ester	1329	5.51±0.19	4.32±0.25	0.47±0.02	1.12±0.21	-	1.78±0.64	5.06±1.66+
1-Hekzanol/ 1-Hexanol	1343	5.03±0.22	12.63±1.35	1.28±0.08	2.07±0.20	1.65±0.35	3.19±0.02	-
Hekzanoik asit bütül ester/ Hexanoic acid, butyl ester	1346	-	3.5±0.34	-	0.56±0.22	1.32±0.04	0.94±0.53	-
Nonanal/ Nonanal	1385	7.21±2.17	3.34±0.37	0.58±0.01	0.33±0.10	-	0.96±0.07	4.15±0.06
2-Nonanon/ 2-Nonanone	1388	473.91±30.0	395.5±39.5	36.54±3.21	35.75±5.21	452.6±61.8	140.59±42.1	592.42±45.0
Oktanoik asit etil ester/ Octanoic acid, ethyl ester	1427	153.27±6.28	155.18±12.3	20.51±1.55	44.17±4.63	25.96±1.18	69.96±3.44	109.42±6.45
2-etil, 1-hekzanol/ 2-ethyl,1-Hexanol	1472	9.99±3.87	7.61±1.15	5.83±0.64	1.09±0.24	2.52±0.17	101.53±19.6	3.59±0.22
2-Dekanon/ 2-Decanone	1483	3.62±0.31	3.24±0.77	-	-	1.75±0.43	1.27±0.36	6.88±0.7
2-Nonanol/ 2-Nonanol	1496	36.22±1.80	27.98±4.47	5.71±0.67	0.91±0.17	26.93±5.54	3.16±0.48	41.86±1.19
1-Oktaanol/ 1-Octanol	1535	2.92±0.53	5.44±0.60	0.7±0.07	0.65±0.06	-	0.9±0.07	2.4±0.36
2,3-Bütandiol / 2,3-Butanediol	1554	12.99±3.95	44.57±0.83	12.18±1.73	7.2±1.70	8.3±1.74	9.44±0.74	26.34±5.54
Hekzadekan/ Hexadecane	1574	4.84±0.45	2.06±0.84	-	-	-	-	5.38±1.27
Dekanoik asit metil ester/ Decanoic acid, methyl ester	1578	24.02±11.0	18.29±2.24	1.65±0.81	1.14±0.32	1.99±0.74	10.95±9.70	6.61±2.30
2-Undekanon/ 2-Undecanone	1583	65.19±10.6	39.24±1.02	2.95±1.05	4.64±2.63	19.54±5.16	11.45±6.43	86.39±9.55
Dekanoik asit etil ester/Decanoic acid, ethyl ester	1618	64.88±6.63	81.83±9.16	7.56±0.03	14.93±6.75	10.14±1.03	25.93±1.31	46.38±3.76
1-Nonanol/ 1- Nonanol	1634	2.74±0.16	3.57±1.00	1.18±0.47	35.27±1.82	3.16±1.07	1.1±0.09	3.25±0.57
Oktanoik asit 3-metil bütül ester/ Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	1638	-	5.62±1.49	-	-	4.3±0.00	-	-
Propanoik asit 2-metil etil ester/ Propanoic acid, 2-methyl, ethyl ester	1667	-	9.7±1.35	0.7±0.01	-	6.64±1.24	-	-
2-Dodekanol/ 2-Dodecanol	1692	-	2,32±0.15	-	-	-	4.24±0.15	-
Dodekanoik asit metil ester/ Dodecanoic acid, methyl ester	1742	3.72±0.95	2.56±0.56	-	-	-	4.6±0.95	6.6±2.30
2-Tridekanon/ 2-Tridecanone	1748	-	1.93±0.02	-	-	-	-	3.0±0.08

Kırklareli Eski Kaşar peynirinin karakterizasyonu

Bütirik asit, bütil ester/ <i>Butanoic acid, butyl ester</i>	1786	8.7±2.64	18.62±2.65	0.77±0.00	1.15±0.23	-	2.1±0.05	3.45±1.42
2-Pentadekanon/ 2- <i>Pentadecanone</i>	1900	1.6±0.51	1.34±0.00	-	-	-	-	-
Tetradekanoik asit etil ester/ <i>Tetradecanoic acid, ethyl ester</i>	1926	2.82±0.37	-	0.55±0.19	-	-	-	-
Hekzadekanoik asit metil ester/ <i>Hexadecanoic acid,</i> <i>methyl ester</i>	2102	2.89±0.98	8.96±8.18	1.22±0.93	-	-	0.4±0.18	1.89±0.66

RI: Alıkonma indeksi, -: belirlenmedi/ *RI: Retention index, -: not determined.*

Çizelge 5. Tanımlayıcı Duyusal değerlendirme skorları (n=7) (Ortalama±Standart Hata)
Table 5. Descriptive sensory evaluation scores (n=7) (Mean± Standard Error)

Tanımlayıcılar / <i>Descriptors</i>	Peynirler / <i>Cheeses</i>						
	A	B	C	D	E	F	G
Pişmiş/ <i>Cooked</i>	2.92±0.13	3.03±0.19	3.00±0.19	2.78±0.14	2.28±0.14	2.92±0.25	2.14±0.14
Peyniraltı suyu / <i>Whey</i>	2.57±0.07	2.53±0.11	2.57±0.17	2.71±0.10	2.42±0.23	2.89±0.12	2.10±0.31
Kremamsı / <i>Cream</i>	3.28±0.18	3.82±0.14	3.46±0.28	2.89±0.31	2.78±0.21	3.67±0.19	3.64±0.14
Sülfür / <i>Sulphur</i>	1.78±0.14	2.25±0.30	1.57±0.38	1.92±0.25	2.89±0.35	1.78±0.18	2.07±0.17
Ransit / <i>Ransit</i>	1.96±0.13	2.82±0.16	1.53±0.22	1.82±0.17	3.50±0.10	1.00±0.26	3.92±0.07
Meyvemsi / <i>Fruit-like</i>	1.15 ±0.13	1.21±0.17	1.07±0.17	0.89±0.28	1.03±0.19	0.89±0.15	1.07±0.04
Hayvansı/ <i>Animal-like</i>	0.60±0.31	1.14±0.44	0.42±0.17	1.57±0.42	2.57±0.36	1.00±0.36	2.14±0.26
Depo / <i>Storage</i>	0.42±0.23	0.42±0.17	0.46±0.22	0.78±0.18	1.00±0.10	0.89±0.24	0.17±0.14
Fermente / <i>Fermented</i>	1.71±0.10	1.96±0.19	1.75±0.14	2.53±0.11	1.50±0.10	1.82±0.23	1.57±0.13
Fındıgımsı/ <i>Hazelnut-like</i>	0.92±0.11	0.85±0.14	0.96±0.19	0.89±0.13	1.46±0.10	0.89±0.21	1.10±0.09
Küf- Maya/ <i>Mould-Yeast</i>	3.00±0.21	2.10±0.18	1.35±0.26	0.57±0.16	2.64±0.23	0.42±0.17	2.39±0.10
Petrol/ <i>Oil</i>	0.17±0.14	0.32±0.11	0.67±0.14	0.82±0.07	1.00±0.00	0.07±0.07	0.07±0.07
Tatlı / <i>Sweet</i>	1.07±0.07	1.46±0.17	1.82±0.23	1.50±0.15	2.03±0.19	1.46±0.23	1.21±0.08
Tuzlu / <i>Salty</i>	7.17±0.32	5.82±0.27	4.50±0.32	5.57±0.33	6.35±0.45	4.57±0.28	6.57±0.20
Ekşi / <i>Sour</i>	3.21±0.28	2.50±0.21	2.28±0.18	4.39±0.25	2.78±0.23	3.00±0.40	2.21±0.20
Acı / <i>Bitter</i>	0.67±0.17	1.25±0.25	0.35±0.10	0.46±0.08	1.00±0.19	0.25±0.14	0.96±0.03
Keskin/ <i>Bite</i>	0.28±0.14	0.78±0.24	0.42±0.22	0.25±0.09	2.32±0.54	0.14±0.09	0.92±0.11
Umami/ <i>Umami</i>	2.14±0.15	2.10±0.34	1.57±0.20	1.75±0.29	2.78±0.18	1.64±0.13	1.85±0.14

Çizelge 4'te peynir örneklerinde tespit edilen bazik ve nötral uçucu bileşenler yer almaktadır. Hekzanoik asit etil ester, oktanoik asit etil ester, dekanoik asit etil ester ve dekanoik asit metil ester bileşiklerinin tüm peynir örneklerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Peynirlerde meydana gelen lipoliz sonucunda doymuş yağ asitleri parçalanarak metil ketonları meydana getirmektedirler (Andiç vd., 2015). Gerçekleştirilen bu çalışmada Kırklareli Eski Kaşar Peyniri örneklerinde 9 adet keton tespit edilmiş olup bunlar; 2-pentanon, 2-heptanon, 2-oktanon, asetoin, 2-nonanon, 2-dekanon, 2-undekanon, 2-tridekanon ve 2-pentadekanondur. Peynirin temel aroma bileşenlerinden olan 2-nonanon (Moio vd., 2000) peynir örneklerinde tespit edilen en yüksek keton olup G örneğinde 592.42 µg/100 g olarak belirlenmiştir. Doğan ve Karagül Yüceer (2019) Ezine Eski Kaşar Peyniri üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada 2-pentanon ve 2-heptanon bileşiklerinin peynir örneklerinde

miktarca en yüksek ketonlar olduğunu tespit etmişlerdir. Peynirlerde bitkisel aromadan sorumlu alkollerden biri olan 2-etil 1-hekzanol (Esen vd., 2020) ise en çok F örneğinde 100 gramda 101.53 µg olarak tespit edilmiştir. Kırklareli Eski Kaşar Peyniri örnekleri esterler bakımından zengin olup hekzanoik asit etil ester ve oktanoik asit etil ester bileşenleri peynir örneklerinde yüksek miktarlarda tespit edilen uçucu bileşenlerdir (Çizelge 4). A ve B örneğinde bu esterlerin miktarları oldukça yüksek tespit edilmiş olup gerçekleştirilen duyuşal değerlendirmeler sonucunda meyvemsi lezzet de panelistler tarafından yüksek olarak algılanmıştır (Çizelge 5).

Kırklareli Eski Kaşar Peynirleri'nin duyuşal özelliklerinin ortaya koyulabilmesi amacıyla tanımlayıcı duyuşal analiz tekniği kullanılmıştır. Peynirlerde duyuşal analizler 15 puanlık skala

kullanılarak gerçekleştirilmiş olup elde edilen sonuçlar Çizelge 5'te sunulmuştur.

Gerçekleştirilen duyu analizi sonrasında peynirlerde 'pişmiş', 'peyniraltı suyu', 'kremamsı', 'sülfür' ve 'küf-maya' olarak tanımlanan özellikler panelistler tarafından yoğun olarak algılanmıştır. 'Tuzlu', 'ekşi' ve 'umami' tatlar da panelistler tarafından peynir örneklerinde yoğun olarak algılanan temel tat özelliklerinden olmuştur. Pişmiş özelliği bakımından en yüksek puan B örneğinde, en düşük puan ise G örneğinde algılanmıştır. Peyniraltı suyu özelliği bakımından en yüksek puan F örneğinde, en düşük puan ise G örneğinde belirlenmiştir. Küf-maya aroması genel olarak tüm peynirlerde algılanan bir tanımlayıcı terim olup en yüksek A peynirinde belirlenmiştir.

Doğan ve Karagül Yüceer (2019) Ezine Eski Kaşar Peynirleri'nde gerçekleştirdikleri duyu analizi değerlendirmede 'pişmiş', 'peyniraltı suyu', 'kremamsı', 'sülfür', 'ransit', 'tuzlu' ve 'umami' terimlerini karakteristik tanımlayıcılar olarak belirlemiş ve bu terimleri sırasıyla; 2.08-4.00, 2.00-3.83, 2.08-4.83, 0.66-5.00, 0.41-5.00, 6.00-10.50 ve 0.25-2.95 aralıklarında bulmuşlardır.

SONUÇ

Kırklareli Eski Kaşar Peyniri coğrafi işaret belgesi bulunan ve geleneksel yöntemlerle üretilerek kendine özgü karakteristik özellikleri olan peynirlerimizden biridir. Bu çalışmada, Kırklareli Eski Kaşar Peyniri'nin uçucu bileşen profili, fizikokimyasal ve duyu özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiş olup 7 adet peynir örneği yerel üreticilerinden temin edilmiştir. Peynir örnekleri arasında fizikokimyasal özellikler bakımından farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Parlaklık ve beyaz renkten sorumlu L^* değerinin merkez kısımlarda daha yüksek olduğu belirlenirken b^* değerinin ise kenar ve merkez kısımlardan alınan ölçümlerde benzer olduğu saptanmıştır. Peynirlerde yoğun olarak belirlenen karakteristik uçucu bileşenlerin asit grubunda yer alan asetik asit, butirik asit, hekzanoik asit, oktanoik asit ve dekanoik asit olduğu bulunmuştur. Ester grubunda ise hekzanoik asit etil ester ve oktanoik asit etil ester yüksek konsantrasyonlarda tespit edilen uçucu bileşenlere

örnek verilebilir. Gerçekleştirilen duyu analizi değerlendirmeler sonucunda peynirlerde yoğun olarak algılanan aroma ve tat terimleri 'pişmiş', 'peyniraltı suyu', 'kremamsı', 'sülfür', 'küf-maya', 'tuzlu', 'ekşi' ve 'umami' olmuştur. Peynir örneklerinde tespit edilen bu farkların peynir üretiminde kullanılan süt türlerine, bunların karışım oranlarına, üretim metodlarındaki farklılıklara, olgunlaştırma süresine ve olgunlaştırma koşullarına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Elde edilen bulguların coğrafi işaret ile tescillenmiş Kırklareli Eski Kaşar Peyniri'nin bazı karakteristik özelliklerinin ortaya konarak tanınırlığının artmasını sağlayacağı düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu araştırma makalesinde herhangi bir kişi ve/veya kurum ile çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

YAZAR KATKILARI

Özlem ŞAHİNER laboratuvar analizlerini, bulguların değerlendirilmesini ve makale yazımını gerçekleştirmiştir. Yonca KARAGÜL YÜCEER süreç yönetimi, metodoloji ve makale yazımı konularında katkı sağlamıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın gerçekleşmesinde desteklerini esirgemeyen Kırklareli Ticaret ve Sanayi Odası'na, Kırklareli Eski Kaşar Peyniri üreticisi firmalarına ve duyu analizi değerlendirmelere katılım sağlayan panelistlere teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

Adda, J., Gripon, J. C., Vassal, L. (1982). The chemistry of flavour and texture generation in cheese. *Food Chemistry*, 9(1-2): 115-129, [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(82\)90073-5](https://doi.org/10.1016/0308-8146(82)90073-5)

AMC, Analytical Methods Committee. (1960). Methods for the destruction of organic matter. *Analyst*, 85(1014): 643-656.

Andiç, S., Tunçtürk, Y., Boran, G. (2015). Changes in volatile compounds of cheese. *Processing and Impact on Active Components in*

- Food*, Chapter 28: 231-239. London, UK. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00028-7>
- Anonymous. (2015). Türk Gıda Kodeksi. Peynir tebliği (2015/6). Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 8 Şubat 2015 tarih ve 29261 Sayılı Resmî Gazete, Ankara.
- AOAC (1990). Official Methods of Analysis AOAC International. 15th Edition, Washington DC, ABD, ISBN: 0-935584-42-0
- Aydemir, O. (2010). Kars kaşar peynirinin karakterizasyonu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, Türkiye, 128s.
- Aydoğan, M. B. (2022). Olgunlaştırılmış kaşar peynirlerinin bazı fizikokimyasal özellikleri yağ asidi kompozisyonu ve konjuge linoleik asit içeriği, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Burdur, Türkiye, 68s.
- Bansal, V., Mishra, S. K. (2020). Reduced-sodium cheeses: implications of reducing sodium chloride on cheese quality and safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2): 733-758. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12524>
- Bansal, V., Veena, N. (2022). Understanding the role of pH in cheese manufacturing: general aspects of cheese quality and safety. *Journal of Food Science and Technology*, 1-11 <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05631-w>
- Baspınar, E., Mendes, M., Camdeviren, H. (2000). Multidimensional scaling analysis and its usage. *Biyoteknoloji (KUKEM) Dergisi*, 24: 89-98, Doi: 10.3906/tar-2109-45.
- Bradley, R. L., Arnold, E., Barbano, D. M., Semerad, R. G., Smith, D. E., Vines, B. K. (1992). Chemical and physical methods. *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 16: 433-531.
- Carunchia Whetstine M.E., Karagül Yüceer, Y., Avşar Y.K. (2003). Identification and quantification of character aroma components in fresh chevre-style goat cheese. *Journal of Food Science*, 68(8): 2441-2447. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb07043.x>
- Çakmakçı, S., Tahmas Kahyaoglu, D. (2023). Ardahan göbek kaşar peynirinin mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 10(2): 274-282. <https://doi.org/10.30910/turkjans.1201905>
- Çetinkaya, A. (2021). Kars piyasasında satışa sunulan yoğurt, beyaz peynir ve Kars kaşar peynirlerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin incelenmesi. *GIDA*, 46(5):1233-1242.
- Doğan, M. A., Karagül Yüceer, Y. (2019). Ezine eski kaşar peynirinin karakteristik bazı özellikleri. *GIDA*, 44(5): 849-860. <https://doi.org/10.15237/gida.GD19052>
- Esen, B. N., Güneşer, O., Akyüz, S. (2020). Bitkisel ve süt bazlı protein kaynaklarından üretilen analog peynirlerin fiziko-kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri ile aroma profilleri değerlendirilmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 26(7): 1214-1222. Doi: 10.5505/pajes.2019.99825
- Gallois, A., Langlois, D. (1990). New results in the volatile odorous compounds of french cheeses. *Le Lait*, 70(2): 89-106. <https://doi.org/10.1051/lait:199028>
- Hayaloğlu, A. A. (2009). Volatile composition and proteolysis in traditionally produced mature Kashar cheese. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(7): 1388-1394, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01968.x>
- Işık, S., Bozkurt, F., Guner, S., Işık, S., Topalcengiz Z. (2020). Microbiological, physicochemical, textural and volatile characteristics of traditional kashar cheese produced in Muş, *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 24(4): 409-419, <https://doi.org/10.29050/harranziraat.703063>
- Madkor, S., Fox, P. F., Shalabi, S. I., Metwalli, N. H. (1987). Studies on the ripening of stilton cheese: proteolysis. *Food Chemistry*, 25(1): 13-29. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(87\)90050-1](https://doi.org/10.1016/0308-8146(87)90050-1)
- McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Lucey, J. A., Jordan, K. N., Cogan, T. M. (1993). Contribution of the indigenous microflora to the maturation of

- cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 3(7): 613-634. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(93\)90104-8](https://doi.org/10.1016/0958-6946(93)90104-8)
- McSweeney, P. L., Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review. *Le Lait*, 80(3): 293-324. <https://doi.org/10.1051/lait:2000127>
- Meilgaard, M., Civille, G.V., Carr, B.T. (1999). Overall difference tests: does a sensory difference. in: sensory evaluation techniques. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL. <https://doi.org/doi:10.1201/9781439832271.ch 6>
- Moio, L., Piombino, P., Addeo, F. (2000). Odour-impact compounds of gorgonzola cheese. *Journal of Dairy Research*, 67(2): 273-285. <https://doi.org/10.1017/S0022029900004106>
- NEN, (1969). Netherlands Standard. 3059. Butyrometric determination of the fat content of cheese (Gerber-van Gulik method). *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 23: 214-220.
- NIST, (2008). NIST/EPA/NIH Mass spectral library (NIST 08). National Institute of Standards and Technology Standard Reference Data Program, Gaithersburg, MD 20899.
- Subaşı, K. (2021). Coğrafi işaretli Ezine ve Edirne beyaz peynirleri ile Malkara eski kaşar peynirlerinin bazı fizikokimyasal özelliklerinin ve yağ asidi bileşimlerinin belirlenmesi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 152s.
- Şelem, E., Nohutçu, L., Tunçtürk, R., Tunçtürk, M. (2020). Geleneksel otlu peynirde kullanılan allium türleri. *Babri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 9(2): 312-326.
- Temizkan, R. (2012). Kaşar peynirinin bileşim, proteoliz, fonksiyonel ve duyuşal özellikleri üzerine inek, koyun ve keçi sütü kullanımının etkisi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale, Türkiye, 80s.
- TPE, Türk Patent Enstitüsü. (2023). Kırklareli Eski Kaşar Peyniri, No:1408-Menşe Adı, Ankara.
- Wiley, (2005). Wiley Registry of Mass Spectral Data 7. Edition (Fred. W. McLafferty) ISBN: 978-0471473251, 2005 (CD-ROM)
- Yüzbaşı, N. (1996). Pastörize edilmiş starter kültür katılmış sütlerden glukono delta lakton (GDL) kullanılarak elde edilen beyaz peynirlerin bazı nitelikleri üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 80s.



SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE MİKROPLASTİK VARLIĞI, SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ VE MİKROPLASTİK AYIRMA YÖNTEMLERİ

Fatmagül Halıcı Demir^{1*}, Emel Yılmaz², İrem Damar²

¹Trakya Üniversitesi, Arda Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Edirne, Türkiye

²Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Edirne, Türkiye

Geliş / Received 15.10.2023; Kabul / Accepted: 23.02.2024; Online baskı / Published online: 27.02.2024

Halıcı Demir, F., Yılmaz, E., Damar İ. (2024). Süt ve süt ürünlerinde mikroplastik varlığı, sağlık üzerine etkileri ve mikroplastik ayırma yöntemleri. GIDA (2024) 49 (2) 205-222 doi: 10.15237/ gida.GD23130

Halıcı Demir, F., Yılmaz, E., Damar İ. (2024). Presence of microplastic in milk and dairy products, its effects on health and microplastic separation methods. GIDA (2024) 49 (2) 205-222 doi: 10.15237/ gida.GD23130

ÖZ

Plastikler kolay işlenebilir, dayanıklı, hafif ve ucuz olması gibi özellikleri nedeniyle günlük yaşamın vazgeçilmez malzemelerinden biridir. Gıda sektöründe özellikle ürünlerin ambalajlanması ve taşınması gibi konulardaki avantajları nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir. Kullanılan plastikler çeşitli çevresel faktörlerle mikroplastik olarak adlandırılan daha küçük parçacıklar halinde doğada serbest kalmaktadır. Yapılan çalışmalar bu parçacıkların havada, suda ve gıdalarda bulunduğunu göstermiştir. İnsanlarda, kanda ve organlarda da tespit edildiği için mikroplastiklerin insan sağlığı üzerindeki olası etkileri endişe uyandırmaktadır. Mikroplastiklerin hem çevre hem de insan sağlığı için küresel bir tehdit haline geldiği göz önüne alındığında, mikroplastiklerin gıdaya olan kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi, kontaminasyonu etkileyen faktörlerin irdelenmesi ve gıdalardaki miktarlarının belirlenmesi için yöntemlerin geliştirilmesi gereklidir. Bu derlemede mikroplastik kavramının açıklanması, mikroplastiklerin sağlık üzerine olan etkileri ile ilgili yapılan çalışmaların özetlenmesi, gıdalarda özellikle süt ve süt ürünlerindeki mikroplastik varlığı ve kontaminasyon kaynakları ile ilgili bilgilerin toplanması ve gıdalarda mikroplastiklerin tespitinde ayırma aşamasında kullanılan yöntemlerin kapsamlı bir şekilde incelenerek sunulması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Mikroplastik, gıda, süt ve süt ürünleri, sağlık, ayırma yöntemleri

PRESENCE OF MICROPLASTIC IN MILK AND DAIRY PRODUCTS, ITS EFFECTS ON HEALTH AND MICROPLASTIC SEPARATION METHODS

ABSTRACT

Plastics are one of the indispensable materials of daily life due to their features such as being easy to process, durable, light and cheap. It is frequently preferred in the food industry due to its advantages, especially in packaging and transportation of products. The plastics are released in nature as smaller particles called microplastics, which are formed due to various environmental factors. Studies have shown that these particles are found in air, water and food. Since microplastics have also been detected in humans, blood and organs, the possible effects of microplastics on human health raise concern. Considering that microplastics have become a global threat to both the environment and human health, it is necessary to identify the sources of contamination of microplastics in food,

*Sorumlu yazar / Corresponding author

✉:fatmagulhalici@trakya.edu.tr

☎: +90(284)214 4756/147

☎: +90(284)214 7553

Fatmagül Halıcı Demir; ORCID no: 0000-0003-3521-1556

Emel Yılmaz; ORCID no: 0000-0002-1766-3762

İrem Damar; ORCID no: 0000-0002-5521-2233

examine the factors affecting contamination, and develop methods to determine their concentrations in food. In this review, it is aimed to explain the concept of microplastics, summarize the studies on the effects of microplastics on health, and collect and present information about the presence of microplastics in foods, especially milk and dairy products, and their contamination routes. In this review, it is aimed to explain the concept of microplastics, summarize the studies on the effects of microplastics on health, collect information about the presence of microplastics in foods, especially in milk and dairy products, and sources of contamination, and comprehensively examine and present the methods used in the separation phase in the detection of microplastics in foods.

Keywords: Microplastic, food, milk and dairy products, health, isolation methods

GİRİŞ

Günümüzde plastik kirliliği küresel bir çevre ve halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Plastics Europe'a göre, 2021 yılında dünya plastik üretiminin yılda 390.7 milyon ton olduğu ve üretimin sadece %8.3'ünün geri dönüştürülmüş plastik kullanılarak karşılandığı belirtilmiştir (Plastics Europe & EPRO, 2022). Küresel plastik atık üretiminin yıllık 2015 yılında 60 ile 99 milyon metrik ton olduğu, bu sayının 2060 yılına kadar üç katına çıkarak 155-265 metrik tona ulaşacağı raporlanmıştır (Lebreton ve Andrady, 2019). Mevcut atık arıtma sistemlerinde etkili bir iyileştirme yapılmadığı takdirde dünya ortamının (kara, tatlı su, okyanus, hava) 2050 yılına kadar 13.2 milyar plastik atıkla dolacağı tahmin edilmektedir (Silva vd., 2020).

Plastikler, yüksek moleküler ağırlığına sahip uzun zincirli organik polimerlerin bir sınıfıdır (Liu vd., 2021) ve polipropilen (PP), polietilen (PE), polietilen tereftalat (PET), polistiren (PS), poliüretan (PU), polivinil klorür (PVC) ve polikarbonat (PC) gibi türleri başta olmak üzere 45'den fazla farklı plastik türü ticari üretimde kullanılmaktadır (Kannan ve Vimalkumar, 2021). Plastikler kimyasal ve biyolojik bozunmaya karşı dirençli, ucuz, hafif, üretim ve işleme kolaylığı gibi avantajları nedeniyle birçok alanda kullanılmaktadır (Liu vd., 2021). Bertaraflarına ilişkin katı düzenlemelerin bulunmaması, çapı 10 ve 2.5 mikrometreden küçük olan partiküller için düzenlemelerin mevcut olmasına rağmen kontrol yöntemlerinin sınırlı olması ve bazı ülkelerin geri dönüşüm süreçlerinde etkin olmamaları nedeniyle çok sayıda plastik atık, su ve karasal ortamlara girerek ciddi bir çevresel kirliliğe neden olmaktadır (Du vd., 2020, Diaz-Basantes vd., 2020). Genel olarak büyük plastik polimerler inert oldukları ve boyutlarından dolayı bağırsak sistemi

tarafından emilmedikleri için insan metabolizmasında işlenmeden atıldıkları düşünülmektedir. Bu nedenle plastiklerin su ve çevresel kirlilik ve sürdürülebilirlik konuları üzerindeki etkileri dikkat çekmektedir (Wurm vd., 2020). Son yıllarda yapılan araştırmalar ise plastiklerin çevreye ve/veya biyolojik sistemlere girdikten sonra biyotik ve abiyotik ayrışma ve dönüşüm süreçleri yoluyla ortamda mikroplastikler (MP) olarak adlandırılan daha küçük boyutlu parçacıklara dönüştüğünü kanıtlamıştır (Kannan ve Vimalkumar, 2021).

Bunun sonucunda, insanlarda MP'lere maruz kalma yolları ve maruz kalmanın oluşturabileceği sağlık sorunları ile ilgili endişe artmış ve bu risklerin tanımlanması konusunda yapılan araştırmalar ivme kazanmıştır (Sangkham vd., 2022). 2021 yılında dünyada üretilen plastiklerin %44'ü ambalaj endüstrisinde kullanılmıştır (Plastics Europe & EPRO, 2022). Ambalaj materyalinden gıdaya MP geçişi çeşitli araştırmalar (Iniguez vd., 2017; Winkler vd., 2019; Hernandez vd., 2019) ile gösterilmiştir. Bu bağlamda insanlara gıdalar aracılığıyla geçen MP miktarını azaltmak ve gıda güvenliğini sağlamak açısından (Xu vd., 2019; Prata vd., 2020); MP'lerin gıdalara kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi, kontaminasyonu etkileyen faktörlerin saptanması ve kontaminasyonun azaltılması konularında farkındalık artırılmalıdır. Gıdalardaki MP varlığını doğru olarak belirleyebilmek için tespit yöntemlerinin geliştirilmesi ve özelleştirilmesi son derece önemli bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır.

MİKROPLASTİKLER

Mikroplastik (MP)'ler, düzenli veya düzensiz şekillere ve 1µm ile 5 mm arasında değişen boyutlara sahip sentetik katı parçacıklar veya

polimerik matrisler olarak tanımlanır (Frias ve Nash, 2019). MP'ler, çevresel salınım kaynaklarına göre birincil veya ikincil olarak sınıflandırılır. Birincil MP'ler, yüz temizleyicileri, duş jelleri ve bulaşık süngerlerindeki mikroboncuklar ve giysilerdeki mikrofiberler gibi uygulamalarda kullanılmak üzere kasıtlı olarak <5 mm boyutlarında üretilenlerdir (Kannan ve Vimalkumar, 2021). İkincil MP'ler ise plastik malzemelerin foto, termal, biyolojik ve mekanik degradasyon olarak adlandırılan dört tip çevresel faktör nedeniyle daha küçük ünitelere parçalanmış halleridir (Chamas vd., 2020). Güneş ışınları fotodegradasyon yoluyla plastiğin C–C ve C–H bağlarının kırılmasına neden olur. Sıcaklık artışı, polimerlerin kimyasal ve fiziksel yapısını etkiler ve bu olay termal bozunma olarak tanımlanır. Biyolojik bozunma, mikroorganizmaların aerobik veya anaerobik koşullar altında neden olduğu enzimatik bozunmanın daha spesifik bir türüdür. Mekanik bozulma ise rüzgâr ve su gibi harici aşındırıcı faktörler, fiziksel stres ve tekrarlanan kullanım sonucunda oluşur (Fotopoulou ve Karapanagioti, 2019). Belirli bir çevresel faktörün plastiğin bozunma hızı üzerindeki etkisi, büyük ölçüde plastiğin türüne bağlıdır (Chamas vd., 2020). Bu çevresel faktörler ve bozulma süreçleri plastikleri önce makroplastiklere (>200 mm) dönüştürür. Daha sonra artan parçalanma düzeyleri ile mesoplastikler (5–200 mm) ve mikroplastikler (<5 mm) oluşur. Ayrıca, bozunma süreci ile mikroplastikler nanoplastik (<1 µm) olarak adlandırılan daha küçük nano boyutlu parçacıklara dönüşür (Klein vd., 2018).

MİKROPLASTİK KONTAMİNASYONU

Doğada yaygın olarak bulunan MP örnekleri; üretim öncesi kullanılan plastik peletler, elektronik ekipman, paketler, şişeler, araç parçaları veya lastikler, boyalar, sentetik tekstiller, kişisel bakım ürünleri ve olta takımları gibi çeşitli ürünlerden türetilen parçacıklar veya bileşenler olarak sıralanabilir (Al Mamun vd., 2023). MP'ler küçük parçacık boyutları nedeniyle bu kaynaklardan toprağa, suya ve havaya karışarak, bu ortamların ve ortamda bulunan canlıların kontaminasyonuna sebep olur (Ashrafy vd., 2022).

Su ortamlarının ve sudaki canlıların MP'ler ile yoğun bir şekilde kirlenmesine neden olan faktörler; evsel ve endüstriyel atık suların okyanuslara, göllere ve nehirlere deşarjı, diğer MP kaynaklarının bu su ortamlarına bırakılması, katı atık toplama ve bertaraf sırasında açığa çıkan plastik ve bunların bozulma ürünlerinin rüzgâr gibi faktörlerle su ortamlarına taşınması olarak sıralanabilir (Ashrafy vd., 2022). Tarım alanlarında plastik malçlama ve biyokatıların yaygın kullanımı toprakta MP kontaminasyonuna yol açmaktadır (Huang vd., 2020). MP'ler toprak, gübre, biyokatı (kompost ve çamur) ve su yoluyla bitki sistemine kolayca geçebilir (Vithanage vd., 2021; Unuofin ve Igwaran, 2023). Toprakta bulunan MP'ler trofik taşıma yoluyla sebzelerde biyolojik olarak birikebilmektedir (Huang vd., 2020). Ek olarak bitkilerin MP ile kontaminasyonunda işçi arıların rolü olduğu ortaya konmuştur (Edo vd., 2021).

Çevresel kontaminasyon kaynaklarının yanında, gıdaların ambalajlanmasında kullanılan çeşitli plastik malzemeler gıdaların MP ile kontaminasyonuna sebep olmaktadır. Isı, UV ışınları ve depolama koşulları ambalaj malzemelerinin bozunumunu etkileyerek MP oluşumuna neden olmaktadır. Özellikle plastik içerikli bardak ve kutularda sıcak servis edilen gıdalardaki MP'lerin, ambalajdaki bu bozunma sonucunda oluştuğu düşünülmektedir (Sridharan vd., 2021). Ayrıca plastik yemek kapları ve bardakların aşırı kullanımı gıdaya doğrudan MP bulaşmasında etkilidir (Jadhav vd., 2021). Du vd. (2020), COVID-19 salgını ile gıda dağıtımı için plastik ambalaj kullanımının arttığını ve buna bağlı olarak MP kontaminasyonunun arttığını bildirmiştir.

Ek olarak gıdalara MP'ler, gıda endüstrisinde kullanılan teknik ve yardımcı ekipman, işleme tesislerinde yer alan havalandırma sistemleri ve işçilerin kullandığı eldiven, bone, maske gibi koruyucu ekipman ve gıda formülasyonuna katılan su, tuz ve katkı maddeleri nedeniyle dahil olmaktadır (Brachner vd., 2020). İçme suyu, bira, süt ve farklı içeceklerde (Shruti vd., 2020), meyveli içecekler ve bazı bal numunelerinde (Kosuth vd., 2018; Pivokonsky vd., 2018) kullanılan ambalaj

malzemelerinden, bira ve süt endüstrisinde kullanılan filtrasyon malzemelerinden ürüne MP geçişi olduğu bildirilmiştir (Diaz-Basantes vd., 2020). İçme suları ise atık ve çöp sahası sızıntılarından ve su şebekelerinde kullanılan borulardan dolayı MP açısından kirlenebilmektedir (Sewwandi vd., 2023). Gıdalarda en yaygın tespit edilen MP'ler PP, PET, PVC, PE, PS, yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE), düşük yoğunluklu polietilen (LDPE), poliamid (PA) ve genişletilmiş polistiren (EPS), vb.'dir (Afrin vd., 2022).

MİKROPLASTİKLERİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Genel olarak MP'ler insan vücuduna sindirim (yiyecek ve içecekler), solunum (hava) ve deri teması (kişisel bakım ve tekstil ürünleri) olmak üzere üç ana yolla girerler. En önemli kontaminasyon yolu ise MP ile kontamine gıdaların günlük diyetle tüketilmesidir (Prata vd., 2020). İnsanların kontamine toprakta yetişen bitkilerin tüketimi ile günlük yaklaşık 80 g (Ebere vd., 2019) ve sofraya tuzu tüketimi ile yıllık 150 partikül (Özçifçi vd., 2023) MP aldığı bildirilmiştir.

Yutma yoluyla MP'lere maruz kalmak, mide-bağırsakta ve endokrin sisteminde meydana gelen ve toksisite dahil olmak üzere bir dizi sağlık sorunu ile ilişkilendirilmiştir (Emenike vd., 2023). 150 µm'den daha küçük partiküller memeli vücutlarındaki gastrointestinal epitelyumu geçebilir ve sistemik maruziyete neden olur (Barboza vd., 2018). Boyutu 10 µm'den küçük MP'ler bağırsaktan emilerek dolaşım ve lenfatik sistemlere geçebilir. Ayrıca beyin, karaciğer ve böbrek dokularında da birikebilir (Yong vd., 2020). Leslie vd., (2022) geliştirdikleri analitik yöntem ile 22 sağlıklı gönüllüden alınan insan kanında PET, PE, PS ve polimetil metakrilat (PMMA) polimerlerini ilk kez tanımlamışlar ve kanda toplam MP konsantrasyonu ortalama değerinin ise 1.6 µg/ml olduğunu tespit etmişlerdir. Ragusa vd., (2021) ise 6 insan plasentası üzerinde yaptıkları çalışmada, 4 plasentada (5'i fetal tarafta, 4'ü anne tarafında ve 3'ü koryoamniyotik membranlarda) boyutları 5 ile 10 µm arasında değişen küresel veya düzensiz

şekilli 12 MP parçayı ilk kez tespit etmişlerdir. Bu çalışmalar ile plastik parçacıkların biyolojik olarak insan kan dolaşımında bulunabileceği ve fetüse temel besinlerin yanında MP'lerin de taşınabileceği gösterilmiştir.

Bununla birlikte MP'lerin insan vücudundaki birikimi, membranlar arası adsorpsiyonu, ikincil organlara ve dokulara translokasyonu, akut ve uzun süreli etkileri henüz tam anlamıyla tanımlanamamıştır. Ancak farklı solunum yolu hastalıklarından şikayetçi olan toplam 22 hastanın balgamında PU baskın olmak üzere çoğunun boyutu 500 µm'den küçük 21 farklı MP türü saptanmıştır (Huang vd., 2022). Ek olarak, 15 kalp cerrahisi hastasında beş doku türünde en büyüğü 469 µm çapında olmak üzere 9 tür MP ve bu hastalardan ameliyat öncesi ve sonrası alınan kan örneklerinde de maksimum çapı 184 µm olan 9 farklı tür MP tespit edilmiştir. Ayrıca, sol atriyal apendikste, epikardiyal yağ dokusunda ve perikardiyal yağ dokusunda bulunan PMMA'nın ameliyat sırasında herhangi bir işlemde kaynaklanmadığı ve hastaların dokularında doğrudan bulunduğu raporlanmıştır (Yang vd., 2023). Schwabl vd. (2019), insan dışkı örneklerinde ortalama 20 MP/10 g dışkı tanımlamış ve dışkı örneklerinin en az 9 farklı plastik türü içerdiğini ve en yaygın türlerin PET ve PP olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmalarda elde edilen bulgular, MP'lerin insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin bulunabileceğine yönelik endişeleri arttırmaktadır.

Mikroplastikler genellikle katkı maddeleri, ağır metaller ve diğer organik kirleticilerle ilişkilendirilir. Poliklorlu bifeniller, poliaromatik hidrokarbonlar, organoklorlu pestisitler, Bisfenol A (BPA) ve ftalatlar dahil birçok organik kirleticinin MP'lerin yüzeyine absorbe olduğu bildirilmektedir (Bouwmeester vd., 2015). Ek olarak, MP'ler hidrofobik yüzeylere sahip olmaları nedeniyle mikrobiyal bağlanma, kolonizasyon ve taşıma için stabil veya sabit bir bağlanma ortamı oluştururlar (Zhang vd., 2020; Unuofin ve Igwaran, 2023). Organik kirleticileri ve patojen ya da patojen olmayan mikroorganizmaları taşıyan MP'ler besin zinciri yoluyla insan vücuduna girmektedir (Al Mamun vd., 2023). MP'ler ve bu

absorbantlar insanlarda kimyasal ve fiziksel toksik etkiye (Cox vd., 2019) ve buna bağlı olarak, oksidatif stres, gen ekspresyonu modifikasyonu, diyabet, endokrin sistem bozulması, immünolojik tepkiler, kardiyovasküler komplikasyonlar, akciğer hastalıkları, genotoksisite, nörotoksisite gelişim ve üreme sorunları dahil olmak üzere çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Alimba ve Faggio, 2019; Prata vd., 2020; Joseph vd., 2023). Mikroplastik alımının kapsamı ve insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkisi konusunda daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

GIDALARDA MİKROPLASTİK VARLIĞI

Günlük hayatta tüketilen çeşitli gıdalarda önemli miktarda MP varlığının tespiti, MP kirliliğinin evrensel bir sorun olduğunu ortaya koymuş ve bu konuda endişeleri arttırmıştır (Unuofin ve

Igwaran, 2023). MP'ler küçük boyutları nedeniyle pelajik ve bentik ekosistemlerde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu ortamlarda bulunan sucul biyota aracılığıyla insan besin zincirine aktarılmaktadır (Sharma ve Chatterjee, 2017). Su ortamındaki MP'lerin diğer gıdalara kolayca taşınması, su ve deniz ürünlerinde MP varlığı konusunda özel bir odak noktası oluşturmuş, bu ürünlerde MP varlığını ortaya koyan birçok çalışma yapılmıştır (Pironti vd., 2021). Bunun yanı sıra içme suyu, alkolsüz içecekler, çay, şarap, alkol, enerji içecekleri, süt, bira ve kahve gibi içeceklerde, bal, tuz, şeker, et, meyve ve sebze gibi birçok gıda da MP varlığı bildirilmiştir (Yaranal vd., 2021; Sewwandi vd., 2023). Çizelge 1'de bazı gıdalarda mikroplastik varlığı ile ilgili yapılan çalışmalar ve elde edilen sonuçlar sunulmuştur.

Çizelge 1. Farklı gıda maddelerindeki mikroplastik varlığına ait bazı çalışmalar

Grup	Ülke	Numune	Mikroplastik sayısı/varlığı	Boyut	Kaynak
		<i>Scylla serrata</i> (Çamur yengeci)	1.8±0.21 MP/g		
		<i>Penaus monodon</i> (Karides)	1.7±0.29 MP/g		
		<i>Katsunonus pelamis</i> (Yazlı Orkinos)	1.42±0.29 MP/g		
		<i>Perna perna</i> (Kahverengi midye)	1.4±0.06 MP/g		
	Sri Lanka	<i>Hemiramphus archipelagicus</i> (Zıplayan yarım gaga)	1.17±0.14 MP/g	>0.6 µm	Kandeyaya vd., (2023)
		<i>Stolephorus commersonii</i> Commerson's hamsi)	0.83±0.10 MP/g		
		<i>Sardinella gibbosa</i> (Goldstripe sardalya)	0.82±0.30 MP/g		
		<i>Sepia sp.</i> (Sübye) (Sindirim sistemi)	0.04±0.02 MP/g		
	Ekvador	26 farklı türe ait 390 deniz örneği (Sindirim sistemi)	390 örneğin 277 tanesinde (%71.5±22.2) MP tespit edilmiştir	>200 µm	Cáceres Farias vd., (2023)
	Avustralya	3 farklı Karides türü (gastrointestinal sistemi içeren yumuşak doku)	0.8±0.1 MP/birey	>38 µm	Ogunola vd., (2022)
		2 farklı Yengeç türü (Mide-Bağırsak yolu)	1.6±0.1 MP/birey		
	Güneybatı Atlantik	<i>Pleoticus muelleri</i> (Karides) (gastrointestinal sistem ve karın kasti)	3.0±2.90 MP/g yaş ağırlık	>5 mm	Colombo vd., (2023)
Deniz ürünleri	Türkiye	<i>Patella caerulea</i> (Yumuşak dokuları)	0.20±0.5 - 0.45±0.7 MP/birey	0.13-4.3 mm	Yücel ve Kılıç, (2023)
	Çin	Kabuklu deniz hayvanları	1.88±1.44 MP/birey	<1.0 mm	Pan vd., (2022)
		Bahklar	1.98±1.98 MP/birey		
	İspanya	<i>S. pilchardus</i> (Sardalya)	1.77±1.42 MP/birey	0.3-5 mm	Filgueiras vd., (2020)
		<i>M. surmuletus</i> (Tekir)	1.56±0.53 MP/birey		
		<i>E. encrasicolus</i> (Hamsi)	1.92±0.95 MP/birey		
		<i>Callionymus lyra</i> (Uzgun Bahğı) (Sindirim sistemleri)	2.53±0.53 MP/birey		
	İtalya	3 farklı markaya ait deniz tuzu	1653±29 MP/kg	0-500 µm	Di Fiore vd., (2023)
	Çin	Kristalizasyon ile üretilen ham deniz tuzu	256±26 parçacık/10g	-	Li vd., (2023)
		Kırılmış ve yıkanmış deniz tuzu	6±5 - 112±30 parçacık/10g		

Çizelge 1. devam

Grup	Ülke	Numune	Mikroplastik sayısı/varlığı	Boyut	Kaynak
Tuz	Lübnan	16 farklı markaya ait tuz	159.6±157.6 MP/kg	> 0.7 µm	Nakat vd., (2023)
	İran	4 farklı markaya ait kaya tuzu;	55.2±43.7 MP/kg	> 0.45 µm	Makhdoumi vd., (2023)
		Optik stereomikroskopik			
	İran	Boyama (Nil Red) stereomikroskopik	151.3±61.8 MP/kg	> 0.45 µm	Taghipour vd., (2023)
		13 farklı markaya ait deniz tuzu	1356±533 MP/kg		
	İran	13 farklı markaya ait kaya tuzu	1475±902 MP/kg	> 0.45 µm	Özçifçi vd., (2023)
		8 farklı markaya ait dökme tuzu	1278±553 MP/kg		
	Türkiye	6 farklı markaya ait standart dışı tuz	1825±1808 MP/kg	> 0.45 µm	Sharifi ve Movahedian Attar, (2021)
		8 farklı markaya ait Deniz tuzu	39±30 MP/kg		
	İran	12 farklı markaya ait Göl tuzu	28±9 MP/kg	> 0.45 µm	Sivagami vd., (2021)
		16 farklı markaya ait Kaya tuzu	44±26 MP/kg		
	İran	5 Kristalize tuz örneği	151.4 ± 48.8 MP/kg	> 0.45 µm	Sivagami vd., (2021)
4 Rafine deniz tuzu örneği		406.7 ± 93.3 MP/kg			
Hindistan	2 Rafine edilmemiş deniz tuzu örneği	1288.6 ± 184.9 MP/kg	3.8 µm-5 mm	Sivagami vd., (2021)	
	4 Kaya tuzu örneği	283.4 ± 97 MP/kg			
Hindistan	10 ticari markaya ait deniz tuzu	<700 MP/kg	3.8 µm-5 mm	Sivagami vd., (2021)	
Şeker	Bangladeş	5 markalı ve 2 markasız şeker	343.7±32.08 MP/kg	<300 µm	Afrin vd., (2022)
	İtalya	2014-2018 yılları arası İtalya'da farklı üzüm çeşitlerinden üretilen 26 şişe beyaz şarap	2563-5857 MP/L	0.1 µm	Prata vd., (2020)
Farklı İçecekler	Meksika	13 farklı markaya ait 26 Bira	0-28±5.29 MP/L	100-3000 µm	Shruti vd., (2020)
	Ekvator	8 Endüstriyel markaya ait Bira	47 MP/L	130-6700 µm	Diaz-Basantes vd., (2020)
		7 Geleneksel markaya ait Bira	32 MP/L		
	Türkiye	10 markaya ait 30 meşrubat örneği	8.9±2.95 MP/L	10-100 µm	Altunışık, (2023)
	Meksika	10 markaya ait 19 meşrubat örneği	40±24.53 MP/L	100-300 µm	Shruti vd., (2020)
	Ekvator	14 markaya ait meşrubat	32 MP/L	5.47-2224.25 µm	Diaz-Basantes vd., (2020)
	İran	11 markaya ait mineralli su	8.5±10.2 MP/L	1280-4200 µm	Makhdoumi vd., (2021)
Yumurta	Çin	5 farklı üreticiden temin edilen yumurta	11.67±3.8 MP/yumurta	50-100 µm	Liu vd., (2022)

SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE MİKROPLASTİK VARLIĞI

Süt ve süt ürünlerinde gıda güvenliği açısından fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik tehlikeler sıkı denetim altında olmasına rağmen, mikroplastik tehlikesi ile ilgili henüz tam anlamıyla bir farkındalık oluşmamıştır (Kutralam-Muniasamy vd., 2020). Oysaki, süt ve süt ürünlerinin

üretiminde; süt sağımı sırasında, tedarik zinciri boyunca, endüstriyel işlemler sırasında, son paketlenme ve depolama aşamalarında kullanılan plastik malzemelerin süt için kontaminasyon kaynağı olabileceği bildirilmiştir (Da Costa Filho vd., 2021). Süt ve süt ürünlerine mikroplastik geçişi; sütün titreşimli vakumlu kauçuk kaplı meme başlıkları içeren sağım makineleri ile

sağılmasında makineden, sütün fabrikaya nakli sırasında yalıtımlı tanklarla donatılmış özel olarak tasarlanmış tankerlerden gerçekleştirilebilir. Ek olarak, fabrikaya gelen sütler PE veya PVC malzemelerden oluşan boru hatları ile fabrika içine aktarılmakta, bu aşamalarda borulardan süte MP geçişi söz konusu olabilmektedir. Daha sonra süt, mikrobiyal yükü azaltmak ve büyük katı maddeleri süttten ayırmak için makrofiltrasyon, mikrofiltrasyon ve ultrafiltrasyon gibi membran filtrasyon işlemlerine tabi tutulmaktadır (Kumar vd., 2013). Kullanılan membran filtrasyon ünitelerinin değiştirilmemesi, membranlara zarar veren yüksek basınç gibi faktörler ve filtrelerin ömrünü uzatmak için uygulanan kimyasal temizleme işlemleri nedeniyle polimerik membranların aşınması söz konusu olmakta ve bu durum membran yüzeyinde kopmalara neden olarak mikroplastik partiküllerini oluşturmaktadır. Oluşan bu partiküller işlem sırasında süte karışabilmektedir (Kumar vd., 2013; Pironti vd., 2021). İşleme sırasında kullanılan malzeme torbaları, önlükler, eldivenler, ekipmanlar, donanımlar ve süte eklenen su gibi yardımcı malzemelerin potansiyel MP kaynağı olabileceği vurgulanmaktadır. Ayrıca, süt endüstrisinde plastik bazlı ambalaj malzemelerinin yaygın olarak kullanılması da geçiş miktarının artmasına neden olabilir (Kutralam-Muniasamy vd., 2020). İçme sütü ve süt ürünlerinin endüstriyel üretimde olası mikroplastik kontaminasyonu genel olarak üretim ortamından gıdaya taşınma yolu ile olmaktadır. İşletme içindeki hava akımlarının atmosferik kontaminasyon kontrolünün kısıtlı olduğu durumlarda yüksek kontaminasyonun olduğu yerlerden gıdaya mikroplastikleri taşıdığı bildirilmiştir (Diaz-Basantes vd., 2020). Bu nedenle, üretim sürecindeki tüm faaliyetler süt ve süt ürünlerindeki olası mikroplastik varlığı açısından değerlendirilmelidir (Kutralam-Muniasamy vd., 2020).

Da Costa Filho vd., (2021), süt bazlı ürünlerde MP'leri doğru bir şekilde belirlemek ve karakterize etmek için mikro-Raman (μ Raman) teknolojisi kullanılarak enzimatik ve kimyasal sindirim adımlarını birleştiren yeni bir metodoloji geliştirmişlerdir. Geliştirilen bu yöntem ile çiftlikte sağım makinesinden hemen alınan çiğ sütte ve

bazı işlenmiş ticari sıvı ve toz inek sütü ürünlerinde nispeten düşük miktarlarda küçük boyutlu MP ($\geq 5 \mu\text{m}$) varlığını ilk kez rapor etmişlerdir. Türkiye pazarında satılan çeşitli markalara ait 14 adet ambalajlı sütün MP varlığı açısından incelendiği bir çalışmada, beş farklı polimer (PET, PP, PU, etilen vinil asetat ve naylon-6) ortalama 6 ± 5 partikül/L olarak tespit edilmiştir. Tüm süt numunelerinin ortalama MP polimer risk indeksinin orta düzeyde riskli olduğu vurgulanmıştır. Süt ambalajlarında yaygın olarak polietilen polimeri kullanılmaktadır. Ancak analiz edilen süt numunelerinde PE tespit edilmemiştir. Bu nedenle süt numunelerinde bulunan mikroplastiklerin ambalajdan kaynaklanmadığı, muhtemelen üretim sürecindeki kirleticilerden kaynaklandığı belirtilmiştir (Basaran vd., 2023). Hindistan'da 13 adet süt örneğinde $<500 \mu\text{m}$ boyutunda %70.8 oranında PE, PP ve poliakrilamid (PAM) yapıda MP varlığı gösterilmiştir. MP'lerin toplam sayısının $164-427$ MP/L aralığında değiştiği raporlanmıştır (Kiruba vd., 2022). Polietilen veya TetraPak ile ambalajlanmış ağırlıkça %1'den daha az miktarda yağ içeren 10 farklı süt örneğinde ise $16-53$ MP/L aralığında PP, HDPE, LDPE ve PAM yapıda MP tespit edilmiştir (Diaz-Basantes vd., 2020). Katsara vd., (2021) ise, Edam, Kefalotyri ve Parmesan peynirlerinin $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 1 ay depolandığı bir çalışmada, depolama sonunda örneklerin yüzeyinde LDPE mikroplastiklerinin varlığını ATR-FTIR ve Raman spektroskopisi ile depolamanın 14. gününde tespit etmiş ve plastiklerin ambalajdan yüzeye göç ettiğini kanıtlamıştır. Bu nedenle peynir gibi LDPE ambalajda bulunan süt ürünlerinin buzdolabı sıcaklığında uzun süre depolanmadan tüketilmesi gerektiğini bildirmiştir. Zıpak vd., (2022) ise yoğurt üretim sürecindeki mikroplastik kontaminasyon kaynaklarını belirlemek için prosesin farklı basamaklarından örnekler alarak, örneklerdeki mikroplastik varlığını ve düzeyini incelemişlerdir. Yapay sindirim enzimi (multi enzim) kullanılarak gerçekleştirilen sindirim işlemi ile analiz edilen örneklerde özellikle yoğurt kovalarından yüksek kontaminasyon olduğu vurgulanmış ve 12 işlem basamağının toplam 171 mikroplastik parçacık ($20-580$ partikül/L) içerdiği tespit edilmiştir. Buyukunal vd., (2023) geleneksel

Türk içeceği olan ayranın MP içeriğini belirlemek için ayran yapımında kullanılan su, tuz, krema ve kültür gibi girdileri incelemişlerdir. Çalışmada, su ve tuzlu su dışındaki örneklere önce enzimatik hidroliz uygulanmıştır. Daha sonra bütün örnekler 1 µm gözenek çapına sahip cam mikrofiber filtreler kullanılarak 0.5–0.6 bar basınç altında filtre edilmiştir. En yüksek MP miktarı tuzlu su (43 partikül/100 mL), tuz (33 partikül/100 g) ve homojenizasyon ve pastörizasyon aşamalarından alınan süt örneklerinde (26 partikül/100 mL) tespit edilmiştir. Son ürün ayranda ise 18 partikül/100 mL MP varlığı raporlanmıştır. Ayrıca tespit edilen MP'lerin çoğunun boyutlarının 1-150 µm arasında olduğu ve en çok tanımlanan polimerin etilen propilen olduğu belirtilmiştir. Marmara Bölgesi'nden toplanan 588 adet çiğ süt örneğinde MP varlığı araştırılmıştır. Örnekler enzimatik hidrolizin ardından 1 µm gözenek çapındaki membranlar ile 0.5 bar basınç altında filtrelenmiştir. İzole edilen MP'ler mikroskopik yolla tanımlanmış ve sayılmıştır. MP'lerin yüzey morfolojileri ve kimyasal bileşimleri ise SEM-EDS ve ATR-FTIR kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak örneklerin %89'nun MP içerdiği ve lifli parçacıkların daha yaygın (%52) olduğu gösterilmiştir. Örneklerde 7 farklı MP türü tanımlanmış ve başlıca türün etilen propilen (%72) olduğu ortaya konulmuştur (Rbaibi Zıpak vd., 2024). İtalya'da yapılan bir çalışmada, 34 farklı anne sütü örneği %10'luk KOH hidrolizinin ardından 1.6 µm gözenek çapına sahip filtrelerden süzülüş ve Raman Mikrospektroskopisi ile analiz edilmiştir. Sonuç olarak, 34 örnekten 26'sında boyutları 2-12 µm arasında değişen PE, PVC ve PP yapıda MP'lerin tespit edildiği raporlanmıştır (Ragusa vd., 2022). Yapılan farklı bir çalışmada, Çin pazarında bebek devam sütlerinin MP içeriği araştırılmıştır. Farklı ambalaj türlerini (karton ve teneke), işleme çeşitlerini (kuru karışım, ıslak karışım ve kombine işlem) ve süt kaynaklarını temsil eden 13 devam sütü incelemiştir. Araştırma sırası ile yapay mide öz suyu (5 pH, 37 °C 3 saat) ve pankreatik enzim (7-8 pH, 37°C 4 saat) kullanılarak iki aşamalı sindirim şeklinde gerçekleştirilmiştir. Karton kutulu süt tozlarının (7±3 MP/100 g) teneke kutulu süt tozlarına (4±3 MP/100 g) oranla daha yüksek miktarda MP içerdiği saptanmıştır. Karton

kutulu süt tozunun iç ambalajının plastik ve alüminyum folyo ile lamine edilmiş olması nedeniyle ürüne MP geçişinin arttığı belirtilmiştir. Ek olarak örneklere süt tozu, biberonlar ve süt tozu preparatlarından kaynaklanan MP geçişi belirlenmiştir. Bebek beslenmesinde kullanılan biberonun süt tozundan 6.8 kat, süt tozu prepatından ise 1.7 kat daha yüksek MP geçişine sebep olduğu bildirilmiştir (Zhang vd., 2023).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde özellikle süt ve süt ürünlerinde boyutu 20 µm'den küçük olan MP'leri güvenilir bir şekilde ölçebilen doğruluğu yüksek analitik yöntemlerin bulunmaması nedeniyle verilerin kısıtlı olduğu görülmektedir (Da Costa Filho vd., 2021).

MİKROPLASTİKLERİN AYIRIM YÖNTEMLERİ

Her ne kadar MP'lerle maruz kalma konsantrasyonlarının düşük olacağı tahmin edilse de mikro ve nanoplastiklerin çevreye karışmasıyla ilgili veriler, bunları çevresel matrislerden çıkarmak, karakterize etmek ve ölçmek için gereken analitik ve teknik zorluklar nedeniyle hala sınırlıdır. Bir gıda matrisinde MP'leri analiz etme süreci temel olarak ayırma, kalitatif ve kantitatif analiz basamaklarını içerir (Liu vd., 2021). Kalitatif ve kantitatif analizlerde MP'lerin miktarlarının belirlenmesi ve tanımlanması işlemleri yer almaktadır. Özellikle mikroplastiklerin tanımlanması için en yaygın kullanılan yaklaşım, olası plastiklerin görsel olarak tanımlanmasından (stereomikroskop, SEM, SEM-EDS) sonra, spektroskopik (µ-Raman, µ-FTIR, FPA FTIR, µ ATR FTIR, NIR) ve termoanalitik (Py-GCMS, LV Py-GCMS, TED-GCMS, DSC) ve/veya kimyasal (ICP-MS) analizlerin birleşik kullanımını içeren polimerik bileşimin kimyasal analizini içermektedir (Sturm vd., 2021). 2015-2017 yılları arasında yapılan çalışmaların %79'unda mikroplastiklerin saptanması, tanımlanması, boyutlandırılması ve miktarının belirlenmesi amacıyla görselleştirme yöntemlerinin birinin veya birkaçının sıklıkla kullanıldığı ve başarılı sonuçlar alındığı bildirilmiştir (Sturm vd., 2021). Fakat bu yöntemlerin başarısı örnekteki mikroplastığın

ayrılması için uygulanan yöntemin doğru seçilip seçilmediği ile yakından ilişkilidir.

Sıvı gıdalardan (örneğin, suda çözülmüş deniz tuzlarındaki mikroplastikler) mikroplastikleri ayırmak için yalnızca birkaç basit adım gerekmesine rağmen, bazı gıda matrislerinin zengin organik içeriği ve sentetik plastik parçacıklardan ayrılması zor olan doğal polimerik yapıları, MP'lerin ayrılmasında zorluk çıkarmaktadır (Kwon vd., 2020). Birçok plastiğin hidrofobik doğası nedeniyle, gıda ve çevresel numunelerdeki organik maddeler, biyofilmler oluşturarak plastiğin yüzeyinde toplanır. Bu nedenle, MP'lerin spektroskopik olarak karakterizasyonlarının başarılı olabilmesi için ayırma yöntemleri ile ilk olarak mikroplastığın çevresini saran organik matrisin etkin bir şekilde

uzaklaştırılması gerekmektedir (Qiu vd., 2016; Enders vd., 2017). Bu açıdan, ayırma yöntemleri temel olarak gıda matrisinden mikroplastığın serbest kalması için uygulanan işlemler olup farklı tekniklerle gerçekleştirilmektedir (Sridhar vd., 2022; Kadac-Czapska vd., 2023). Ayrıca her polimerin farklı bir bileşimi vardır ve analizden önce herhangi bir MP fraksiyonunun yok edilmesini önlemek için bir sindirim yöntemi seçerken bu dikkate alınmalıdır (Debraj ve Lavanya, 2023). Gıdalarda bulunan MP'ler, fiziksel, kimyasal, enzimatik ve ekstraksiyon uygulamaları olmak üzere dört farklı şekilde matristen uzaklaştırılmaktadır. İşlemler tek başına kullanılabildiği gibi birkaç tanesi birlikte de kullanılabilmektedir. Şekil 1'de MP'in ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılan ayırma teknikleri verilmiştir.



Şekil 1. Mikroplastik ayırma teknikleri (Prata vd., 2021; Sridhar vd., 2022)

MP'lerin gıda matrisinden ayrılması için kullanılan fiziksel uygulamalarda yüzdürme ve membran filtrasyon yöntemleri yer almaktadır. Yüzdürme yönteminde ayırma etkisi; parçacıkların yalnızca yoğunluk farklılıklarıyla ayrıldığı durgun bir sıvıyla, parçacıkların yoğunluk ve hava kabarcıklarıyla ayrıldığı köpüklü yüzdürmeyle ve parçacık ayırımının hidrodinamik bir akış tarafından desteklendiği hidrodinamik yüzdürme yoluyla yapılmaktadır (Wang vd., 2018). Yüzdürme yönteminde ayırmayı kolaylaştırmak

için damıtılmış su, doymuş NaCl, konsantre ZnCl₂ ve konsantre NaI gibi farklı çözelti türleri kullanılmaktadır. ZnCl₂ ve NaI gibi kimyasalların etkili yüzdürmeyi sağlayacak miktardaki büyük hacimleri pahalı olduğundan ve çevre açısından güvenli olmamaları nedeniyle kullanımları sınırlıdır. NaCl, ucuz olması, toksik olmaması, kolay bulunması ve çevre dostu olması gibi avantajları nedeniyle daha yaygın olarak tercih edilmektedir (Duong vd., 2022).

Membran filtrasyonda basınç farkı itici gücüyle içecekler gibi düşük gıda matrisi içeriğine sahip numuneler, diğer analitik prosedürler kullanılmadan filtrelemeye tabi tutulabilir. Fiberglas, selüloz nitrat, selüloz asetat (CA) ve alüminyum oksitten yapılmış membran filtreler kullanılarak gerçekleştirilir. Fiberglas membranlar, filtreleme sırasında kolay parçalandıkları için kontaminasyona neden olabilir. Bu nedenle, selüloz nitrat, CA ve alüminyum oksit membranlar parçalanma eğilimleri daha az olduğu için MP'lerin ayırımında daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu membranların gözenek çapları farklı boyutlarda seçilerek, MP'lerin farklı boyut aralıklarında sınıflandırılması sağlanmaktadır (Kadac-Czapska vd., 2023). Son yıllarda vakum pompası ve farklı gözenek çapına sahip çeşitli membranlar kullanılarak soğuk çay, bira ve enerji içeceği (Shruti vd., 2020), alkollü (Prata vd., 2020) ve alkolsüz (Diaz-Basantes vd., 2020) içecekler gibi gıdalarda bulunan MP'ler, başarılı bir şekilde örnekten ayrılmıştır. Fiziksel ayırma uygulamalarının avantajları olmasına rağmen, MP'lerin numunenin biyolojik dokularına gömüldüğü durumlarda fiziksel yöntemlerle ayırlamaması ihtimali vardır. Bu nedenle plastik partikülün kimyasal veya yapısal bütünlüğünü değiştirmeden organik maddeyi parçalama yeteneğine sahip basit ve hızlı sindirim yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (Tirkey ve Upadhyaya, 2021).

MP'lerin tespitinde kullanılan sindirim yöntemleri, asit, alkali, oksidasyon ve enzimatik yöntemler olarak sınıflandırılmaktadır. Asit sindiriminde organik maddeyi parçalamak için yaygın olarak HCl ve HNO₃ gibi kimyasallar kullanılmaktadır. Asit sindiriminde gıda matrisinin etkili bir şekilde parçalanması için genellikle yüksek sıcaklık ve yüksek konsantrasyonlarda kimyasal uygulaması gerekir. Bu durum gıdalarda bulunan bazı polimerlerin (örneğin naylon ve PET) yapısının bozulmasına ve örneklerde MP'lerin olduğundan daha az tahmin edilmesine yol açabilir. Yapılan çalışmalar sonucunda nitrik asitin balık numunelerinde hızlı ve etkili bir sindirim aracı olduğu (Naidoo vd., 2017) fakat yüksek sıcaklıklarda uygulandığında MP partiküllerinin fiziksel özelliklerinde (sararma ve çatlama)

değişikliğe neden olduğu bildirilmiştir (Gulizia vd., 2022). Benzer olarak Karami vd., (2017) balıklarda %37'lik HCl ile 25 °C'de uygulanan sindirim sonucunda %95'den daha fazla sindirim verimliliği elde etmelerine rağmen, kimyasalın PET parçalarını erittiğini ve bazı parçacıkların bir araya toplandığını raporlamışlardır. Bu nedenle, biyolojik materyalin makul bir süre içinde etkili bir şekilde uzaklaştırılması ve tespit edilecek MP'lerin zarar görmesinin engellenmesi için örneğe özgü kimyasal, optimum konsantrasyon ve sıcaklık kullanılarak maksimum sindirim verimliliğinin sağlanacağı asit sindirim yönteminin geliştirilmesi gereklidir.

Alkali sindiriminde genel olarak NaOH ve KOH gibi kimyasallar kullanılır. Balıklarda MP ayırımı için farklı kimyasalların karşılaştırıldığı bir çalışmada, plastik polimerlerin sindirimi için 40 °C'de 48 saat %10 KOH uygulamasının en yüksek performans gösterdiği ve KOH ile geliştirilen yöntemin plastik varlığı üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olmadığı gözlemlenmiş hem maliyet hem de zaman açısından verimli olduğu ortaya konulmuştur (Karami vd., 2017). Deniz ürünleri için yapılan benzer bir çalışmada, %10 KOH ile 60 °C'de 24 saat yapılan alkali sindiriminin diğer uygulamalara göre daha etkili olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada 10 M NaOH ile yapılan sindirimde ise CA, PC ve PET üzerindeki olumsuz etkisi nedeniyle uygulamanın kullanımının sınırlandırıldığı belirtilmektedir (Dehaut vd., 2016).

Kimyasal sindirim ile ilgili yapılan çalışmalarda asit ve alkali kimyasalların yanında hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi reaktiflerin etkisi de test edilmiştir. H₂O₂ organik maddelerin uzaklaştırılmasında kullanılan iyi bilinen ve etkili bir oksitleyicidir. Oksitleme yeteneği yöntemde kullanılan sıcaklık, süre ve konsantrasyondan etkilenmektedir. H₂O₂'nin (9.8 M) PS üzerindeki etkileri 30, 60, 90 °C'de 12, 24 ve 48 saat süre ile denenmiştir. Sonuç olarak polimer maddenin ¹H-NMR spektrumlarında ve fotolüminesans spektroskopisi (PL) yoğunluklarında fark gözlemlenmediği ve 60 °C ve daha düşük sıcaklıklar kullanıldığında H₂O₂'nin MP'ler üzerinde fiziksel ve kimyasal tahribata neden

olmadığı raporlanmıştır (Gulizia vd., 2022). Deniz çöktürlerindeki MP'lerin ayırımında %35 H₂O₂ kullanımında 7 gün sonunda biyolojik materyalin %92 oranında parçalandığı ve PE, PP, PVC, PET, PS ve PU polimerlerinin %91-99 oranında geri kazanıldığı bildirilmiştir (Nuelle vd., 2014). Liebezeit ve Liebezeit (2013), bal ve şeker numunelerinde %30 H₂O₂'lik çözeltiyi sırasıyla 72 ve 24 saat uygulayarak mikro partikülleri başarılı bir şekilde tespit etmişlerdir.

Literatürde incelenen çalışmalarda ön işlem olarak asit, alkali ve H₂O₂ kullanımlarının karşılaştırıldığı birçok çalışmaya rastlanmıştır. Örneğin, Nuelle vd., (2014) hayvan veya bitki materyallerinden biyogenik maddenin parçalanması için H₂O₂ (%30 ve %35), NaOH (%10, %20, %30, %40 ve %50) ve HCl (%20) kullanmış ve en verimli parçalanmanın H₂O₂'nin kullanıldığı durumda gerçekleştiğini bildirmiştir. Claessens vd., (2013) midyelerde MP tespiti için HNO₃ (22.5 M), NaOH (52.5 M) ve H₂O₂ (%30) kullanıldığında, HNO₃'nin kullanımının diğer iki kimyasalın kullanılmasından daha iyi sonuç verdiğini raporlamışlardır.

Enzimatik sindirim, selüloz, lipaz, proteaz, kitinaz ve proteinaz-K gibi spesifik enzimlerin kullanıldığı, çevre dostu bir uygulama olup gıda matrisindeki organik maddeyi parçalamak için kimyasal uygulamalara alternatif bir yöntemdir. MP'lere zarar verme oranı düşük olduğu için kullanımı yaygındır. Enzimin etkinliğinin numunedeki organik maddenin türüne göre değişmesi, yöntemin zaman alıcı olması ve enzimin optimum pH ve sıcaklık koşulunda çalışması yöntemde enzim ile birlikte farklı kimyasal ya da ajanların kullanılmasını gerektirmektedir (Tirkey ve Upadhya, 2021). Plankton örnekleri ve proteinaz K enzimi ile 50 °C'de 2 saat boyunca sodyum perklorat (NaClO₄) varlığında MP'lerin izolasyonu için yapılan sindirim ile %97'den daha fazla sindirim verimliliği elde edildiği raporlanmıştır (Cole vd., 2014). Balık dokularının sindirilmesi için proteinaz K (500 mg/mL) enziminin kullanıldığı bir yöntemde sırasıyla CaCl₂ ekleme, 50 °C'de 2 saat inkübasyon, 20 dakika oda sıcaklığında çalkalama, 60 °C'de 20 dakika inkübasyon, kalan

kitinin parçalanması için oda sıcaklığında 24 saat H₂O₂ (%30) ile muamele basamakları uygulanmıştır. Sonuç olarak, numunelerde 7 adet PE, 4 adet alkid reçinesi, 1 adet PS ve 1 adet PMMA içeren 13 adet MP tanımlanmıştır (Karlsson vd., 2017).

Süt ve süt ürünlerinde yapılan çalışmalarda örneklerin yapısal farklılıklarına bağlı olarak çeşitli ayırma yöntemlerinin kullanıldığı görülmektedir. Basaran vd., (2023) süt örneklerinde MP'lerin ayırımında filtreleme yönteminin tek başına kullanılabileceğini göstermiştir. Diğer araştırmacılar ise filtreleme aşamasından önce alkali (Ragusa vd., 2020), enzimatik (Buyukunal vd., 2023; Zhang vd., 2023; Rbaibi Zıpak vd. 2024), kimyasal ve enzimatik (Da Costa Filho vd., 2021; Zıpak vd., 2022) ve hidrojen peroksit (Diaz-Basantes vd., 2020) içeren sindirim yöntemlerini kullanmışlardır.

MP'lerin gıda matrisinden ayrılması için ultrason, manyetik ve katı faz mikro ekstraksiyon teknikleri de uygulanmaktadır (Sridhar vd., 2022). Diaz-Basantes vd., (2020) bal, bira, süt ve alkolsüz içecek örneklerinde, örnekleri parçalamak amacıyla %30'luk H₂O₂ uygulaması ile birlikte 1 saat ultrason uygulaması yapmışlardır. Grbic vd., (2019) çevre ve içme suyu örneklerinde MP'lerin tespiti için heksadesiltrimetoksilan ile modifiye edilmiş hidrofobik demir nanopartikülleri ile yaratılan manyetik ayırımının kullanımını araştırmışlardır. Çalışmada, hidrofobik etkileşim nedeni ile MP'lerin yüzeylerine hidrofobik demir nanopartikülleri bağlanarak MP'lerin numuneden manyetik olarak ayrılması sağlanmıştır. PE ve PS polimerleri için bağlı demir partiküllerinin, 10-20 µm partikül boyutlarındaki MP'leri çeken plastikleri manyetize ederek %92'lik bir geri kazanım sağladığı bildirilmiştir. Ekstraksiyon yöntemleri ayrı ayrı incelendiğinde farklı avantaj ve dezavantajlara sahip oldukları görülmektedir. Özellikle bu yöntemlerin gıda matrisinde organik maddelerin parçalanması açısından değerlendirilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

SONUÇ

Yapılan çalışmalar MP'lerin insanların endokrin sisteminde, dolaşım sisteminde ve farklı organlarında bulunduğunu göstermiştir. İnsanların mikroplastik parçacıklara maruz kalması insan sağlığı için bir risk faktörü oluşturmaktadır ve bu konudaki endişeler günden güne artmaktadır. İnsanlara MP'lerin en önemli kontaminasyon yolu kontamine gıdaların tüketilmesidir. Kontamine su, toprak ve hava gibi faktörler ve gıda işleme sırasında kullanılan ekipman, malzeme, gıda bileşenleri ve katkı maddeleri gıdalara MP'lerin taşınmasında rol oynamaktadır. Plastik ambalaj malzemeleri ve tek kullanımlık plastik kapların kullanımının artması MP'lerin gıdalarda bulunma olasılığını ve miktarını arttırmaktadır. Süt ve süt ürünlerinde de temel olarak ambalaj ve üretim süresince kullanılan malzemelerden MP geçişi kanıtlanmıştır. Ürüne ve analiz yöntemine özgü olarak tespit edilen MP'lerin türü, boyutu ve miktarı değişkenlik göstermektedir. Gıdalarda MP'lerin saptanmasında ayırma, kalitatif ve kantitatif analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Organik madde içeriği fazla olan örneklerde organik materyalin MP yüzeyinden etkili bir şekilde ayrılması için kullanılan sindirim aşaması kalitatif ve kantitatif tanımlama analizlerinin başarısını etkilediği için çok önemli bir basamaktır. Kimyasal sindirimde kullanılan asit, alkali ve oksidatif maddeler tespit edilecek MP türüne ve gıda örneğine göre değişkenlik göstermektedir. Analiz yönteminin uygulanmasında süre, kimyasal konsantrasyonu ve kimyasalların birlikte kullanılması MP'ler üzerinde farklı etkilere neden olmaktadır. Bu nedenle MP'lerin zarar görmeden ve miktarlarında azalma olmadan tespitine yönelik ürüne özgü spesifik sindirim yöntemlerinin geliştirilmesi, gıdalarda MP'lerin etkin bir şekilde belirlenmesinde elzem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmaların artırılması endüstrideki kontaminasyon kaynaklarının daha iyi tespit edilerek giderilmesi için önlemlerin alınması konusunda önemlidir. Ek olarak, geliştirilen bu yöntemler ile süt ve süt ürünlerinin MP'ler açısından güvenliğinin sağlanması için yasal olarak limitlerin belirlenmesi ve izleme yöntemlerinin geliştirilmesi konularında gerekli düzenlemelerin

kamu otoritesi tarafından yapılması insan sağlığının korunması açısından fayda sağlayacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

YAZARLARIN KATKISI

Makalenin derlenmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında tüm yazarlar katkı sağlamışlardır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKLAR

- Afrin, S., Rahman, M. M., Hossain, M. N., Uddin, M. K., Malafaia, G. (2022). Are there plastic particles in my sugar? A pioneering study on the characterization of microplastics in commercial sugars and risk assessment. *Science of The Total Environment*, 837, 155849.
- Al Mamun, A., Prasetya, T. A. E., Dewi, I. R., Ahmad, M. (2023). Microplastics in human food chains: Food becoming a threat to health safety. *Science of The Total Environment*, 858, 159834.
- Alimba, C. G., Faggio, C. (2019). Microplastics in the marine environment: Current trends in environmental pollution and mechanisms of toxicological profile. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 68, 61-74.
- Altunışık, A. (2023). Prevalence of microplastics in commercially sold soft drinks and human risk assessment. *Journal of Environmental Management*, 336, 117720.
- Ashrafy, A., Liza, A. A., Islam, M. N., Billah, M. M., Arafat, S. T., Rahman, M. M., Rahman, S. M. (2022). Microplastics Pollution: A Brief Review of Its Source and Abundance in Different Aquatic Ecosystems. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 100215.
- Barboza, L. G. A., Vethaak, A. D., Lavorante, B. R., Lundebye, A. K., Guilhermino, L. (2018). Marine microplastic debris: An emerging issue for food security, food safety and human health. *Marine Pollution Bulletin*, 133, 336-348.

- Basaran, B., Özçifçi, Z., Akçay, H. T., Aytan, Ü. (2023). Microplastics in branded milk: Dietary exposure and risk assessment. *Journal of Food Composition and Analysis*, 123, 105611.
- Bouwmeester, H., Hollman, P. C., Peters, R. J. (2015). Potential health impact of environmentally released micro-and nanoplastics in the human food production chain: experiences from nanotoxicology. *Environmental Science & Technology*, 49(15), 8932-8947.
- Brachner, A., Fragouli, D., Duarte, I. F., Farias, P. M., Dembski, S., Ghosh, M., ... Neuhaus, W. (2020). Assessment of human health risks posed by nano-and microplastics is currently not feasible. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(23), 8832.
- Buyukunal, S. K., Rbaibi Zipak, S., Muratoglu, K. (2023). Microplastics in a Traditional Turkish Dairy Product: Ayrân. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 73(2), 139-150.
- Cáceres-Farias, L., Espinoza-Vera, M. M., Orós, J., García-Bereguain, M. A., Alfaro-Núñez, A. (2023). Macro and microplastic intake in seafood varies by the marine organism's feeding behaviour: Is it a concern to human health?. *Heliyon*, 9(5).
- Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., Jang, J. H., ... Suh, S. (2020). Degradation rates of plastics in the environment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(9), 3494-3511.
- Claessens, M., Van Cauwenberghe, L., Vandegehuchte, M. B., Janssen, C. R. (2013). New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 70(1-2), 227-233.
- Cole, M., Webb, H., Lindeque, P. K., Fileman, E. S., Halsband, C., Galloway, T. S. (2014). Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Scientific Reports*, 4(1), 4528.
- Colombo, C. V., Fernández-Severini, M. D., Forero-López, A. D., Arduoso, M. G., Rimondino, G. N., Malanca, F. E., Buzzi, N. S. (2023). Microplastics in commercial seafood: *Pleoticus muelleri* as a case study in an estuarine environment highly affected by human pressure (Southwestern Atlantic). *Environmental Research*, 216, 114738.
- Cox, K. D., Covernton, G. A., Davies, H. L., Dower, J. F., Juanes, F., Dudas, S. E. (2019). Human consumption of microplastics. *Environmental Science & Technology*, 53(12), 7068-7074.
- Da Costa Filho, P. A., Andrey, D., Eriksen, B., Peixoto, R. P., Carreres, B. M., Ambühl, M. E., ... Poitevin, E. (2021). Detection and characterization of small-sized microplastics ($\geq 5 \mu\text{m}$) in milk products. *Scientific Reports*, 11(1), 1-13.
- Debraj, D., Lavanya, M. (2023). Microplastics everywhere: A review on existing methods of extraction. *Science of the Total Environment*, 164878.
- Dehaut, A., Cassone, A. L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., ... Paul-Pont, I. (2016). Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environmental Pollution*, 215, 223-233.
- Di Fiore, C., Sammartino, M. P., Giannattasio, C., Avino, P., Visco, G. (2023). Microplastic contamination in commercial salt: An issue for their sampling and quantification. *Food Chemistry*, 404, 134682.
- Diaz-Basantes, M. F., Conesa, J. A., Fullana, A. (2020). Microplastics in honey, beer, milk and refreshments in Ecuador as emerging contaminants. *Sustainability*, 12(14), 5514.
- Du, F., Cai, H., Zhang, Q., Chen, Q., Shi, H. (2020). Microplastics in take-out food containers. *Journal of Hazardous Materials*, 399, 122969.
- Duong, T. T., Le, P. T., Nguyen, T. N. H., Hoang, T. Q., Ngo, H. M., Doan, T. O., ... Strady, E. (2022). Selection of a density separation solution to study microplastics in tropical riverine sediment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194, 1-17.
- Ebere, E. C., Wirnkor, V. A., Ngozi, V. E. (2019). Uptake of microplastics by plant: a reason to worry or to be happy?. *World Scientific News*, (131), 256-267.

- Edo, C., Fernández-Alba, A. R., Vejsnæs, F., van der Steen, J. J., Fernández-Piñas, F., Rosal, R. (2021). Honeybees as active samplers for microplastics. *Science of the Total Environment*, 767, 144481.
- Emenike, E. C., Okorie, C. J., Ojeyemi, T., Egbemhenghe, A., Iwuozor, K. O., Saliu, O. D., ... Adeniyi, A. G. (2023). From oceans to dinner plates: The impact of microplastics on human health. *Helijon*, 9(10).
- Enders, K., Lenz, R., Beer, S., Stedmon, C. A. (2017). Extraction of microplastic from biota: recommended acidic digestion destroys common plastic polymers. *ICES Journal of Marine Science*, 74(1), 326-331.
- Filgueiras, A. V., Preciado, I., Cartón, A., Gago, J. (2020). Microplastic ingestion by pelagic and benthic fish and diet composition: A case study in the NW Iberian shelf. *Marine Pollution Bulletin*, 160, 111623.
- Fotopoulou, K. N., Karapanagioti, H. K. (2019). Degradation of various plastics in the environment. *Hazardous Chemicals Associated with Plastics in the Marine Environment*, 71-92.
- Frias, J. P., Nash, R. (2019). Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Marine Pollution Bulletin*, 138, 145-147.
- Grbic, J., Nguyen, B., Guo, E., You, J. B., Sinton, D., Rochman, C. M. (2019). Magnetic extraction of microplastics from environmental samples. *Environmental Science & Technology Letters*, 6(2), 68-72.
- Gulizia, A. M., Brodie, E., Daumuller, R., Bloom, S. B., Corbett, T., Santana, M. M., ... Vamvounis, G. (2022). Evaluating the effect of chemical digestion treatments on polystyrene microplastics: recommended updates to chemical digestion protocols. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 223(13), 2100485.
- Hernandez, L. M., Xu, E. G., Larsson, H. C., Tahara, R., Maisuria, V. B., Tufenkji, N. (2019). Plastic teabags release billions of microparticles and nanoparticles into tea. *Environmental Science & Technology*, 53(21), 12300-12310.
- Huang, Y., Liu, Q., Jia, W., Yan, C., Wang, J. (2020). Agricultural plastic mulching as a source of microplastics in the terrestrial environment. *Environmental Pollution*, 260, 114096.
- Huang, S., Huang, X., Bi, R., Guo, Q., Yu, X., Zeng, Q., ... Guo, P. (2022). Detection and analysis of microplastics in human sputum. *Environmental Science & Technology*, 56(4), 2476-2486.
- Iñiguez, M. E., Conesa, J. A., Fullana, A. (2017). Microplastics in Spanish table salt. *Scientific Reports*, 7(1), 8620.
- Jadhav, E. B., Sankhla, M. S., Bhat, R. A., Bhagat, D. S. (2021). Microplastics from food packaging: An overview of human consumption, health threats, and alternative solutions. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 16, 100608.
- Joseph, A., Parveen, N., Ranjan, V. P., Goel, S. (2023). Drinking hot beverages from paper cups: Lifetime intake of microplastics. *Chemosphere*, 317, 137844.
- Kadac-Czapska, K., Trzebiatowska, P. J., Knez, E., Zaleska-Medynska, A., Grembecka, M. (2023). Microplastics in food—a critical approach to definition, sample preparation, and characterisation. *Food Chemistry*, 135985.
- Kandeyaya, K. B. K. D. K., Ranatunga, S., Ranatunga, R. R. M. K. P. (2023). Occurrence of microplastics in some commercially important seafood varieties from Negombo, Sri Lanka. *Regional Studies in Marine Science*, 62, 102958.
- Kannan, K., Vimalkumar, K. (2021). A review of human exposure to microplastics and insights into microplastics as obesogens. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 724989.
- Karami, A., Golieskardi, A., Choo, C. K., Romano, N., Ho, Y. B., Salamatinia, B. (2017). A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. *Science of the Total Environment*, 578, 485-494.
- Karlsson, T. M., Vethaak, A. D., Almroth, B. C., Ariese, F., van Velzen, M., Hassellöv, M., Leslie, H. A. (2017). Screening for microplastics in

- sediment, water, marine invertebrates and fish: method development and microplastic accumulation. *Marine Pollution Bulletin*, 122(1-2), 403-408.
- Katsara, K., Kenanakis, G., Viskadourakis, Z., Papadakis, V. M. (2021). Polyethylene migration from food packaging on cheese detected by Raman and Infrared (ATR/FT-IR) Spectroscopy. *Materials*, 14(14), 3872.
- Kiruba, R., Preethi, M., Aganasteen, R., Rithick Raj, M., Hannah Thabitha, C., Monica, P., ... Naseera Banu, I. (2022). Identification of Microplastics as Emerging Contaminant in Branded Milk of Tamil Nadu State, India. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*, 11(1), 181.
- Klein, S., Dimzon, I. K., Eubeler, J., Knepper, T. P. (2018). Analysis, occurrence, and degradation of microplastics in the aqueous environment. *Freshwater Microplastics: Emerging Environmental Contaminants?*. 51-67.
- Kosuth, M., Mason, S. A., Wattenberg, E. V. (2018). Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt. *PLoS one*, 13(4), e0194970.
- Kumar, P., Sharma, N., Ranjan, R., Kumar, S., Bhat, Z. F., Jeong, D. K. (2013). Perspective of membrane technology in dairy industry: A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(9), 1347.
- Kutralam-Muniasamy, G., Pérez-Guevara, F., Elizalde-Martínez, I., Shruti, V. C. (2020). Review of current trends, advances and analytical challenges for microplastics contamination in Latin America. *Environmental Pollution*, 267, 115463.
- Kwon, J. H., Kim, J. W., Pham, T. D., Tarafdar, A., Hong, S., Chun, S. H., ... Jung, J. (2020). Microplastics in food: a review on analytical methods and challenges. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(18), 6710.
- Lebreton, L., Andrady, A. (2019). Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Communications*, 5(1), 1-11.
- Leslie, H. A., Van Velzen, M. J., Brandsma, S. H., Vethaak, A. D., Garcia-Vallejo, J. J., Lamoree, M. H. (2022). Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environment International*, 163, 107199.
- Li, T., Shi, J., Liu, X., He, M., Wang, J., Yan, X., Fan, Y. (2023). Analysis of the effect of salt processing on microplastic residues in crushed and washed sea salt. *Journal of Sea Research*, 102405.
- Liebezeit, G., Liebezeit, E. (2013). Non-pollen particulates in honey and sugar. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30(12), 2136-2140.
- Liu, Q., Chen, Z., Chen, Y., Yang, F., Yao, W., Xie, Y. (2021). Microplastics and nanoplastics: emerging contaminants in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(36), 10450-10468.
- Liu, Q., Chen, Z., Chen, Y., Yang, F., Yao, W., Xie, Y. (2022). Microplastics contamination in eggs: Detection, occurrence and status. *Food Chemistry*, 397, 133771.
- Makhdoumi, P., Pirsahab, M., Amin, A. A., Kianpour, S., Hossini, H. (2023). Microplastic pollution in table salt and sugar: Occurrence, qualification and quantification and risk assessment. *Journal of Food Composition and Analysis*, 119, 105261.
- Makhdoumi, P., Amin, A. A., Karimi, H., Pirsahab, M., Kim, H., Hossini, H. (2021). Occurrence of microplastic particles in the most popular Iranian bottled mineral water brands and an assessment of human exposure. *Journal of Water Process Engineering*, 39, 101708.
- Naidoo, T., Goordiyal, K., Glassom, D. (2017). Are nitric acid (HNO₃) digestions efficient in isolating microplastics from juvenile fish?. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228, 1-11.
- Nakat, Z., Dgheim, N., Ballout, J., Bou-Mitri, C. (2023). Occurrence and exposure to microplastics in salt for human consumption, present on the Lebanese market. *Food Control*, 145, 109414.
- Nuelle, M. T., Dekiff, J. H., Remy, D., Fries, E. (2014). A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environmental Pollution*, 184, 161-169.

- Ogunola, S. O., Reis-Santos, P., Wootton, N., Gillanders, B. M. (2022). Microplastics in decapod crustaceans sourced from Australian seafood markets. *Marine Pollution Bulletin*, 179, 113706.
- Özçifçi, Z., Basaran, B., Akçay, H. T. (2023). Microplastic contamination and risk assessment in table salts: Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 175, 113698.
- Pan, Z., Liu, Q., Xu, J., Li, W., Lin, H. (2022). Microplastic contamination in seafood from Dongshan Bay in southeastern China and its health risk implication for human consumption. *Environmental Pollution*, 303, 119163.
- Pironti, C., Ricciardi, M., Motta, O., Miele, Y., Proto, A., Montano, L. (2021). Microplastics in the environment: intake through the food web, human exposure and toxicological effects. *Toxics*, 9(9), 224.
- Pivokonsky, M., Cermakova, L., Novotna, K., Peer, P., Cajthaml, T., Janda, V. (2018). Occurrence of microplastics in raw and treated drinking water. *Science of the Total Environment*, 643, 1644-1651.
- Plastics Europe, EPRO, Plastics - the Facts, (2022). An analysis of European plastics production, demand and waste data 34. <<https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2022/>>.
- Prata, Joana C., Paço, A., Reis, V., da Costa, J.P., Fernandes, A.J.S., da Costa, F.M., Duarte, A.C., Rocha-Santos, T., (2020). Identification of microplastics in white wines capped with polyethylene stoppers using micro-Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 331, 127–323.
- Prata, J. C., da Costa, J. P., Lopes, I., Andrady, A. L., Duarte, A. C., Rocha-Santos, T. (2021). A One Health perspective of the impacts of microplastics on animal, human and environmental health. *Science of the Total Environment*, 777, 146094.
- Qiu, Q., Tan, Z., Wang, J., Peng, J., Li, M., Zhan, Z. (2016). Extraction, enumeration and identification methods for monitoring microplastics in the environment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 176, 102-109.
- Ragusa, A., Svelato, A., Santacroce, C., Catalano, P., Notarstefano, V., Carnevali, O., ... Giorgini, E. (2021). Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. *Environment International*, 146, 106274.
- Ragusa, A., Notarstefano, V., Svelato, A., Belloni, A., Gioacchini, G., Blondeel, C., ... Giorgini, E. (2022). Raman microspectroscopy detection and characterisation of microplastics in human breastmilk. *Polymers*, 14(13), 2700.
- Rbaibi Zipak, S., Muratoglu, K., Buyukunal, S. K. (2024). Microplastics in raw milk samples from the Marmara region in Turkey. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 1-12.
- Sangkham, S., Faikhaw, O., Munkong, N., Sakunkoo, P., Arunlertaree, C., Chavali, M., ... Tiwari, A. (2022). A review on microplastics and nanoplastics in the environment: Their occurrence, exposure routes, toxic studies, and potential effects on human health. *Marine Pollution Bulletin*, 181, 113832.
- Schwabl, P., Köppel, S., Königshofer, P., Bucsics, T., Trauner, M., Reiberger, T., Liebmann, B. (2019). Detection of various microplastics in human stool: a prospective case series. *Annals of Internal Medicine*, 171(7), 453-457.
- Sewwandi, M., Wijsekara, H., Rajapaksha, A. U., Soysa, S., Vithanage, M. (2023). Microplastics and plastics-associated contaminants in food and beverages; Global trends, concentrations, and human exposure. *Environmental Pollution*, 317, 120747.
- Sharifi, H., Movahedian Attar, H. (2021). Quantitative and qualitative evaluation of microplastics in different salts from Iran. *International Journal of Environmental Health Engineering*, 2021(September), 1-6.
- Sharma, S., Chatterjee, S. (2017). Microplastic pollution, a threat to marine ecosystem and human health: a short review. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 21530-21547.
- Shruti, V. C., Pérez-Guevara, F., Elizalde-Martínez, I., Kutralam-Muniasamy, G. (2020). First study of its kind on the microplastic contamination of soft drinks, cold tea and energy

- drinks-Future research and environmental considerations. *Science of the Total Environment*, 726, 138580.
- Silva, A. L. P., Prata, J. C., Walker, T. R., Campos, D., Duarte, A. C., Soares, A. M., ... Rocha-Santos, T. (2020). Rethinking and optimising plastic waste management under COVID-19 pandemic: policy solutions based on redesign and reduction of single-use plastics and personal protective equipment. *Science of the Total Environment*, 742, 140565.
- Sivagami, M., Selvambigai, M., Devan, U., Velangani, A. A. J., Karmegam, N., Biruntha, M., ... Kumar, P. (2021). Extraction of microplastics from commonly used sea salts in India and their toxicological evaluation. *Chemosphere*, 263, 128181.
- Sridhar, A., Kannan, D., Kapoor, A., Prabhakar, S. (2022). Extraction and detection methods of microplastics in food and marine systems: a critical review. *Chemosphere*, 286, 131653.
- Sridharan, S., Kumar, M., Singh, L., Bolan, N. S., Saha, M. (2021). Microplastics as an emerging source of particulate air pollution: A critical review. *Journal of Hazardous Materials*, 418, 126245.
- Sturm, M. T., Horn, H., Schuhen, K. (2021). The potential of fluorescent dyes—comparative study of Nile red and three derivatives for the detection of microplastics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 413, 1059-1071.
- Taghipour, H., Ghayebzadeh, M., Mousavi, S. M. S., Sharifi, H., Payandeh, A. (2023). Incidence and exposure to microplastics in table salt present in the Iran market. *Toxicology Reports*, 11, 129-140.
- Tirkey, A., Upadhyay, L. S. B. (2021). Microplastics: An overview on separation, identification and characterization of microplastics. *Marine Pollution Bulletin*, 170, 112604.
- Unuofin, J. O., Igwaran, A. (2023). Microplastics in seafood: Implications for food security, safety, and human health. *Journal of Sea Research*, 194, 102410
- Vithanage, M., Ramanayaka, S., Hasinthara, S., Navaratne, A. (2021). Compost as a carrier for microplastics and plastic-bound toxic metals into agroecosystems. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 24, 100297.
- Wang, Z., Taylor, S. E., Sharma, P., Flury, M. (2018). Poor extraction efficiencies of polystyrene nano-and microplastics from biosolids and soil. *PLoS One*, 13(11), e0208009.
- Winkler, A., Santo, N., Ortenzi, M. A., Bolzoni, E., Bacchetta, R., Tremolada, P. (2019). Does mechanical stress cause microplastic release from plastic water bottles?. *Water Research*, 166, 115082.
- Wurm, F. R., Spierling, S., Endres, H. J., Barner, L. (2020). Plastics and the environment—current status and challenges in Germany and Australia. *Macromolecular Rapid Communications*, 41(18), 2000351.
- Xu, M., Halimu, G., Zhang, Q., Song, Y., Fu, X., Li, Y., ... Zhang, H. (2019). Internalization and toxicity: A preliminary study of effects of nanoplastic particles on human lung epithelial cell. *Science of the Total Environment*, 694, 133794.
- Yang, Y., Xie, E., Du, Z., Peng, Z., Han, Z., Li, L., ... Yang, X. (2023). Detection of Various Microplastics in Patients Undergoing Cardiac Surgery. *Environmental Science & Technology*, 57(30), 10911-10918.
- Yaranal, N. A., Subbiah, S., Mohanty, K. (2021). Identification, extraction of microplastics from edible salts and its removal from contaminated seawater. *Environmental Technology & Innovation*, 21, 101253.
- Yong, C. Q. Y., Valiyaveetil, S., Tang, B. L. (2020). Toxicity of microplastics and nanoplastics in mammalian systems. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(05), 1509.
- Yücel, N., & Kılıç, E. (2023). Presence of microplastic in the Patella caerulea from the northeastern Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 188, 114684.
- Zhang, Y., Lu, J., Wu, J., Wang, J., Luo, Y. (2020). Potential risks of microplastics combined with superbugs: Enrichment of antibiotic resistant bacteria on the surface of microplastics in mariculture system. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 187, 109852.

Zhang, Q., Liu, L., Jiang, Y., Zhang, Y., Fan, Y., Rao, W., Qian, X. (2023). Microplastics in infant milk powder. *Environmental Pollution*, 323, 121225.

Zipak, S. R., Muratoglu, K., Buyukunal, S. K. (2022). Evaluation of Microplastic Presence in

Yogurt Production Process. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 28(5), 633-641.

EFFECT OF PARTIAL REPLACEMENT OF SUCROSE WITH STEVIA AND SUCRALOSE ON THE PHYSICOCHEMICAL AND STRUCTURAL-MECHANICAL PROPERTIES OF APPLE MARMALADE

Berkay Berk, Pınar Şirin, Sevcan Ünlütürk*

Department of Food Engineering, İzmir Institute of Technology, İzmir/Türkiye

Received /Geliş: 06.12.2023; Accepted /Kabul: 19.02.2024; Published online /Online baskı: 27.02.2024

Berk, B., Şirin, P., Ünlütürk, S. (2024). Effect of partial replacement of sucrose with stevia and sucralose on the physicochemical and structural-mechanical properties of apple marmalade. GIDA (2024) 49 (2) 223-237 doi: 10.15237/gida.GD23136

Berk, B., Şirin, P., Ünlütürk, S. (2024). Sükrozun stevia ve sükraloz ile kısmen değiştirilmesinin elma marmelatının fizikokimyasal ve yapısal-mekanik özellikleri üzerindeki etkisi. GIDA (2024) 49 (2) 223-237 doi: 10.15237/gida.GD23136

ABSTRACT

In this study, low-sugar apple marmalade formulations were developed by partial replacement of sucrose with stevia and sucralose. Their rheological, textural, physicochemical properties and microstructures were evaluated. The concentration of sweeteners was found to have a significant effect on the physicochemical and rheological properties of the formulations. The hardness of marmalades decreased with addition of sweeteners. Herschel-Bulkley model was found to be the best model describing rheological behavior. The consistency index decreased with increasing sweeteners substitution, whereas the flow behavior index showed an increasing trend with the increase of the sweeteners content. Additionally, the microstructure of marmalades with sweetener substitution exhibited a porous structure in the gel network. The increase in sucralose concentration resulted in more surface deformation resulting in weaker gel formation than stevia. Marmalade prepared with 50% stevia substitution was found the best combination and resulted in good sensory properties like marmalade samples containing 500 g sugar.

Keywords: Marmalade, texture, rheology, sweetener, microstructure

SÜKROZUN STEVIA VE SÜKRALOZ İLE KISMEN DEĞİŞTİRİLMESİNİN ELMA MARMELATININ FİZİKOKİMYASAL VE YAPISAL-MEKANİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

ÖZ

Bu çalışmada, sükrozun kısmen stevia ve sükraloz ile değiştirilmesiyle düşük şekerli elma marmelatı formülasyonları geliştirilmiştir. Formülasyonların reolojik, dokusal, fizikokimyasal özellikleri ve mikro yapıları değerlendirilmiştir. Tatlandırıcıların konsantrasyonunun formülasyonların fizikokimyasal ve reolojik özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Tatlandırıcı ilavesiyle marmelatların sertliği azalmıştır. Herschel-Bulkley modelinin reolojik davranışı açıklayan en iyi model olduğu bulunmuştur. Tatlandırıcı ikamesinin artmasıyla kıvam indisi azalırken,

* Corresponding author / Sorumlu Yazar

✉: sevcanunluturk@iyte.edu.tr

☎: (+90) 232 750 6906

☎: (+90) 232 750 6196

Berkay Berk; ORCID no: 0000-0001-6479-8400

Pınar Şirin; ORCID no: 0009-0004-1364-0098

Sevcan Ünlütürk; ORCID no: 0000-0002-0501-4714

tatlandırıcı içeriğinin artmasıyla akış davranış indisi artan bir eğilim göstermiştir. Ayrıca tatlandırıcı ilaveli marmelatların mikro yapısı, jel ağında gözenekli bir yapı sergilemiştir. Sükraloz konsantrasyonundaki artış, steviadan daha zayıf jel oluşumuyla sonuçlanan daha fazla yüzey deformasyonuna neden olmuştur. %50 stevia ikamesi ile hazırlanan marmelat en iyi kombinasyon olarak bulunmuş ve 500 g şeker içeren marmelat örnekleri gibi iyi duyuşsal özellikler sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Marmelat, tekstür, reoloji, tatlandırıcı, mikro yapı

INTRODUCTION

Marmalade is a mixture brought to a suitable gelled consistency by adding sugar and water to the pulp, purée, juice, and juicy extracts and/or edible parts of one or more fruits by CXS 296-2009, adopted in 2009, amended in 2017 food standard (International Food Standard - Codex Alimentarius, 2020). For hundreds of years, food preservation techniques have been applied to fresh and perishable fruits to extend their shelf life and increase their availability out of season. Production of jams, jellies, marmalades, and fruit preserves is among those techniques. Marmalade, a common type of fruit-derived product, is known as a traditional delicacy. It is a semisolid food obtained by boiling fruit pulp with sugar, acid, pectin, and other ingredients like preservatives, coloring, and flavoring items until reaching the suitable consistency (Lal et al., 1960). Due to high sucrose content with its sweetening effect and caloric value, marmalade is also a great source of energy and carbohydrate. However, a high sucrose diet has been associated with some health problems including diabetes, cancer, metabolic and cardiovascular diseases (Rippe and Angelopoulos, 2016). Because of the negative connotations related to sugar consumption, low-calorie products are made by fully or partially replacing sugar with sweeteners depending on the properties required in the product.

It is technologically possible to reformulate marmalades to be a healthy alternative to traditional ones. Carbohydrate or non-carbohydrate artificial sweeteners, especially sorbitol, maltitol, xylitol, acesulfame-K, saccharin, cyclamate, stevia, sucralose, or combinations of these, can be used to maintain or improve the properties of marmalades. However, the consumption of sweeteners is restricted. For example, the daily amounts of stevia and sucralose limited to 4 mg/kg and 5 mg/kg body weight,

respectively (Chattopadhyay et al., 2014; Fry, 2012).

The newly formulated product with sweeteners should meet the consumer's demands in terms of its textural, structural and flavor characteristics when compared with traditional products (Renard et al., 2006). Currently, low-sugar or sugar-free confections are also continuing to gain in immense popularity. Due to a steady increase in interest in a balanced diet and a healthy lifestyle, reduced sugar or sugar-free products have a place in the dietary choices of humans. At the same time, fruits also provide essential nutrients in a healthy diet. They have a vital role for the health and maintenance of the body because of their concentrations of vitamins and minerals, and especially being good sources of dietary fiber and antioxidants. Gorinstein et al. (2001) studied the contents of dietary fiber in the whole apple, along with its pulp and its peel. They found that the peel of the apple is unusually a well-balanced and the richest source (0.91% fresh weight) in terms of total fiber, and insoluble fiber (0.46% fresh weight) and soluble fiber (0.43% fresh weight) proportions. Vetter et al. (2001) also emphasized that the phytochemicals and nutrients of apple pomace as well as having its functional characteristics like water holding, gelling, thickening and stabilizing abilities. It was demonstrated that apple with nutritional properties have a good potential in a variety of food formulations, as well.

This study aims to formulate the best quality reduced sugar apple marmalade (RSAM) by optimizing the composition of ingredients using artificial and natural sweeteners without adding commercial pectin, determining its rheological, textural, and physicochemical properties, and examining its microstructure.

MATERIALS AND METHODS

Raw Materials

Apples (*Malus domestica* 'Gala') were purchased from marketplace in Izmir, Turkey. Stevia (Pure Stevia Extract 95 % Rebaudioside-A) and Sucralose (Vitasweet® Sucralose) were kindly provided by Egepak A.Ş., Izmir, Turkey. Sucrose and lemons were purchased from a market in Izmir, Turkey.

Sample Preparation

Apples were sorted and cleaned. They were washed then stalks and cores were removed. After

peeling, they were put into the boiling water to soften the tissue and they were filtered through a sieve to obtain the pulp. Prior to cooking, sucrose and sweetener were added to the mixture just before the end of cooking, 15 mL of lemon juice was added to the mixture to prevent sugar from crystallization and to regulate acidity. While the marmalade was still hot, it was filled to the sterilized and hot jars and immediately closed. Formulation of the samples was given in Table 1. While determining the amount of sweetener, the equal sweetness was considered.

Table 1. Apple marmalade formulations with sweeteners (basis: 1 kg apple)

Formulation No	Sucrose Basis, g	Sucrose Replaced, %	Sucrose Amount, g	Stevia Amount, mg	Sucralose Amount, mg
1	500	0	500	0	0
2	500	25	375	416.67	0
3	500	50	250	833.33	0
4	500	25	375	0	208
5	500	50	250	0	416
6	600	0	600	0	0
7	600	25	450	500	0
8	600	50	300	1000	0
9	600	25	450	0	250
10	600	50	300	0	500

Physicochemical Properties

The water activity (a_w) of the RSAM samples were measured by a benchtop water activity analyzer (HygroLab 3, Rotronic, Bassersdorf, Switzerland) at room temperature. Total soluble solid (TSS) content was measured with a refractometer (PAL-3, ATAGO Co. LTD., Tokyo, Japan). The ash content of the formulations was measured gravimetrically by burning them in an oven at 550 °C. Moisture content was determined by vacuum oven at 70 °C for 16 hours. pH of the samples was measured by a bench top pH meter (InoLab 7310, WTW, GmbH, Germany). Titratable acidity (TA) was measured against 0.1 N NaOH solution, and it was reported as a percentage of citric acid. TSS, ash content, moisture content and TA analyzes were conducted using methods by Cemeroglu (2013). Color of the formulations was measured by chromometer (CR400, Konica Minolta, Osaka, Japan) using D65 illuminant.

Color values were presented in the form of CIE L^* , a^* and b^* .

Rheological Measurements

Rheological measurements of the formulations were performed at 30 °C by using an AR 2000-ex rheometer (TA Instrument, New Castle, DE) equipped with an Environmental Temperature Controller Unit. The temperature controller unit has no capability of cooling, that is why measurements were conducted at 30 °C. Parallel plate geometry with 25 mm diameter and 1 mm gap height was used. By this configuration, oscillatory time sweep, oscillatory stress sweep, and stepped flow tests were conducted. For oscillatory time sweep test, shear rate was kept at 0.05 s⁻¹ and for 15 min, measurement was carried out. For oscillatory stress sweep, torque scanning range was set to 0.1 – 10000 µN.m. At the frequency of 1 Hz, the test was carried out and storage modulus (G') and loss modulus (G'') were

measured. For the stepped flow test, controlled stress (CS) mode was used with the torque range of 250 – 2500 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$. Rheological models were fitted to Power Law and Herschel-Bulkley (HB) equations (see Eqn. 1 and 2, respectively) by using MATLAB software (MathWorks, 2021b, Natick, Massachusetts).

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \text{ (Eqn. 1) (Sahin and Sumnu, 2006)}$$

$$\tau = \tau_0 + K_{HB}\dot{\gamma}^{n_{HB}} \text{ (Eqn. 2) (Sahin and Sumnu, 2006)}$$

Where; τ is shear stress (Pa), K is consistency index for Power Law ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$), $\dot{\gamma}$ is shear rate (1/s), n is flow behavior index for Power Law, τ_0 is yield stress (Pa), K_{HB} is consistency index for HB model ($\text{Pa}\cdot\text{s}^{n_{HB}}$) and n_{HB} is flow behavior index for HB model.

Texture Profile

The textural properties of marmalade samples were measured using a texture analyzer (TA-XT Plus Texture Analyzer, Stable Micro System, UK) with a load cell of 5 kg at 25 °C. Texture profile analysis (TPA) curve consists of compression cycles. Trigger force, pre-test speed, compression speed and post-test speed were set to 0.05 N, 2 mm/s, 2 mm/s and 5 mm/s, respectively. Sample was put to container of the instrument with the fill height of 3 cm and cylindrical probe (25.4 mm diameter) was compressed the depth of 20 mm. Hardness (N), adhesiveness (J), cohesiveness, springiness (m), gumminess (N) and chewiness (J) were calculated from TPA curves.

Microstructure of Marmalades

Scanning electron microscopy (SEM) was used to provide information about the food microstructure using images at high resolution. It was carried out on freeze-dried samples. Before the analysis, freeze-dried samples were fastened onto conducting sticky carbon tape and then coated with gold to impart electrical conductivity to the sample by Sputter Coater (Emitech K550X). RSAM samples were covered at 15 milliamperes flux and under 6×10^{-2} mbar vacuum for 1.5 min. All samples were assayed and photographed with Philips XL 30S FEG scanning electron microscope operating at an accelerated voltage of 5 kV and magnification in the range of

$\times 250$ -2500. SEM images were collected from different places of the RSAM samples.

Sensory Evaluation

The appearance, taste, color, texture, and overall acceptability of different marmalade formulations were determined by a 9-point hedonic scale (Lawless and Heymann, 2010). Water was used for cleansing palates. The sensory analysis was performed with the panel consisting of 21 semi-trained people familiar with the marmalade taste. Average values were determined for each evaluated attribute. Test was conducted after 3 days of production time. The samples were kept at room temperature for 3 hours prior to test.

Statistical Analysis

Analysis of variance (ANOVA) was used to find out the differences by using MINITAB software (Version 19, Minitab Inc., Coventry, UK). Tukey's comparison test at 95% confidence interval was used for pairwise comparisons. All measurements were conducted at least three replicates.

RESULTS AND DISCUSSION

Physicochemical Properties of Low Sugar Apple Marmalade

The results of physicochemical properties of RSAM samples are given in Table 2.

The water activity of apple marmalades increased with increasing sweetener concentration due to lower interaction of water with the matrix. All samples prepared in this study showed similar a_w values to the lemon marmalades that are prepared by replacing sucrose with tagatose and isomaltulose (Rubio-Arreaz et al., 2017). Abid et al. (2018) reported that bacteria growth in pomegranate jam was observed at the a_w values higher than 0.86. Vilela et al. (2015) pointed out that the a_w value must be at least 0.80 for mold growth in strawberry, raspberry, and cherry jams made by replacing sucrose with sweeteners. In this study, all formulations have relatively high a_w value. The main reason of this could be hot filling consecutively condensate formation in the headspace. The preservative function of these formulations belongs to lowered pH values

instead of a_w . Rubio-Arrea et al. (2017) stated that sweet orange marmalades having sweeteners

(tagatose and oligofructose) showed proper microbiological stability at pH values below 3.8.

Table 2. Physicochemical properties of reduced sugar apple marmalade (RSAM) samples

Formulation No	a_w	TSS, °Brix	Dry Matter, %	pH	TA, %
1	0.80±0.00 ^d	65.78±0.58 ^b	73.55±0.77 ^b	3.62±0.01 ^a	0.24±0.00 ^f
2	0.87±0.01 ^b	61.63±0.29 ^d	64.91±0.69 ^d	3.54±0.00 ^{bc}	0.32±0.00 ^{bc}
3	0.91±0.01 ^a	52.49±0.00 ^h	54.55±0.55 ^f	3.58±0.00 ^{ab}	0.32±0.00 ^{bc}
4	0.87±0.01 ^b	60.16±0.58 ^e	60.00±0.41 ^e	3.51±0.01 ^{cd}	0.33±0.01 ^{abc}
5	0.91±0.01 ^a	50.29±0.58 ⁱ	52.39±0.75 ^g	3.54±0.00 ^{bc}	0.34±0.00 ^{ab}
6	0.77±0.01 ^e	74.79±0.29 ^a	77.36±0.02 ^a	3.63±0.01 ^a	0.23±0.00 ^f
7	0.84±0.01 ^c	62.31±0.29 ^{cd}	69.29±0.17 ^c	3.55±0.00 ^{bc}	0.29±0.01 ^e
8	0.88±0.01 ^b	53.79±0.29 ^g	59.35±0.60 ^e	3.56±0.00 ^{bc}	0.30±0.01 ^{de}
9	0.83±0.01 ^c	63.44±0.50 ^c	69.71±0.17 ^c	3.47±0.04 ^d	0.23±0.00 ^f
10	0.87±0.01 ^b	55.63±0.29 ^f	58.65±0.54 ^e	3.51±0.04 ^{cd}	0.35±0.01 ^a

The total soluble solid content was found to be highest in the formulation having only sucrose. Council Directive 2001/113/EC of 20 December 2001 relating to fruit jams, jellies, marmalades, and sweetened chestnut puree intended for human consumption allows the soluble solids content to be lower than 60 °Brix with the sweetener use in the formulation. The sweetener added formulations met the criterion of the Council Directive. The amount of dry matter is associated with the extended shelf life due to higher interaction of solids with water (Abid et al., 2018).

The pH values of the marmalade products ranged between 3.47 and 3.63. Highest pH value belongs to formulation 6 whose sucrose content is highest. Gajar and Badrie (2002) found that the pH value to be 3.62 for the low-calorie christophene jam. They also reported that the pH value was in the recommended range of 3.00 and 4.00. Similarly, the pH values of jams prepared with peach, plum, strawberry, and apricot (Carbonell et al., 1991; García-Martínez et al., 2002) were in the same range. Titratable acidity is about the total acid content of the product. It comes from the organic acids presenting in fruits or added acidulants to the formulations (Kanwal et al., 2017). Also, presence of acids provides texture by contributing to the gelation mechanism of pectin and enhances the natural fruit flavor (Onoğur, 2001).

Color analysis results are given in Table 3. Among formulations, formulation 6 has the darkest color value due to highest sucrose content. Igual et al. (2010) indicated that high heat treatments could result in sucrose caramelization consequently a darker color could occur in the jam product. A significant increase was observed in the L* value by the increased stevia substitution ($P < 0.05$). In general, the marmalade formulations made by using Sucralose sweeteners appeared in a lighter color than those made with stevia. This may be due to the response of different sweeteners to the heating process. Sucralose is known to be highly stable at elevated temperatures that are often used in food, beverage, and drug manufacturing processes so that product sweetness levels can be maintained following cooking, baking, and pasteurization (Frazier, 2007).

It was found that the a^* value of formulation 6 was the highest. The reason of this can be explained by elevated pH value so that the enhanced Maillard reaction occurrence in the medium. Abid et al. (2018) stated that increasing proportions of pomegranate fruits in jam results in a decrease of a^* value. The jams (with higher amount of fruit) were less reddish which could be due to decomposition of the anthocyanins during thermal treatment. The color parameter b^* ranged between 6.08 and 9.15. Abolila et al. (2015) did not find a significant difference in color scores between orange jam formulations prepared with

fructose, stevioside and Sucralose. Basu et al. (2013) explained the color change in low calorie mango jam as the fact that the acid degradation reaction yields with smaller sugars having reducing end so contributing to Maillard reaction. In addition, in the study of Peinado et al. (2012),

the color change in isomaltulose and sucrose containing strawberry products because of sugar degradation by citric acid was examined. They found the effect of citric acid on the color change is significant.

Table 3. Color Data of reduced sugar apple marmalade (RSAM) formulations

Formulation No	Lightness/Darkness, L*	Redness/Greenness, a*	Yellowness/Blueness, b*
1	23.81±0.15 ^e	-0.36±0.13 ^b	6.08±0.26 ^f
2	24.93±0.04 ^d	-0.73±0.07 ^c	6.72±0.20 ^e
3	28.16±0.18 ^b	-1.36±0.08 ^e	8.63±0.03 ^{ab}
4	26.51±0.30 ^c	-1.27±0.08 ^e	7.96±0.18 ^c
5	29.55±0.06 ^a	-1.96±0.01 ^f	9.15±0.18 ^a
6	22.70±0.07 ^f	0.42±0.10 ^a	6.17±0.03 ^{ef}
7	24.77±0.05 ^d	-0.37±0.06 ^b	7.91±0.09 ^{cd}
8	26.68±0.27 ^c	-1.14±0.02 ^d	6.59±0.06 ^{ef}
9	24.81±0.09 ^d	-0.32±0.09 ^b	7.34±0.49 ^d
10	27.74±0.08 ^b	-1.27±0.00 ^{de}	8.19±0.18 ^{bc}

Results were reported as mean±standard deviation of 3 replicates. Means±standard deviation within a column followed by different letters is significantly different ($P < 0.05$).

Rheological Properties

From the result of oscillation time sweep test, it was found that there is no significant change within the range of 0 – 900 s ($P < 0.05$). As the consequence of the time sweep test, the equilibration time for the stress sweep test was chosen 600 s. From an industrial point of view, it is desirable to have a short time to reach steady state gel structure (Torres et al., 2013). The oscillation stress sweep test was performed with

the equilibration time from time sweep test for each marmalade samples. Dynamic rheological viscoelastic properties of the low sugar apple marmalade formulations were measured within the linear viscoelastic region (LVR) ranging from 0.41 to 50 Pa for G' , and 0.41 to 200 Pa for G'' . The results of both dynamic moduli showed similar behaviors largely independent of stress values. The values of both moduli are given in Table 4.

Table 4. Viscoelastic properties of reduced sugar apple marmalade (RSAM) formulations

Formulation No	G' , kPa	G'' , kPa
1	13.024±0.299 ^{ab}	3.586±0.050 ^{ab}
2	12.287±0.314 ^{ab}	3.140±0.132 ^{ab}
3	11.404±0.672 ^b	2.555±0.154 ^b
4	12.733±0.324 ^a	3.709±0.078 ^a
5	12.965±0.517 ^{ab}	3.044±0.186 ^{ab}
6	13.756±0.298 ^{ab}	3.647±0.095 ^{ab}
7	11.763±0.432 ^{ab}	3.891±0.119 ^a
8	12.588±0.477 ^{ab}	3.276±0.103 ^{ab}
9	15.188±0.371 ^{ab}	3.292±0.036 ^{ab}
10	15.509±0.478 ^{ab}	3.850±0.056 ^a

Results were reported as mean±standard deviation of 3 replicates. Means±standard deviation within a column followed by different letters is significantly different ($P < 0.05$).

Storage or elastic modulus (G') is related to the elastic quality, whereas loss modulus (G'') is also associated with the viscous quality of the products. For all samples, the elastic modulus (G') was extremely higher than the loss modulus throughout the stress range, indicating a predominant contribution of the value G' to the viscoelastic properties of the marmalade samples. In other words, the marmalade samples exhibited a dominant elastic/solid-like character. The firmness/consistency of the structure of the product was evaluated by the elastic modulus, which was obtained by the strength of gel (Garrido et al., 2015). The formulation 4 significantly contributed to the highest degree of both elastic modulus and loss modulus in all formulations. On the other hand, the lowest values of the modulus were significantly observed in formulation 3, as seen in Table 4. This may be explained as a reduction of the sucrose content, which resulted in the increase of the liquid-like character of the formulation. In the jam gelation process, the pectin molecule chains are aligned and stretched in sucrose and fruit pulp mix and consequently, the intermolecular formation of hydrogen bonding occurs in more available sites. To form a three-dimensional network, the pectin molecules are surrounded by hydrogen bonds. Nevertheless, it is provided to hold the sucrose within the structures of pectin network. Thus, an increased sucrose concentration and therefore an increase in TSS leads to the development of strong elasticity in the jam product (Basu et al., 2011). Similarly, the formulation 7 having a higher TSS degree led to higher values of elastic modulus, compared to the formulation 8. Table 4 showed that there were marked differences in all formulations prepared with sucralose. At the same time, the formulations containing sucralose sweeteners yielded higher values of G' and G'' , compared to the formulations containing stevia sweeteners. This could be due to the different structure of the nature of bond in the sucralose, compared to the stevia. On the other hand, there were no significant differences between the formulations 1 and 6 in terms of G' values. Due to the highest sucrose content, formulation 6 had the higher G' value compared to the formulation

1. Thus, the gel strength of the formulation 6 was higher.

The increase in the sucrose concentration increased the G' and G'' values and decreased the water availability to form a hydrogen bond between the mixture of pectin, sucrose, and acid. Although the sucrose provided the stabilization to the structure of junction zones, over a certain concentration of sucrose reduced the gel quality and become a weaker gel structure of the pectin. The observation was supported by (Basu et al., 2011). In their mango jam samples containing sorbitol, the sucrose concentration increased to above 60% resulting in an unstable structure in a firmer gel network of the pectin and a softer jam because of releasing more water molecules in the jam. In the study conducted by Löfgren et al. (2002), the high-methoxyl (HM), low-methoxyl (LM) pectin and their mixture gel structure rheologically were investigated and determined the viscoelastic properties. They expressed that changes in the sucrose concentration affected the gel strength between the HM and LM pectin, as well as the structure of the network. Torres et al. (2013) studied the effect of the addition of sucrose, xylitol and stevia to the prepared chestnut and rice flours gel and evaluated the rheological properties of the formulation. The authors found that the addition of sucrose changed the viscoelastic properties of gels. On the other hand, xylitol addition did not change those properties significantly. By the temperature, time and frequency sweep tests, addition of stevia to the formulations did not change the viscoelastic properties of the formulations.

To characterize the flow behavior of the low sugar apple marmalade samples, specific torque values ranging from 250-2500 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$ were selected to determine shear stress and shear rate data for each marmalade sample. The torque ranges were as follows: i) Formulation 1: 250- 2500 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$ ii) Formulation 2: 250-1750 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$ iii) Formulation 3: 250-1250 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$ iv) Formulation 4: 250-1750 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$ v) Formulation 5: 250- 1250 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$ vi) Formulation 6: 250-2000 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$ vii) Formulation 7: 25-1500 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$ viii) Formulation 8: 250-1250 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$ ix) Formulation 9: 250-1750 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$ x)

Formulation 10: 250-1500 µN.m. Power Law and Herschel-Bulkley (HB) models were applied and

the results of the model parameters for the samples were presented in Table 5.

Table 5. Power Law and HB model parameters of the RSAM formulations

Formulation	Power Law Model				Herschel-Bulkley Model				
	$K, \text{Pa.s}^n$	n	R^2	RMSE	τ_0, Pa	$K, \text{Pa.s}^{n_{HB}}$	n_{HB}	R^2	RMSE
1	410.31±69.26 ^a	0.10±0.03 ^a	0.91±0.03	0.01±0.00	406.49±64.29 ^a	25.85±5.36 ^a	0.56±0.07 ^a	0.89±0.03	0.09±0.03
2	275.10±37.12 ^{ab}	0.09±0.04 ^a	0.93±0.02	0.01±0.00	304.08±56.85 ^{abc}	8.18±4.85 ^b	0.61±0.13 ^a	0.88±0.04	0.10±0.04
3	229.15±53.28 ^b	0.09±0.04 ^a	0.87±0.11	0.01±0.01	242.97±36.57 ^c	6.46±2.23 ^b	0.73±0.07 ^a	0.91±0.03	0.08±0.03
4	325.31±27.12 ^{ab}	0.10±0.00 ^a	0.94±0.05	0.01±0.01	372.58±53.88 ^{ab}	11.18±4.70 ^b	0.57±0.10 ^a	0.84±0.04	0.11±0.04
5	245.88±21.26 ^b	0.09±0.04 ^a	0.87±0.14	0.01±0.01	271.50±20.41 ^{bc}	7.38±4.32 ^b	0.64±0.27 ^a	0.91±0.03	0.08±0.03
6	333.53±36.58 ^{ab}	0.11±0.03 ^a	0.94±0.03	0.02±0.00	353.88±11.02 ^{abc}	24.91±4.81 ^a	0.46±0.04 ^a	0.90±0.06	0.09±0.03
7	262.14±44.65 ^b	0.16±0.03 ^a	0.97±0.01	0.01±0.00	270.06±51.79 ^{bc}	16.52±4.51 ^{ab}	0.80±0.10 ^a	0.90±0.02	0.08±0.01
8	213.86±18.04 ^b	0.13±0.01 ^a	0.95±0.03	0.01±0.00	269.12±16.58 ^{bc}	3.32±0.92 ^b	0.82±0.09 ^a	0.86±0.05	0.09±0.01
9	285.62±98.99 ^{ab}	0.10±0.04 ^a	0.89±0.09	0.02±0.01	346.72±56.55 ^{abc}	10.49±7.61 ^b	0.52±0.14 ^a	0.87±0.05	0.10±0.02
10	301.98±23.26 ^{ab}	0.10±0.06 ^a	0.92±0.06	0.01±0.01	315.65±31.35 ^{abc}	13.98±4.37 ^{ab}	0.57±0.25 ^a	0.93±0.06	0.07±0.04

Results were reported as mean±standard deviation of 3 replicates. Means±standard deviation within a column followed by different letters is significantly different ($P < 0.05$).

Considering all the experimental results, the RSAM samples containing different formulations had a shear thinning behavior (pseudo-plastic), because viscosity decreased with increasing shear rate applied. A minimum stress value of about 242.97 Pa is required for initiating the flow, indicating the yield stress. Yield stress was obtained for all the marmalade formulations and depicted in Table 5. The addition of sweeteners was obviously effective on the yield stress of the formulations. The yield stress values decreased with increasing sweeteners concentrations. This could be related to the sucrose content. Reduction of the sucrose concentration resulted in a decrease in the resistance to flow. Thus, mechanical forces applied to the marmalade samples were also decreased by the decreased sucrose. Tan et al. (2014) emphasized that the starch concentration which was increased from 15% to 25% led to an increase in the shear stress values because of the effect of sugar and starch as a thickening agent in the apple jam. In addition to this, yield stress values were highly affected by the addition of these agents to the formulations. Similar results were also obtained by Koocheki et al. (2009) in ketchup. The yield stress values provided increase with the increase in the concentration of hydrocolloid in the product. The data of the relationship between shear rate and shear stress fitted well to the Herschel-Bulkley model to describe the flow behaviors of the low sugar apple marmalade exhibiting certain yield

stress. In all cases, the coefficient of determination (R^2) was higher than 0.85 and root mean square error (RMSE) were lower than 0.11 (Table 5). The small RMSE values indicate the model better fit for the data (Unluturk et al., 2010). Since the RSAM samples exhibited the yield stress, the Power Law model was not suitable for describing the sample behavior (Table 5). Additionally, the Power Law model resulted in very low flow behavior index (n) values. Therefore, the selected HB model was adequate to describe the flow behavior of RSAM samples having yield stress within the specified range. The determination coefficient between 0.80-0.90 was expressed as a good prediction. The rheological behavior of the RSAM samples was predicted well by the HB model parameters in the range of given shear rate with a determination coefficient of $R^2 > 0.85$. For only formulation 4, this value was determined as 0.84. The flow behavior index (n) of all the apple marmalade samples determined by the model was observed to vary from 0.46 to 0.82. The flow behavior index was increased by an increase in the concentration of sweeteners substitutions. Since the magnitude of the n_{HB} was smaller than 1 and the coefficient of determination (R^2) was higher than 0.85, it could denote that the RSAM samples exhibited a shear thinning behavior and described as non-Newtonian fluids. The consistency index (K_{HB}) of all formulations also ranged from 3.32 to 25.85. Consistency is a major quality factor in many

semisolid foods such as purees and pastes. It indicates a strong interaction between the molecules in the sample structure and stability (Dogan and Kokini, 2006). The observation of this study was supported by Barbieri et al. (2018). They found that the consistency index was 39.40 Pa.sⁿ for the gabirola jam. Also, the consistency index was determined between 21-73 Pa.sⁿ for the peach jam, as given by Falguera et al. (2010). Sagdic et al. (2015) stated that the value of consistency index was found as 17.6 Pa.sⁿ for the rose hip marmalade at 25 °C. In other words, the consistency index varies depending on the components of jam formulations. Similarly, the consistency index decreased when the sweetener concentration was increased. The effect of the sweeteners addition on the formulations yielded lower values for the index. In other words, the consistency index decreased with a decrease in (TSS). These findings confirm the results of the mango jam made with stevioside and sucralose sweeteners. Basu et al. (2013) reported that the Herschel-Bulkley model explained the rheological behavior of the mango jam samples containing

those sweeteners very well. Also, changes in the TSS affected the parameters of the model. The flow behavior index showed an increasing trend with a decrease in the TSS; moreover, the consistency index decreased when the TSS values of the jam decreased, as is seen in the apple marmalade results. In the study conducted by Peinado et al., (2012), the strawberry products containing isomaltulose (30 °Bx) and a blend of isomaltulose and fructose (50 °Bx) caused a lower yield stress and consistency index, compared to other formulations containing sucrose or sucrose glucose blend.

Texture Profile Analysis

The texture of the product is strongly dependent on the changes in its structural history throughout the processing (Sikorski, 2006). Texture analysis can be regarded as a mimic of mastication in the mouth, and it can be used to provide information on the oral processing behavior of semi-solid food for objective measurement of its textural characteristics (Naknaen and Itthisoponkul, 2015). Results of the texture analysis were represented in Table 6.

Table 6. Textural parameters of RSAM products

Formulation	Hardness, N	Adhesiveness, J	Cohesiveness	Springiness, m	Gumminess, N	Chewiness, J
1	2.25±0.10 ^b	6.84±0.43 ^b	0.69±0.05 ^a	0.96±0.03 ^a	1.55±0.04 ^b	1.48±0.04 ^b
2	2.00±0.13 ^b	4.90±0.89 ^{bcd}	0.68±0.06 ^a	0.95±0.02 ^a	1.37±0.16 ^b	1.30±0.17 ^b
3	1.99±0.09 ^b	4.84±0.91 ^{cd}	0.68±0.06 ^a	0.94±0.03 ^a	1.36±0.16 ^b	1.28±0.20 ^b
4	1.80±0.27 ^b	4.83±0.79 ^{cd}	0.67±0.05 ^a	0.92±0.05 ^a	1.21±0.24 ^b	1.11±0.21 ^b
5	1.79±0.05 ^b	4.54±0.14 ^{cd}	0.66±0.04 ^a	0.92±0.04 ^a	1.19±0.04 ^b	1.10±0.08 ^b
6	2.99±0.31 ^a	9.96±0.83 ^a	0.75±0.02 ^a	0.99±0.00 ^a	2.25±0.23 ^a	2.22±0.24 ^a
7	1.75±0.41 ^b	4.78±0.97 ^{cd}	0.72±0.05 ^a	0.96±0.02 ^a	1.27±0.35 ^b	1.22±0.33 ^b
8	1.73±0.13 ^b	4.03±0.54 ^d	0.69±0.05 ^a	0.94±0.01 ^a	1.19±0.09 ^b	1.12±0.08 ^b
9	2.11±0.02 ^b	6.17±0.41 ^{bc}	0.69±0.03 ^a	0.96±0.03 ^a	1.45±0.06 ^b	1.39±0.11 ^b
10	2.00±0.19 ^b	5.39±0.46 ^{bcd}	0.68±0.03 ^a	0.93±0.01 ^a	1.36±0.19 ^b	1.26±0.17 ^b

Results were reported as mean±standard deviation of 3 replicates. Means±standard deviation within a column followed by different letters is significantly different (*P* < 0.05).

Hardness parameter of the low sugar apple marmalade, which is the maximum force, ranged from 1.73 to 2.99 N. The highest values were obtained when the marmalade was prepared with 600 g sucrose only (formulation 6). During cooking of the marmalade, acid, sugar, and pectin formed a strong gel structure. Due to having the maximum amount of sucrose in comparison with

other formulations, the highest degree of hardness was observed in the formulation 6. Adhesiveness as a textural characteristic, shows a negative force area in the curves of texture profile analysis. It is the work required to overcome the sticky forces between the sample and the probe. The adhesiveness results of the low sugar apple marmalade samples were obtained in a wide range

from 4.03 to 9.97 J. For marmalade formulations containing sucrose only, it was observed that the formulations are significantly ($P < 0.05$) different from each other. Similar results were obtained from the Cantaloupe jam prepared by substituting sucrose with different xylitol concentrations. Naknaen and Itthisoponkul (2015) observed that the increased xylitol concentration slightly reduced the stickiness/adhesiveness values in the cantaloupe jam. Another texture parameter, cohesiveness, which is expressed as a ratio of the areas of positive forces under the compressions, gives how well the product resists a second deformation, compared to under the first deformation behavior. It indicates the strength of internal bonds in the sample. In terms of cohesiveness parameter, there were not any significant differences among all formulations. Springiness is a parameter for determining the texture profile of the products. It is closely related to the elasticity of the samples. After a deformation occurs during the first compression, springiness demonstrates how well the sample physically spreads back. It was found that there were no significant differences in the springiness properties of all formulations. Another parameter of texture examined in this study was gumminess, which is defined as the product of the values of hardness and cohesiveness. It is the energy needed to disintegrate a semisolid food until it is ready to swallow. The results of gumminess parameter for the low sugar apple marmalade samples ranged from 1.19 to 2.25 N, but no significant difference was observed except for formulation 6. The last parameter of the textural characteristics is chewiness, which is expressed as the product of the values of gumminess and springiness. In other words, it can be described as an energy required for masticating the food. The chewiness results of the low sugar apple marmalade ranged from 1.10 to 2.22 J, and no significant change observed except for formulation 6.

Microstructural Properties of Low Sugar Apple Marmalade

The morphological differences of low sugar apple marmalade formulations which were prepared by using stevia and sucralose sweeteners were

compared with SEM. Images examined at 500× magnifications were shown in Figures 1 and 2. Micrograph of the freeze-dried marmalade samples stevia pectin, acid, sucrose gel mixture (Figure 1a). While the content of the marmalade was changed by substitution of 25% sucrose with stevia (formulation 2), the pectin network structure slightly disappeared and became more homogenous (Figure 1b). By increasing the stevia concentration, i.e., replacing 50% of sucrose with stevia, the surface roughness increased. On the other hand, the addition of sucralose sweeteners (formulation 4), a rough surface occurred with pores. As increasing sweeteners concentrations, the formation of porous structure increases (formulation 5). Compared to the formulation 1, both sweeteners increased the surface roughness but the increase in the concentration of sucralose led to more surface deformation than stevia. As the amount of sucrose increases, it is thought that a better pectin network is formed. Therefore, a smoother surface appearance is obtained. In Figure 2a, the formation of the network structure was observed more clearly, compared to Figure 1a. The SEM images of low sugar apple marmalade in the figures agreed with the results of the apple jam which was reported by Tan et al. (2014). The authors prepared apple jam by using both 15 g sucrose and cross-linked acetylated starch (CAS). SEM micrograph of sucrose containing apple jam showed a smoother surface. Further, porous structures were obtained by addition of a varied amount of CAS in the apple jam. When stevia concentration was increased, i.e., 25% and 50% sucrose were substituted with stevia sweeteners, the images showed the formation of porous structure due to the loss of the mesh structure of pectin (Figure 2b, c). On the other hand, the increase in the amount of sucrose from 500 g to 600 g contributed to the pectin network formation in the presence of sucralose (Figure 2d, e). It was observed that formulation 10 remained very similar to the formulation 6 in terms of surface homogeneity and formation of the pectin network (Figure 2e).

Figures 1 and 2

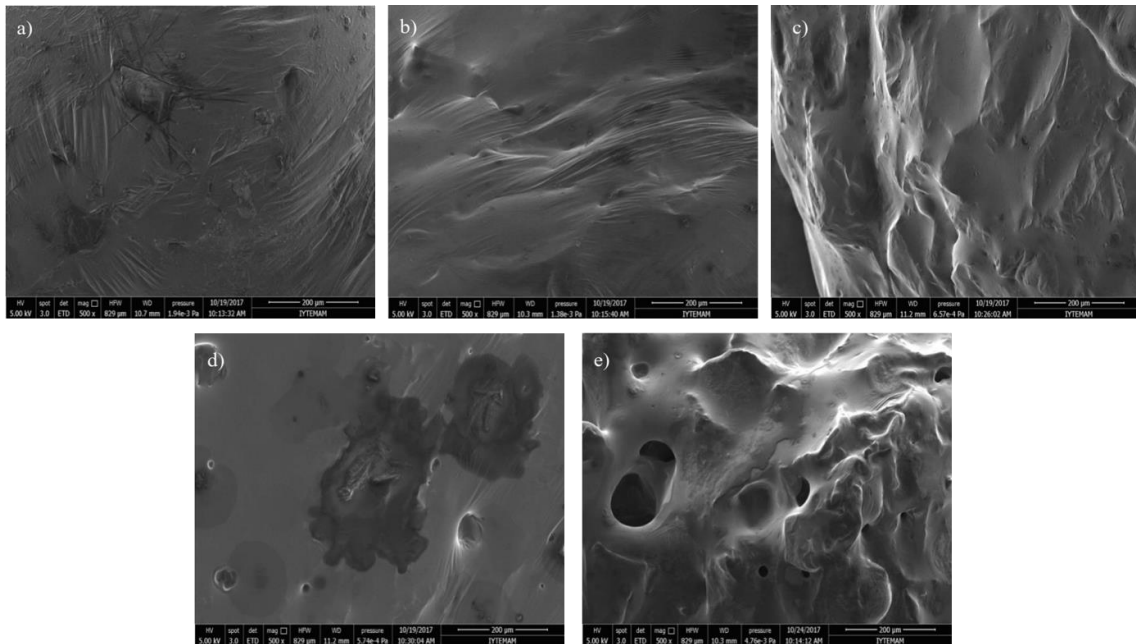


Figure 1. SEM micrographs of RSAM formulations (500 g sucrose base) at 500× magnifications a) formulation 1, b) formulation 2, c) formulation 3, d) formulation 4, and e) formulation 5

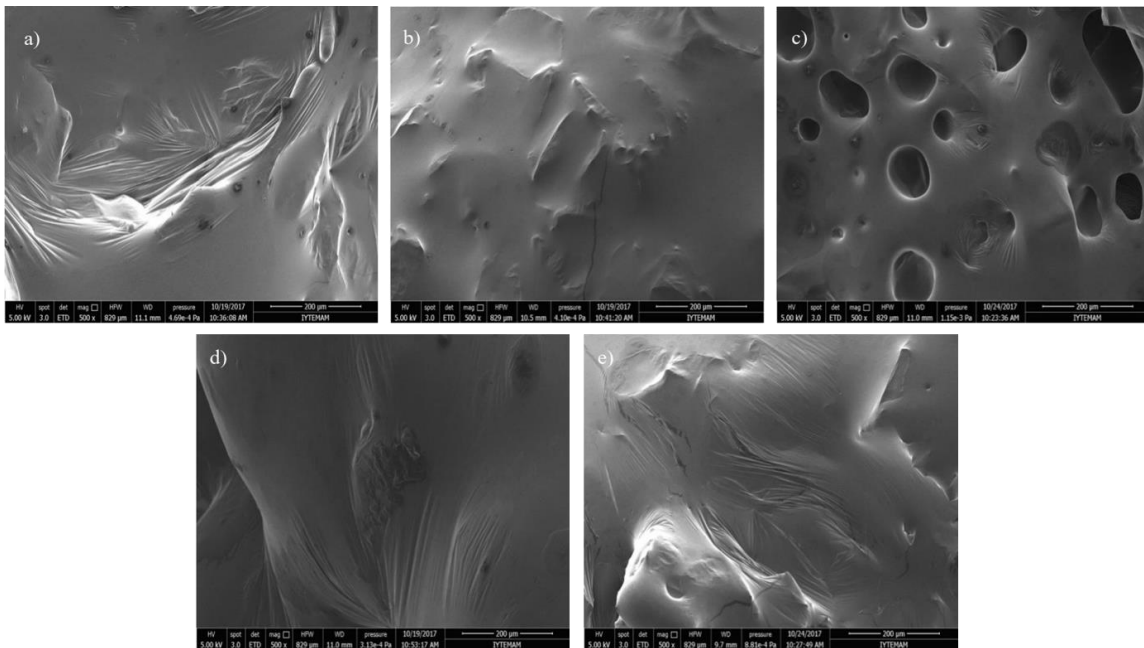


Figure 2. SEM micrographs of RSAM formulations (600 g sucrose base) at 500× magnifications a) formulation 6, b) formulation 7, c) formulation 8, d) formulation 9, and e) formulation 10

Sensory Evaluation

The sensory properties of low sugar marmalades were presented in the spider chart (Figure 3). The formulation 1 prepared using 500 g sucrose and

the formulation 3 made by replacing of 50% of sucrose with stevia sweetener achieved the highest scores. While the formulation 1 was selected as the most favorable one in the texture,

the formulation 6 had the least acceptance due to a highly firmer and more granular structure. Since the sucrose content was extremely high in the formulation 6, the water molecules were bound to the sucrose and the network of pectin, acid, sucrose was strongly interconnected. This caused a highly apparent increase in the hardness of the structure. The results agreed with the textural properties. According to the test scores, it was observed that formulation 1 was the most favorable sample for the appearance parameter. Formulation 2, 3, 4, 6, 7, and 8 are quite different from the formulation 1 ($P < 0.05$). On the other hand, the lowest appearance scores were observed in the formulations prepared by replacing 50% of sucrose with sucralose. There was no significant difference between the formulations 5 and 10. The sensation of a taste is associated with personal impressions and taste experiences, depending on the age, preferences, habits, and environmental conditions (Guiné et al., 2016). The taste parameter results of the low sugar apple marmalade were found to range from 6.86 to 5.76. The spider plot (Fig. 3) also showed that the highest score of marmalades was determined in formulation 1, whereas the formulation 6 had the lowest one. This is because the formulation 6 was extremely sweet due to higher sucrose content. The addition of sweeteners to the formulations

did not significantly affect the taste parameters of all formulations. In the study conducted by Gwak et al. (2012) the samples with different concentration levels were prepared by using eight bulk sweeteners and four intense sweeteners and they investigated whether the sweeteners had similar sensory qualities to sucrose. They found that sucralose followed a similar pathway with sucrose and showed a lower bitterness with respect to stevia. Figure 1 demonstrated that the addition of 50 percent sucralose resulted in the lowest formulation scores for formulations 5 and 10. The least acceptance might be associated with the highly light color of the formulations containing a lower amount of sucrose. While formulation 1 had the highest scores of texture results, the formulation 6 had the lowest scores, as depicted in Figure 1. This is because the formulation 6 contains the highest amount of sucrose. Thus, its structure is highly firm and stiff, compared to the formulation 1. The characteristics including taste, flavor, shape/size, color, odor and texture are considered as the parameters that affect the quality acceptability of the product by the consumers. No statistically significant difference was observed in the overall acceptance of different formulations containing stevia and sucralose sweeteners.

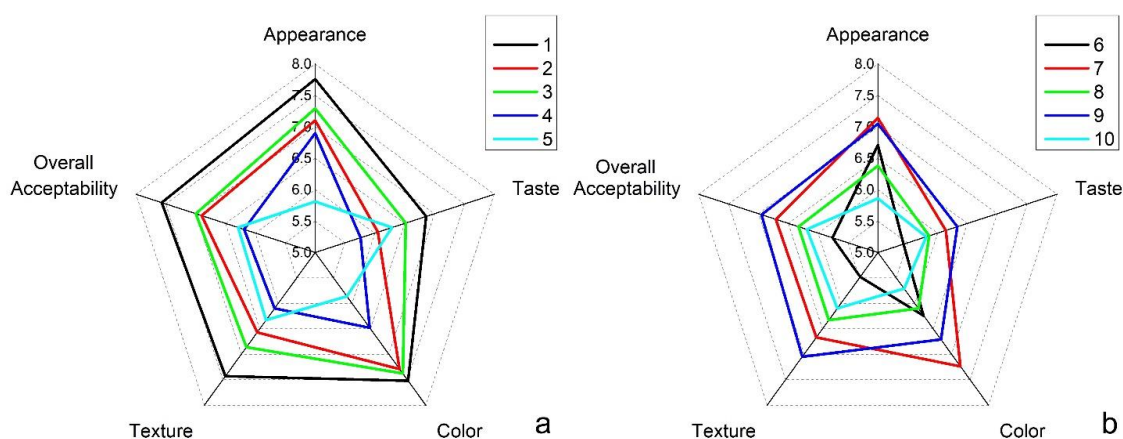


Figure 3. Sensory attributes of RSAM products having (a) 500 g and (b) 600 g sucrose basis

CONCLUSION

In this study, reduced sugar apple marmalade formulations were produced by using two types of sweeteners (stevia and sucralose) with different

concentrations. It was aimed to reveal the best marmalade formulation containing sweeteners like the control samples with respect to their physicochemical, textural, rheological, and

microstructural properties. The addition of the sweeteners to the formulations had a significant effect on most of them. The rheological behavior of the formulations was described with Herschel-Bulkley model, best. It was concluded that the solid-like behavior was observed from the oscillatory tests due to dominant elastic modulus (G'). Except for formulation 6, there was no significant effect observed between the formulations in terms of texture profile analysis results. This result brings the study to choose the optimum formulation is 3 or 5 due to lowest sugar content with no significant physical properties. 420 g of formulation 3 and 520 g of formulation 5 are maximum daily intake for a 70 kg person. According to SEM micrographs, it was observed that the surface changed depending on the increase of substitutions and sucrose content.

CONFLICT OF INTEREST

Authors declare that they have no known conflict of interest.

CONTRIBUTIONS

B. Berk is responsible for the data analysis, interpretation the results, and writing the manuscript. P. Şirin is responsible for carrying out the experiments, interpretation of the results, and writing the manuscript. S. Ünlütürk is responsible for data analysis, interpretation of the results, planning the analysis and providing research infrastructure.

ACKNOWLEDGEMENT

Authors would like to thank Integrated Research Center of Izmir Institute of Technology for conducting microstructure analysis.

REFERENCES

Abid, M., Yaich, H., Hidouri, H., Attia, H., Ayadi, M. A. (2018). Effect of substituted gelling agents from pomegranate peel on colour, textural and sensory properties of pomegranate jam. *Food Chemistry*, 239, 1047–1054. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.006>

Abolila, R., Barakat, H., El-Tanahy, H., El-Mansy, H. (2015). Chemical, Nutritional and Organoleptical Characteristics of Orange-Based Formulated Low-Calorie Jams. *Food and Nutrition*

Sciences, 06, 1229–1244. <https://doi.org/10.4236/fns.2015.613129>

Barbieri, S. F., de Oliveira Petkowicz, C. L., de Godoy, R. C. B., de Azeredo, H. C. M., Franco, C. R. C., Silveira, J. L. M. (2018). Pulp and Jam of Gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg): Characterization and Rheological Properties. *Food Chemistry*, 263, 292–299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.004>

Basu, S., Shivhare, U. S., Singh, T. V. (2013). Effect of substitution of stevioside and sucralose on rheological, spectral, color and microstructural characteristics of mango jam. *Journal of Food Engineering*, 114(4), 465–476. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.035>

Basu, S., Shivhare, U. S., Singh, T. V., Beniwal, V. S. (2011). Rheological, textural and spectral characteristics of sorbitol substituted mango jam. *Journal of Food Engineering*, 105(3), 503–512. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.014>

Carbonell, E., Costell, E., Durán, L. (1991). Rheological Indices of Fruit Content in Jams: Influence of Formulation on Time-Dependent Flow of Sheared Strawberry and Peach Jams. *Journal of Texture Studies*, 22(4), 457–471. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1991.tb00504.x>

Cemeroglu, B. S. (2013). *Gıda analizleri*. Bizim Grup.

Chattopadhyay, S., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R. (2014). Artificial sweeteners - a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(4), 611–621. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0571-1>

Dogan, H., Kokini, J. (2006). *Dogan, H. and Kokini, J.L. 2007. Rheological Properties of Foods, Chapter 1 in Handbook of Food Engineering, 2nd edition, D.R. Heldman and D.B. Lund (Eds.). CRC Press Inc., NY, pp. 1-124. (pp. 1–124).*

Falguera, V., Mengual, A., Vicente, M., Ibarz, A. (2010). Effect of calcium pidolate on the rheological characteristics of jams and gelatins. *Food Research International*, 43(3), 882–885.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.12.005>
- Frazier, R. A. (2007). Capillary Electrophoresis | Food Additives. In I. D. Wilson (Ed.), *Encyclopedia of Separation Science* (pp. 1–7). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012226770-3/10728-9>
- Fry, J. C. (2012). 3 - Natural low-calorie sweeteners. In D. Baines and R. Seal (Eds.), *Natural Food Additives, Ingredients and Flavourings* (pp. 41–75). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857095725.1.41>
- Gajar, A.-M., Badrie, N. (2002). Processing and Quality Evaluation of a Low-Calorie Christophene Jam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz). *Journal of Food Science*, 67(1), 341–346. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11407.x>
- García-Martínez, E., Ruiz-Díaz, G., Martínez-Monzó, J., Camacho, M. M., Martínez-Navarrete, N., Chiralt, A. (2002). Jam manufacture with osmodehydrated fruit. *Food Research International*, 35(2), 301–306. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00200-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00200-9)
- Garrido, J. I., Lozano, J. E., Genovese, D. B. (2015). Effect of formulation variables on rheology, texture, colour, and acceptability of apple jelly: Modelling and optimization. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1, Part 1), 325–332. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.010>
- Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Folta, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zemser, M., Weisz, M., Trakhtenberg, S., Martín-Belloso, O. (2001). Comparative Contents of Dietary Fiber, Total Phenolics, and Minerals in Persimmons and Apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 952–957. <https://doi.org/10.1021/jf000947k>
- Igual, M., Contreras, C., Martínez-Navarrete, N. (2010). Non-conventional techniques to obtain grapefruit jam. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(2), 335–341. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.01.009>
- International Food Standard - Codex Alimentarius. (2020). *Standard for Jams, Jellies and Marmalades*.
- Kanwal, N., Randhawa, M., Iqbal, Z. (2017). Influence of processing methods and storage on physico-chemical and antioxidant properties of guava jam. *International Food Research Journal*, 24, 2017–2027.
- Koocheki, A., Ghandi, A., Razavi, S. M. A., Mortazavi, S. A., Vasiljevic, T. (2009). The rheological properties of ketchup as a function of different hydrocolloids and temperature. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(3), 596–602. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01868.x>
- Lal, G., Siddappa, G. S., Tandon, G. L. (1960). *Preservation of Fruits and Vegetables*. Indian Council of Agricultural Research. <https://books.google.com.tr/books?id=gT5cjgEACAAJ>
- Löfgren, C., Walkenström, P., Hermansson, A.-M. (2002). Microstructure and Rheological Behavior of Pure and Mixed Pectin Gels. *Biomacromolecules*, 3(6), 1144–1153. <https://doi.org/10.1021/bm020044v>
- Naknaen, P., Itthisoponkul, T. (2015). Characteristics of Cantaloupe Jams as Affected by Substitution of Sucrose with Xylitol. *International Journal of Fruit Science*, 15(4), 442–455. <https://doi.org/10.1080/15538362.2015.1031433>
- Onoğur, T. A. (2001). *Gıda katkı maddeleri*. SİDAS. <https://books.google.com.tr/books?id=ssqktgAACAAJ>
- Peinado, I., Rosa, E., Heredia, A., Andrés, A. (2012). Rheological characteristics of healthy sugar substituted spreadable strawberry product. *Journal of Food Engineering*, 113(3), 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.06.008>
- Renard, D., van de Velde, F., Visschers, R. W. (2006). The gap between food gel structure, texture and perception. *Food Hydrocolloids*, 20(4), 423–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.10.014>

- Rippe, J. M., Angelopoulos, T. J. (2016). Relationship between Added Sugars Consumption and Chronic Disease Risk Factors: Current Understanding. *Nutrients*, 8(11). <https://doi.org/10.3390/nu8110697>
- Rubio-Arreaez, S., Ferrer, C., Capella, J. V., Ortolá, M. D., Castelló, M. L. (2017). Development of Lemon Marmalade Formulated with New Sweeteners (Isomaltulose and Tagatose): Effect on Antioxidant, Rheological and Optical Properties. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2), e12371. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12371>
- Sagdic, O., Toker, O. S., Polat, B., Arici, M., Yilmaz, M. T. (2015). Bioactive and rheological properties of rose hip marmalade. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6465–6474. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1753-z>
- Sahin, S., Sumnu, S. G. (2006). *Physical Properties of Foods*. Springer New York. <https://books.google.com.tr/books?id=v854Fu2D7VUC>
- Sikorski, Z. E. (2006). *Chemical and Functional Properties of Food Components*. CRC Press. <https://books.google.com.tr/books?id=nufKBQAAQBAJ>
- Tan, C., Cui, B., Lu, Y., Zhao, N., Wang, Y. (2014). Microstructure and rheology of apple jam as influenced by cross-linked acetylated starch. *Starch - Stärke*, 66(9–10), 780–787. <https://doi.org/10.1002/star.201300256>
- Torres, M. D., Raymundo, A., Sousa, I. (2013). Effect of sucrose, stevia and xylitol on rheological properties of gels from blends of chestnut and rice flours. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 249–256. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.06.018>
- Unluturk, S., Atilgan, M. R., Baysal, A. H., Unluturk, M. S. (2010). Modeling inactivation kinetics of liquid egg white exposed to UV-C irradiation. *International Journal of Food Microbiology*, 142(3), 341–347. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.013>
- Vetter, S., Kunzek, H., Senge, B. (2001). The influence of the pre-treatment of apple cell wall samples on their functional properties. *European Food Research and Technology*, 212(6), 630–635. <https://doi.org/10.1007/s002170100309>
- Vilela, A., Matos, S., Abraão, A. S., Lemos, A. M., Nunes, F. M. (2015). Sucrose Replacement by Sweeteners in Strawberry, Raspberry, and Cherry Jams: Effect on the Textural Characteristics and Sensorial Profile-A Chemometric Approach. *Journal of Food Processing*, 2015, 749740. <https://doi.org/10.1155/2015/749740>



THE EFFECTS OF MARINATION WITH ROSEHIP INFUSION ON QUALITY PARAMETERS OF TURKEY BREAST FILLETS

Meltem Serdaroglu*, Özlem Yüncü Boyacı, Merih Karaman

Ege University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, Izmir, Turkey

Received /Geliş: 15.12.2023; Accepted /Kabul: 15.02.2024; Published online /Online baskı: 01.03.2024

Serdaroglu, M., Yüncü-Boyacı, Ö., Karaman, M. (2024). The effects of marination with rosehip infusion on quality parameters of turkey breast filets. *GIDA* (2024) 49 (2) 238-251 doi: 10.15237/ gida.GD23142

Serdaroglu, M., Yüncü-Boyacı, Ö., Karaman, M. (2024). Kuşburnu infüzyonu ile marinasyonun hindi göğüs filetolarının kalite parametreleri üzerindeki etkileri. *GIDA* (2024) 49 (2) 238-251 doi: 10.15237/ gida.GD23142

ABSTRACT

This research investigates the effects of using rosehip infusion as a marinade on the physicochemical, technological, textural properties, and oxidative stability of turkey breast meat. The chemical composition, technological properties, color and textural parameters, pH, and lipid oxidation of marinated turkey samples were determined. Marinades used in reformulated groups were prepared with rosehip at different concentrations (10 g (R1), 15 g (R2), and 20 g (R3)/150 mL). Rosehip-infused marinated samples exhibited lower pH, altered color parameters, enhanced water holding capacity and cooking yield, and increased marinade uptake (especially in R3). In texture analysis, it was observed that the hardness of the samples decreased, while the values of cohesiveness and springiness increased. Notably, rosehip infusion demonstrated antioxidative effects, lowering TBARS values compared to the control. In summary, marination with rosehip infusion presents a promising method to improve the technological and textural qualities of turkey breast meat while protecting against lipid oxidation.

Keywords: Turkey meat, marinades, rosehip, texture, tenderness, lipid oxidation

KUŞBURNU İNFÜZYONU İLE MARINASYONUN HİNDİ GÖĞÜS FİLETOLARININ KALİTE PARAMETRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

ÖZ

Bu araştırma, kuşburnu infüzyonunun marinat olarak kullanılmasının hindi göğüs etinin fizikokimyasal, teknolojik, tekstürel özellikleri ve oksidatif stabilitesi üzerindeki etkilerini incelemektedir. Marine edilmiş hindi örneklerinin kimyasal kompozisyonu, renk parametreleri, teknolojik özellikleri, tekstür parametreleri, pH ve lipid oksidasyonu belirlenmiştir. Yeniden formüle edilmiş gruplarda kullanılan marinat çözeltileri farklı konsantrasyonlardaki kuşburnu ile hazırlanmıştır (10 g (R1), 15 g (R2) ve 20 g (R3)/150 mL). Kuşburnu infüzyonu ile marine edilmiş örnekler daha düşük pH, değişen renk parametreleri, geliştirilmiş su tutma kapasitesi ve pişirme verimi ile artan marinat emilimi (özellikle R3'te) sergilemiştir. Tekstür analizinde örneklerin sertliği azalırken yapışkanlık ile esneklik değerlerinin arttığı gözlenmiştir. Özellikle kuşburnu infüzyonu, kontrol grubuna kıyasla TBARS değerlerini düşürerek antioksidatif etkiler sergilemiştir. Özetle, kuşburnu

* Corresponding author/ Sorumlu yazar

✉: meltem.serdaroglu@ege.edu.tr

☎: (+90) 232 311 1314

☎: (+90) 232 311 4831

Meltem Serdaroglu; ORCID no: 0000-0003-1589-971X

Özlem Yüncü-Boyacı; ORCID no: 0000-0002-9112-1427

Merih Karaman ; ORCID no: 0009-0003-1593-4543

infüzyonuyla marinasyon, hindi göğüs etinin teknolojik ve tekstürel özelliklerini iyileştirmek ve lipid oksidasyonuna karşı koruma sağlamak için umut verici bir yöntem sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Hindi eti, marinat, kuşburnu, tekstür, gevreklik, lipid oksidasyonu

INTRODUCTION

The association between optimal health and dietary patterns has led individuals to adopt a more conscientious approach toward their daily eating habits, aiming to incorporate diverse components into their diets. Consequently, there is a prevailing preference for the consumption of health-promoting foods that remain economically feasible. Within this framework, turkey meat has gained attention as a scientifically substantiated alternative to beef, owing to its notable attributes such as high protein and low-fat content (Çelen et al., 2016). Furthermore, turkey meat stands out as an excellent source of essential amino acids (alanine, serine, aspartic acid, methionine, glutamic acid, tyrosine, and lysine), vitamins (niacin, vitamin B6), and minerals (phosphorus and selenium), all of which contribute significantly to a healthy diet (Gök and Bor, 2016). Even though turkey breast meat is processed into products, its lower fat content renders it unsuitable for direct consumption in meals. This characteristic leads to a firmer texture, less tender, and comparatively subdued flavor profile compared to turkey thigh meat. Regarding meat quality, tenderness functions as a pivotal parameter indicating its appropriateness for consumption. This factor substantially impacts the gustatory satisfaction, perceived worth, and the consumer's inclination to reacquire the product (Xiong et al., 2020). Therefore, various techniques (mechanical tenderization (puncture and tumbling), high-pressure processing, pulsed electric field, ultrasound, and marination) have been used to improve the tenderness of turkey breast meat (Loyn and Hamm, 1986; Bhat et al., 2018).

Enhancing meat tenderness can be achieved through marination, particularly involving acidic compounds. This method has a historical significance in improving the sensory qualities and moisture retention of meat while also extending its shelf life (Alvarado and McKee, 2007; Kaewthong and Wattanachant, 2018; Çınar and Çolakoğlu, 2004). Notably, marination offers

numerous benefits such as improving aroma, flavor, and addressing color deficiencies (Barbanti and Pasquini, 2005). Several studies have substantiated the positive effects of marinating turkey breasts, which include improvements in texture, sensory characteristics, and the ability to slow down oxidative changes (Gök and Bor, 2016; Serdaroğlu et al., 2007; Augustyńska-Prejsnar et al., 2019). An alternative way to describe marination in terms of its effects on tissue morphology is by influencing the pH of the tissue, causing it to deviate from its isoelectric point, which creates space between the myofilaments and allows for better water retention (Önenç et al., 2004). A variety of ingredients, including wine, vinegar, fruit juices, fermented milk products, oils, and salt, have been extensively employed in marinating various types of meat (Goli et al., 2014). Additionally, the inclusion of fruit and vegetable juices and extracts in marinades has been explored due to their antioxidant and antimicrobial properties (Nile and Park, 2014; Afrin et al., 2016; Kalaycıoğlu and Erim, 2019; Sarıcaoğlu et al., 2019; Van de Welde et al., 2019; Şengün et al., 2021).

Rosehip, the pseudo-fruit of the rose bush, particularly *Rosa canina* L. is known for its abundant polyphenols and vitamin C content, making it an excellent source (Fan et al., 2014). Rosehip contains 2-3 times more ascorbic acid than kiwi, 3-5 times more than peppers, and 5-6 times more than citrus fruits. The high polyphenol content, including flavonoids and phenolic acids, in rosehip tea contributes to its antioxidative potential (Karhan et al., 2004). These compounds have been found to scavenge free radicals, bind metal ions, and inhibit lipid peroxidation. Promising results have been observed in studies investigating the effect of rosehip on lipid oxidation in various food matrices (Rivera et al., 2022; Vlaicu et al., 2022). Research on the utilization of rosehip infusion for marinating meat products, especially turkey breast meat, has been limited. From this point of view, this study aims to investigate the effects of

marinating turkey breast meat with rosehip infusion on various aspects, including physicochemical characteristics, technological properties, texture, and lipid oxidation.

MATERIAL AND METHOD

Material

Fresh, skinless turkey breast muscles (with a moisture content of $75.55 \pm 0.28\%$, protein content of $19.91 \pm 0.34\%$, fat content of $1.19 \pm 0.10\%$, and ash content of $3.38 \pm 0.35\%$, pH ranging from 5.91 to 5.93, free from visible blood spatter or bruises) were obtained from a national supermarket chain in sealed 750 g packs (Bolca Hindi Üretim ve Paz. A.Ş.). The muscles were sliced into 1 cm thick, 13 cm long fillets using a fillet knife, with each fillet weighing approximately 100 g. Dried whole rosehip fruits (*Rosa canina* L.) were sourced from a local herbalist in İzmir. The rosehip fruits were ground using a

Waring 8011 EB SET2 blender (Stamford, CT) at the second speed for 30 secs to create a rosehip infusion for use as a marinade solution. All chemicals used were of analytical grade and obtained from Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany.

Preparation of marinated turkey breast and cooking process

Three rosehip infusions (RI1: 67 g/L, RI2: 100 g/L, and RI3: 133 g/L) were prepared as marinade solutions. Specified amounts of rosehip powder were placed within individual filter papers. These mixtures were then infused with distilled water at 100°C for 30 min to achieve the specified concentrations. Distilled water was used as the marinade solution for the control (C) group. The examination of the acquired infusion took place after it had cooled to room temperature (Figure 1).

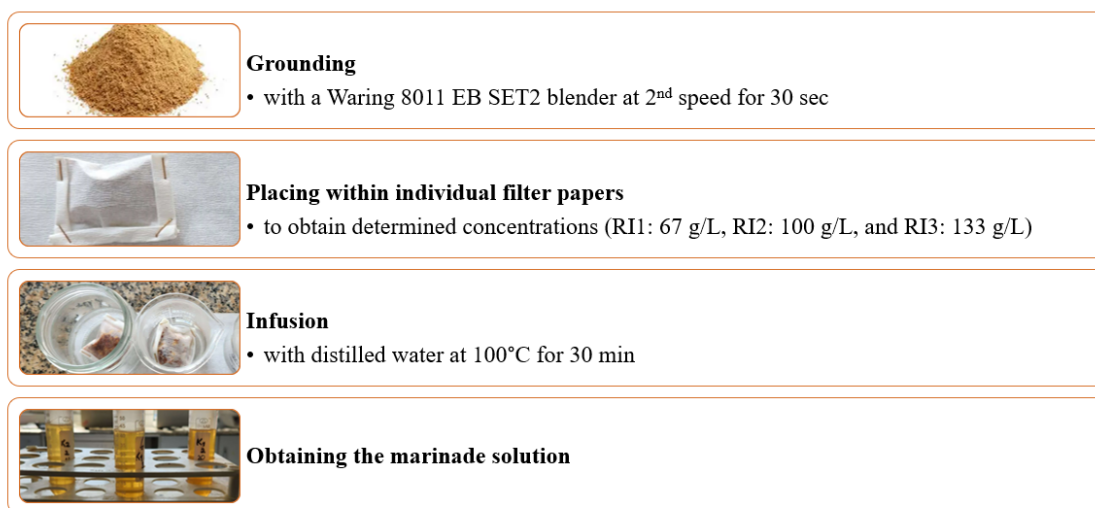


Figure 1 Preparation of the marinades

The turkey breast fillets, along with their respective rosehip infusions (at a ratio of 1:1 w/w meat to marinade), were placed into sous-vide bags (thickness of $90 \pm 3 \mu\text{m}$, an oxygen permeability of $160 \text{ cc/m}^2/\text{d}$, and a water vapor permeability of less than $8 \text{ g/m}^2.\text{d}$) and allowed to marinate for 4 h at $+1^\circ\text{C}$. Then marinade liquid was drained from all the samples, and the bags were vacuum sealed for storage. Samples were sous-vide cooked using a WiseBath (Germany) at

80°C until the core temperature reached 73°C (Figure 2). Subsequently, the samples were rapidly cooled to room temperature and stored in a refrigeration unit at $+1^\circ\text{C}$ until further analysis. pH measurement, instrumental color evaluation, peroxide, and TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) analysis were performed on days 0, 3, 5, and 7 of the storage periods.

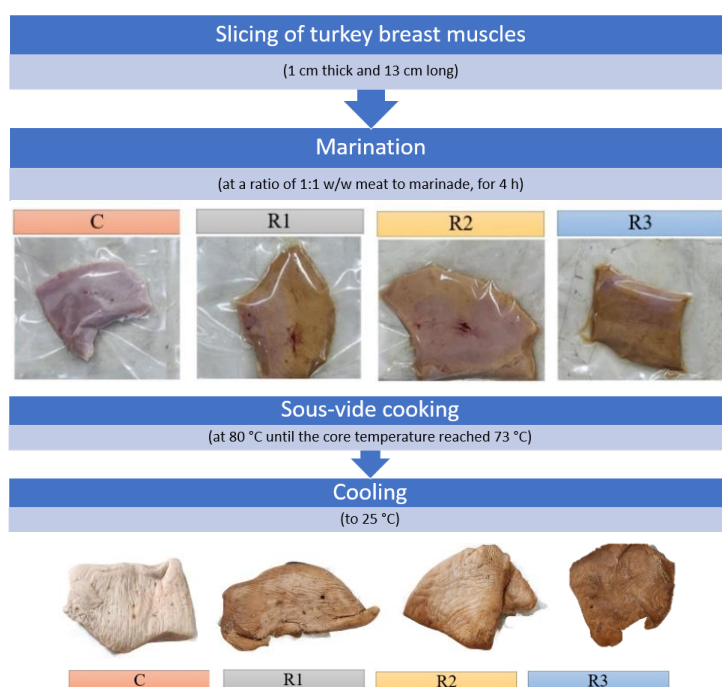


Figure 2 Process flow diagrams production of marinated turkey breasts including the experimental design

Method

Analysis of rosehip infusion

The pH measurements of marinades were measured using a digital pH meter (WTW pH 3110 set 2, Germany) in triplicates. The total phenolic content (TPC) analysis was conducted using a modified Folin-Ciocalteu (FC) method, as outlined by Yılmaz et al. (2015). For this analysis, 30 μL of methanolic sample extract and 150 μL of FC reagent were transferred to test tubes, followed by the addition of 2.37 mL of distilled water. After an 8 min incubation, 450 μL of sodium carbonate was introduced into the mixture. Following a 30 min incubation at 40°C, absorbance was measured at 750 nm using a spectrophotometer (PG Instruments, T-60, UK). The results were expressed as mg of gallic acid equivalent per g. The DPPH analysis was performed by the method described by Grajeda-Iglesias et al. (2016). In this procedure, 20 μL of a sample diluted in ethanol (at a 1:40 dilution) was combined with 180 μL of a methanolic DPPH solution. After vortexing the microcentrifuge tubes for around 30 secs, they were incubated for 30 min before measuring the absorbance at 515 nm using a spectrophotometer (PG Instruments,

T-60, UK). The absorbance readings were used to evaluate anti-radical activity through a linear equation plot.

Analysis of the marinated turkey breast

Chemical composition

The determination of total moisture and ash contents followed the guidelines set by the Association of Official Analytical Chemists (2012). The protein content was measured using a LECO nitrogen determinator (FP528, USA), and the analysis of lipid content was conducted by the method outlined by Flynn and Bramblett (1975).

Instrumental quality

The pH measurements were measured using a digital pH meter (WTW pH 3110 set 2, Germany) in triplicates. The pH level of the samples was monitored during the storage period on days 0, 3, 5, and 7 from three different spots on the fillet. The color parameters of the cooked samples were monitored during the storage period on days 0, 3, 5, and 7 using a digital colorimeter (Chromameter CR 400, Minolta, Japan) to obtain the coordinates lightness (L^*), redness (a^*), and yellowness (b^*) in triplicates from different parts of the samples.

The total color difference (ΔE), Chroma (C^*), and hue angle (h°) values were calculated according to AMSA (2012).

For the texture profile analyses (TPA), a TA-XT2 texture analyzer from Stable Micro Systems in Haslemere, UK was utilized. The TPA results were reported in terms of hardness (N), springiness, cohesiveness, gumminess (N), and chewiness (N×mm). The samples used for analysis had dimensions of 2.5 cm in height and 2.2 cm in diameter. During the analysis, the samples were compressed twice to 50% of their original height using specific settings according to García-Segovia et al. (2014): cylindrical probe P36/R, post-test speed of 2 mm/s, crosshead speed of 1 mm/s, and test speed of 1 mm/s. The compression was applied using a load cell with a force of 50 kg.

Technological analyses

The determination of water holding capacity (WHC) was carried out with some modifications to the method described by Hughes et al. (1997). 10 g of sample was weighed (M1) and placed in a glass jar to be heated in a water bath for 10 min at 90 °C. The jars were then cooled down to room temperature. The samples inside the jars were wrapped up in cotton-based gauze and centrifuged for 15 min at 1400 rpm. The samples liberated from their gauze wrap were weighed (M2) and the difference was used to calculate the water retention rate along with the moisture content of the samples (M3).

$$\% WHC = 1 - \left(M1 - \frac{M2}{M3} \right) \times 100$$

Cooking loss was determined by weighing the samples before (M1) and after (M2) the sous-vide cooking process and determining the value based on the difference between the weights. Marinade uptake (%) was calculated from the weight of the samples taken before and after marination.

Lipid oxidation

The peroxide analysis was carried out in accordance with the protocols specified by the Association of Official Agricultural Chemists (2012). A 10g sample (M) was mixed with 60 mL of 96% chloroform at 600 rpm for 2 min. The

mixture was filtered, and to the filtrate, 30mL of glacial acetic acid and 2mL of saturated potassium iodide (KI) was added. After 5 min in a sealed flask, 100mL distilled water and 2mL 1% starch solution were introduced. The resulting mixture was shaken and titrated with 0.1 N sodium thiosulfate until a color change from dark purple to pink was observed, and the sodium thiosulfate consumption (C) was recorded for calculation.

$$\text{Peroxide Value (mEq } O_2 / \text{kg)} = \left[\frac{(\text{Normality of Sodium Thiosulphate} \times C \times 1000)}{M} \right]$$

The Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) were determined following the method of Witte et al. (1970). A 20g sample was used for the TBARS analysis. The sample was homogenized with 50mL of chilled 20% trichloroacetic acid (TCA) using a blender (Sinbo, Turkey) for 2 min. The homogenized mixture was filtered, and the filtrate was then re-filtered through Whatmann No.1 filtering paper into a 100mL flask. The flasks were adjusted with a 1:1 (v/v) mixture of chilled water and TCA as needed. For the analysis, 5 mL samples were combined with 5 mL of 0.02 M thiobarbituric acid (TBA) and heated in a water bath at 80 °C for 35 min. After cooling to room temperature, absorbance was measured at 532 nm using a spectrophotometer (PG Instruments, T-60, UK) with a blank sample of 1:1 (v/v) TCA and distilled water. Results were expressed as TBA values (mg malonaldehyde/kg sample), calculated by multiplying the absorbance by 5.2. Both peroxide and TBARS analyses were conducted throughout the storage period to monitor lipid oxidation.

Statistical assessment

Production was carried out with 15 packages from each group (C, R1, R2, and R3), each containing 3 slices of turkey steak. The analyses of the relevant parameters for each treatment were performed in triplicate. The results were expressed as the mean and standard error of data obtained from three independent batches. The statistical software package SPSS 21.0 (SPSS Inc, Chicago, USA) was used to analyze the data using the General Linear Model (GLM) procedure. Different formulation groups (treatments) and storage days were assigned as fixed factors. while

each replicate was considered as a random factor to investigate the effects of marination with rosehip infusion on the quality parameters. One-way Analysis of Variance (ANOVA) was applied to determine if there were statistically significant differences among independent groups. At the same time, two-way ANOVA was used to determine the effects of processing and storage. Duncan's test was used to identify significant differences ($P < 0.05$) among formulations and storage conditions.

RESULTS AND DISCUSSION

Characteristics of Rosehip Infusion

Table 1 provides the phenolic content, DPPH value, and pH values of the marinade solutions.

The total phenolic content (TPC) and DPPH values of the marinades varied between 138.50-241.11 mg GAE/g and 33.69-52.62 $\mu\text{mol TE/g}$, respectively. Increasing the ratio of rosehip powder in the marinade has resulted in higher TPC and DPPH values in the samples ($P < 0.05$). Our TPC results are consistent with the findings reported by Koczka et al (2018). Due to its acidic nature, the increase in the ratio of rosehip powder in the marinade has led to a decrease in the pH values of the samples. The highest pH value was observed in RI1, while the lowest value was detected in RI3 ($P < 0.05$). This observation is consistent with the results reported in a prior study (Orhan et al., 2012).

Table 1 Characteristics of marinade solution

Marinade*	pH	Total phenolic content (mg GAE/g)	DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$)
RI1	3.71 \pm 0.01 ^a	138.50 \pm 0.10 ^c	33.69 \pm 0.18 ^c
RI2	3.64 \pm 0.01 ^b	165.15 \pm 0.05 ^b	47.59 \pm 0.01 ^b
RI3	3.58 \pm 0.06 ^c	241.11 \pm 0.10 ^a	52.62 \pm 0.08 ^a

*RI1: 67 g/L rosehip powder, RI2: 100 g/L rosehip powder, RI3: 133 g/L rosehip powder. ^{a-c}Different letters in the same column indicate a significant difference ($P < 0.05$). Data were presented as the mean \pm standard deviation.

Physicochemical Properties

The physicochemical properties of marinated turkey breast fillets are given in Table 2. Marination using rosehip infusion significantly affected ($P < 0.05$) the moisture content of turkey breast fillets. The moisture content ranged between 73.83% and 77.44%. Apart from the R1

sample, marination resulted in an increment in moisture content. In a similar study conducted by Serdaroglu *et al* (2007), it was observed that solutions containing citric acid and grapefruit juice resulted in an increase in moisture content in turkey meat.

Table 2 Physicochemical properties of turkey breasts (%)

Treatments*	Moisture	Marinade uptake	Water holding capacity	Cooking yield
C	75.75 \pm 0.58 ^b	3.58 \pm 0.01 ^b	48.08 \pm 0.85 ^{ab}	77,22 \pm 0.82 ^b
R1	73.83 \pm 0.55 ^c	3.60 \pm 0.02 ^b	47.19 \pm 0.71 ^b	76,12 \pm 0.13 ^b
R2	76.66 \pm 0.02 ^{ab}	3.61 \pm 0.03 ^b	48.12 \pm 0.89 ^{ab}	78,70 \pm 0.64 ^a
R3	77.44 \pm 0.79 ^a	3.78 \pm 0.02 ^a	49.50 \pm 0.95 ^a	79,42 \pm 0.68 ^a

* C: distilled water. R1: 6.67% rosehip infusion. R2: 10% rosehip infusion. R3: 13.33% rosehip infusion. ^{a-b}Different letters in the same column indicate a significant difference ($P < 0.05$). Data were presented as the mean \pm standard deviation.

Marinating uptake is a measure of its ability to penetrate the turkey breast fillet. A high amount of absorbed marinade solution increases the effectiveness of the marination process. As

shown in Table 2, marinade uptake values varied between 3.58% (C) and 3.78% (R3). Except for R3, there was no statistically significant difference in the marinade uptake values among the samples

($P > 0.05$). The marination of chicken meat using various vinegar varieties yielded lower marinade uptake values according to the findings of Dilek et al. (2023). Sengun et al. (2021) discovered that the marinate uptake of beef samples marinated in organic fruit vinegar exhibited no significant differences among them.

Water holding capacity (WHC) refers to the meat's capability to retain both its own water and any additional water due to applied pressure (Önenç et al., 2004). Except for R3, the utilization of rosehip infusion for marinating turkey breast fillets did not show improvement in WHC values. The WHC of the samples exhibited a range between 47.19% (R1) and 49.50% (R3), with the highest value being evident in the R3 group, similar values were recorded for R2 and C groups ($P > 0.05$). It has been documented that as the pH of muscle proteins falls below their isoelectric point, carboxyl groups acquire protons, resulting in an overall increase in positive charge. This phenomenon leads to the formation of a region within the structure that retains water, driven by the repulsive force between similarly charged protein groups (Offer and Knight, 1988). Similarly, Ünal et al (2022) reported that marinating chicken breast fillets with lemon and grapefruit juice caused an increase in water retention capacity.

The cooking yield varied within the range of 76.12% (R1) to 79.42% (R3). Although the R1 treatment showed cooking loss similar to the control, the R2 group exhibited similarities to the R3 group ($P > 0.05$). It can be stated that an increase in the concentration of rosehip in the marinade formulation is associated with an improvement in cooking yield. Previous studies indicated that turkey breast samples treated with higher concentrations of citric acid and grapefruit juice exhibited decreased cooking losses (Serdaroğlu et al., 2007). Similarly, marination with black carrot juice yielded the lowest cooking losses in turkey breast samples (Gök and Bor, 2016). It can be stated that the R3 group, marinated with the highest concentration of rosehip powder, possesses the desired technological characteristics.

Texture Parameters

The results of the texture profile analysis are shown in Table 3. The marination treatment significantly affected all textural parameters ($P < 0.05$). Hardness values of samples ranged between 4.44 (R3) to 5.07 (C) N. While no significant differences were found between the control and the R1 treatment, a decrease in hardness was noted for the R2 and R3 treatments ($P < 0.05$). Similar to our results, the hardness value of turkey breast meat decreased with acidic marination, according to previous studies (Gök and Bor, 2016; Serdaroglu et al., 2007; Goli et al., 2014). The reduction in hardness was attributed to the increase in tenderness caused by the acidic marinade (Serdaroğlu et al., 2007). Ünal *et al* (2022) marinated chicken breast fillets with apple cider vinegar and 0.2 M acetic acid, noting that the treated fillets exhibited reduced hardness values compared to the control treatment. Marinating in an acidic solution reduces the meat's pH, which subsequently enhances meat tenderness by increasing the solubility of collagen and myofibrillar proteins, as well as swelling of the myofibrillar system (Ehsanur Rahman et al., 2023). Springiness is a significant texture parameter frequently employed to evaluate meat's tenderness and resilience (Novaković and Tomašević, 2017). Increased springiness implies that the meat exhibits excellent elasticity and is less prone to becoming excessively tender or mushy during cooking or chewing. Springiness values of the samples showed significant differences from the control group; R1 had lower springiness (0.35), whereas R2 and R3 exhibited higher springiness than C (0.37) ($P < 0.05$). In a study on beef steak, the use of balsamic and grape vinegar in the marination process decreased the springiness value compared to the control group (Fencioğlu et al., 2022). The cohesiveness values of the samples increased regardless of the concentration of rosehip powder ($P < 0.05$). Gumminess values exhibited notable changes among samples ($P < 0.05$). Although the highest value was found in R1, R2 and R3 had significantly lower gumminess values compared to the control group ($P < 0.05$).

Quality enhancement of turkey breast fillets through rosehip infusion marination

Table 3 Textural properties of turkey breasts

Treatments*	Hardness (N)	Springiness	Cohesiveness	Gumminess (N)	Chewiness (N.mm)	Resilience
C	5.07±0.04 ^a	0.37±0.01 ^b	0.38±0.01 ^d	2.41±0.04 ^{ab}	0.92±0.09 ^a	0.14±0.01 ^c
R1	4.97±0.06 ^a	0.35±0.01 ^c	0.44±0.01 ^b	2.43±0.08 ^a	0.84±0.01 ^a	0.16±0.01 ^b
R2	4.81±0.06 ^b	0.38±0.01 ^a	0.42±0.02 ^c	2.27±0.06 ^b	0.73±0.05 ^b	0.17±0.01 ^b
R3	4.44±0.11 ^c	0.38±0.02 ^a	0.47±0.01 ^a	1.76±0.11 ^c	0.52±0.03 ^c	0.19±0.01 ^a

* C: distilled water. R1: 6.67% rosehip infusion. R2: 10% rosehip infusion. R3: 13.33% rosehip infusion. ^{a-d} Different letters in the same column indicate a significant difference ($P < 0.05$). Data were presented as the mean \pm standard deviation.

Chewiness values followed a similar trend with hardness values. High quality meat is often associated with lower chewiness scores, indicating a more acceptable and tender texture (Sasaki et al., 2014). No significant differences were recorded between C and R1 treatments. The lowest chewiness was found in R3 samples. Our results show that R2 and R3 marinade solutions increase the tenderness of turkey breast meat. A similar result was shown in a study when chicken breast meat was marinated in 100% lemon juice (Ünal et al., 2022). Resilience values were significantly influenced by the marinade concentration. All marinated samples had higher resilience values than the control group ($P < 0.05$). The improvement of textural properties in turkey breast meat can be attributed to the acidic characteristics of rosehip infusion.

the pH of Marinated Turkey Meat

The pH values of turkey breast fillets during storage are provided in Table 4. The effect of

marination on the pH values of turkey breast samples was found to be significant. On the first day of storage, the pH values ranged from 5.75 (R3) to 5.90 (C), and the samples marinated with rosehip exhibited lower pH values compared to the control group ($P < 0.05$). Similarly, in turkey breast samples marinated with aronia, grape, and hawthorn, the highest pH value was observed in the control group (Dilek et al., 2023). Except for the 3rd day of storage, the lowest pH values were generally observed in the R3 group ($P < 0.05$). This is attributed to the higher concentration of rosehip used in marinating the samples in the R3 group (Table 1). Marinating turkey breast meat with different fruit juices such as black mulberry, grape, and pomegranate resulted in a decrease in pH values (Gök and Bor, 2016). Throughout storage, the pH values of the R1 and R2 groups were mostly similar to the control groups.

Table 4 pH values of turkey breasts

Treatments*	Storage	C	R1	R2	R3
pH	0	5.90±0.03 ^{aY}	5.86±0.04 ^{aY}	5.86±0.02 ^{aY}	5.75±0.03 ^{bY}
	3	5.86±0.01 ^{aY}	5.75±0.04 ^{bZ}	5.82±0.02 ^{aZ}	5.72±0.05 ^{bY}
	5	5.99±0.03 ^{aX}	6.01±0.07 ^{aX}	5.98±0.01 ^{aX}	5.89±0.04 ^{bX}
	7	5.97±0.02 ^{aX}	5.81±0.02 ^{bYZ}	5.83±0.01 ^{bZ}	5.73±0.02 ^{cY}

* C: distilled water. R1: 6.67% rosehip infusion. R2: 10% rosehip infusion. R3: 13.33% rosehip infusion. ^{a-c} Different letters in the same row indicate a significant difference. ^{x-z} Different letters in the same column indicate a significant difference ($P < 0.05$). Data were presented as the mean \pm standard deviation.

Instrumental Color Parameters

The color of poultry meat is an important quality parameter as the visual appearance of meat ultimately impacts the consumer's purchasing decision and the final acceptance of the cooked

product during consumption (Nusairat et al., 2022). Color parameters of the samples (L^* , a^* , and b^*) are presented in Table 5, and color indices (Hue angle, Chroma, and ΔE) are shown in Table 6. The marination process significantly affected

the color of the turkey breast meat ($P < 0.05$). Marinating with rosehip infusion has caused the samples to have lower brightness and higher redness and yellowness values compared to the control samples. The increase in a^* (redness) and b^* (yellowness) values can be explained by the reddish-yellow color displayed by rosehip infusion. In contrast to our findings, acid-marinated turkey breast samples showed notably higher L^* values in comparison to the control, as documented by Serdaroglu et al. (2007). A

comparable result was noted in turkey breast samples marinated and cooked with black mulberry, red grape, and pomegranate, as indicated by a reduction in L^* values and an increment in a^* and b^* values (Gök and Bor, 2016). The variation in the quantities of color contributing substances in marinade formulation can result in differing marinade colors, thereby influencing the appearance of marinated meat (Serdaroglu et al., 2007).

Table 5 Color parameters of turkey breasts

Treatments*	Storage	C	R1	R2	R3
L^*	0	67.52±1.57 ^{a,Y}	60.63±1.25 ^b	61.21±1.19 ^{b,X}	52.93±0.69 ^{c,Y}
	3	70.98±1.74 ^{a,X}	61.53±1.15 ^c	61.33±1.09 ^{b,X}	51.78±1.29 ^{c,Y}
	5	73.44±1.32 ^{a,X}	61.62±1.78 ^b	55.64±0.78 ^{d,Z}	58.10±0.61 ^{c,X}
	7	72.76±1.39 ^{a,X}	61.15±0.65 ^b	58.40±0.17 ^{c,Y}	57.47±0.35 ^{c,X}
a^*	0	4.53±0.26 ^{c,X}	8.75±0.27 ^{b,Y}	8.63±0.26 ^{b,Y}	9.74±0.44 ^{a,Y}
	3	1.58±0.33 ^{c,Z}	10.86±0.46 ^{a,X}	7.31±0.21 ^{b,Z}	10.41±0.37 ^{a,X}
	5	0.52±0.23 ^{d,T}	6.47±0.43 ^{c,Z}	9.40±0.28 ^{a,X}	7.71±0.34 ^{b,Z}
	7	2.36±0.44 ^{b,Y}	6.98±0.57 ^{a,Z}	7.31±0.48 ^{a,Z}	7.56±0.13 ^{a,Z}
b^*	0	13.87±0.34 ^c	21.63±0.32 ^{a,X}	17.00±1.52 ^{b,Y}	21.06±0.49 ^{a,X}
	3	14.06±0.86 ^d	21.79±0.15 ^{a,X}	16.31±0.40 ^{c,Y}	20.30±0.63 ^{b,X}
	5	13.86±0.55 ^c	14.88±0.97 ^{c,Y}	19.10±0.60 ^{a,X}	17.55±0.09 ^{b,Y}
	7	14.59±0.35 ^b	14.88±0.99 ^{b,Y}	15.55±0.48 ^{b,Y}	16.93±0.39 ^{a,Y}

* C: distilled water. R1: 6.67% rosehip infusion. R2: 10% rosehip infusion. R3: 13.33% rosehip infusion. ^{a-d} Different letters in the same row indicate a significant difference ($P < 0.05$). ^{X-T} Different letters in the same column indicate a significant difference ($P < 0.05$). Data were presented as the mean ± standard deviation.

Table 6 Color indices of turkey breasts

Treatments*	Color indices		
	Hue angle	Chroma	ΔE
C	71.90±1.23 ^a	14.59±0.29 ^c	-
R1	67.99±0.49 ^b	23.33±0.36 ^a	11.22±1.19 ^b
R2	63.01±1.37 ^d	19.07±1.47 ^b	9.54±1.96 ^b
R3	65.19±0.49 ^c	23.20±0.63 ^a	17.11±0.98 ^a

* C: distilled water. R1: 6.67% rosehip infusion. R2: 10% rosehip infusion. R3: 13.33% rosehip infusion. ^{a-d} Different letters in the same column indicate a significant difference ($P < 0.05$). Data were presented as the mean ± standard deviation.

The storage period was found to have an effect on the color values of the samples. During storage, the L^* values of the R1 samples remained constant, while an increase was observed in the control and R3 samples, and a decrease in the R2 samples. At the end of the storage, the a^* value was found to be lower in all sample groups

compared to the initial value. While the yellowness of the control samples remained unchanged during storage, the yellowness of all experimental groups infused with rosehip infusion decreased during storage.

The hue angle represents the transition of color between red and yellow, with greater angles indicating a reduced presence of red in the product (Tapp et al., 2011). Due to having the highest ($P < 0.05$) hue angle value, the C treatment exhibits lower redness in comparison to the treatments marinated with rosehip infusion. This finding is in alignment with the results of a^* value measurements (Table 5). For meat products, chroma value refers to the intensity or saturation of color present on the meat's surface. Consistent with the hue angle findings, the C treatments can be characterized as having a diminished chroma value ($P < 0.05$) compared to the other samples, implying a "muted or pale" appearance. Conversely, the samples marinated with rosehip infusion exhibited more vivid and intense colors. Additionally, it was observed that chicken breast muscle treated with acidic solutions displayed notably elevated chroma values (Gheisari and Motamedi, 2010). The measurement of the total color difference (ΔE) was conducted between the marinated and the control samples. The ΔE values of samples were determined as 11.22 and 9.54, respectively, with no statistically significant difference observed between these groups ($P > 0.05$). Since these values are higher than 6, it can be said that there is a noticeable color difference compared to the control. Since the ΔE value of the R3 group is greater than 12, there is a substantial and distinct color difference compared to the control group, implying that panelists would readily perceive this distinction. A similar result has been observed in chicken breast samples marinated with grapefruit and lemon juice (Gheisari and Motamedi, 2010).

Oxidative Changes

Lipid peroxidation plays a significant role in reducing the quality of meat and meat products during storage. This process can lead to undesirable changes in flavor, color, texture, and nutritional value, while also resulting in the production of toxic compounds (Taheri et al., 2018). In order to evaluate the lipid oxidation, samples were subjected to peroxide analysis and the peroxide values are presented in Table 7. When examining the initial peroxide values of the samples, it is observed that there is no significant difference. The impact of marination with rosehip infusion on peroxide values was not found to be statistically significant during the 0th and 3rd days of storage ($P > 0.05$). On the other hand, the highest peroxide value (2.0 meqO₂/kg) was observed in the R3, while the lowest value (1.03 meqO₂/kg) was recorded in the C group on the 5th day of the storage ($P < 0.05$). Previous researchers reported that marinating turkey breast muscles in acetic acid, and chitosan + cumin caused lower peroxide values than the control (Taheri et al., 2018). On the 7th day, the peroxide values ranged between 1.33 and 2.50 meqO₂/kg. Except for C and R2, the peroxide values of samples decreased steadily during the storage period. This phenomenon can be associated with the conversion of hydroperoxides into secondary oxidation products. The peroxide values observed in all samples remained considerably lower than the suggested acceptable threshold of 10 meq O₂/kg of meat fat, as indicated by Evranuz (1993).

Table 7 Peroxide values (meqO₂/kg) of turkey breasts

Treatments*	Storage	C	R1	R2	R3
	0	3.45±0.42 ^X	3.46±0.12 ^X	4.10±0.78 ^X	3.30±0.46 ^X
Peroxide value	3	2.33±0.30 ^Y	2.13±0.81 ^Y	1.80±0.40 ^{YZ}	2.13±0.46 ^Y
	5	1.03±0.06 ^{d.Z}	1.79±0.02 ^{b.Y}	1.57±0.06 ^{c.Z}	2.00±0.01 ^{a.Y}
	7	2.16±0.20 ^{b.Y}	1.33±0.10 ^{c.Y}	2.50±0.19 ^{a.Y}	1.33±0.11 ^{c.Y}

* C: distilled water. R1: 6.67% rosehip infusion. R2: 10% rosehip infusion. R3: 13.33% rosehip infusion. ^{a-d} Different letters in the same row indicate a significant difference ($P < 0.05$). ^{X-Z} Different letters in the same column indicate a significant difference ($P < 0.05$).

The TBARS values of the turkey breasts are given in Table 8. The TBARS values ranged between 0.14 (R3) and 1.27 (C) mg MA/kg at the beginning of the storage, while no significant differences were recorded between R1 and R2 treatments ($P > 0.05$). During each measurement period throughout storage, the TBARS values of marinated samples were found to be lower than the control sample. TBARS values at each evaluating period were significantly higher in control samples compared to marinated

counterparts. The probable cause behind the marinated samples, exhibiting lower TBARS values compared to the control samples, can be attributed to the presence of vitamin C and phenolic compounds. The antioxidative activity of rose hip is attributed to its rich levels of vitamin C and total phenolic content, as demonstrated by Larsen et al. (2003). Furthermore, Gruenwald et al. (2019) reported that vitamin E and carotenoids are also recognized as components that play a role in enhancing antioxidative activity.

Table 8 TBARS values (mg MA/kg sample) of turkey breasts

Treatments*	Storage	C	R1	R2	R3
TBARS	0	1.27±0.04 ^{a,Z}	0.26±0.11 ^{b,Z}	0.29±0.01 ^{b,Z}	0.14±0.01 ^{c,T}
	3	1.46±0.11 ^{a,Y}	0.43±0.06 ^{b,Y}	0.24±0.01 ^{c,T}	0.25±0.01 ^{c,Z}
	5	0.90±0.03 ^{a,T}	0.58±0.02 ^{b,X}	0.52±0.03 ^{c,Y}	0.58±0.16 ^{b,Y}
	7	1.91±0.02 ^{a,X}	0.63±0.01 ^{c,X}	0.64±0.01 ^{c,X}	0.67±0.01 ^{c,X}

* C: distilled water. R1: 6.67% rosehip infusion. R2: 10% rosehip infusion. R3: 13.33% rosehip infusion. ^{a-c} Different letters in the same row indicate a significant difference ($P < 0.05$). ^{X-T} Different letters in the same column indicate a significant difference ($P < 0.05$).

On the 7th day, while the highest value was found in C, the lowest value was observed in R1 and R2. TBARS values of C, R1, and R3 treatments increased until day 3. Overall, the differences among marinated samples were not statistically significant on the 7th day of storage. TBARS levels in all treatments remained below the acceptable rancidity level (<2 mg Malonaldehyde/kg) (Witte et al., 1970).

CONCLUSION

The utilization of marinades containing various concentrations of rosehip in turkey breast samples enhanced the textural and technological properties of the samples. Additionally, due to the high antioxidative effect of rosehip, it was observed that the samples were protected against lipid oxidation. While there was a significant increase in the a^* and b^* values of the turkey breast sample, no adverse effects were detected in their chemical composition. Therefore, it can be suggested that rosehip powder at a level of 133 g/L may be a natural alternative source for use as a marination solution. Further studies might be conducted to evaluate the shelf life and storage conditions of turkey breast fillets treated with rosehip infusion marination. This could address

practical concerns related to the applicability of rosehip infusion as a marination solution on an industrial scale.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this study.

CONTRIBUTIONS

MS: Project administration and methodology, conceptualization, supervision, data curation and data analysis, writing original draft; ÖYB: Conceptualization, supervision, formal analysis, resources, data curation and data analysis, writing original draft; MK: Formal analysis, resources, writing original draft.

REFERENCES

Afrin, S., Gasparrini, M., Forbes-Hernandez, T.Y., Reboledo-Rodriguez, P., Mezzetti, B., Varela-López, A., Giampieri, F., Battino, M. (2016). Promising health benefits of the strawberry: a focus on clinical studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(22):4435-4449. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00857>

- Alvarado, C., McKee, S. (2007). Marination to improve functional properties and safety of poultry meat. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(1): 113-120. <https://doi.org/10.1093/japr/16.1.113>
- AMSA (2012). Meat color measurement guidelines. American Meat Science Association.
- AOAC (2012) 19th ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD, USA.
- Augustyńska-Prejsnar, A., Ormian, M., Kluz, M., Sokołowicz, Z. (2019). Effect of using acid whey for marinating chicken breast muscles in organic production. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 281-287. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2019.v31.i4.1940>
- Barbanti, D., Pasquini, M. (2005). Influence of cooking conditions on cooking loss and tenderness of raw and marinated chicken breast meat. *LWT-Food Science and Technology*, 38(8):895-901. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.08.017>
- Bhat, Z.F., Morton, J.D., Mason, S.L., Bekhit, A.E.D.A. (2018). Applied and emerging methods for meat tenderization: A comparative perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4): 841-859. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12356>
- Çelen, M.F., Söğüt, B., Zorba, Ö., Demirulus, H., Tekeli, A. (2016). Comparison of normal and PSE turkey breast meat for chemical composition, pH, color, myoglobin, and drip loss. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45:441-444. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902016000800003>
- Çınar, İ., Çolakoğlu, A.S. (2004). Potential health benefits of rose hip products. In *I International Rose Hip Conference*, 690. 253-258. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.690.39>
- Dilek, N.M., Babaoğlu, A.S., Unal, K., Ozbek, C., Pırlak, L., Karakaya, M. (2023). Marination with aronia, grape and hawthorn vinegars affects the technological, textural, microstructural and sensory properties of spent chicken meat. *British Poultry Science*, 64(3):357-363. <https://doi.org/10.1080/00071668.2022.2163616>
- Ehsanur Rahman, S.M., Islam, S., Pan, J., Kong, D., Xi, Q., Du, Q., Yang, Y., Wang, J., Oh, D.H., Han, R. (2023). Marination ingredients on meat quality and safety-A review. *Food Quality and Safety*, 7. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyad027>
- Evranuz, Ö.E. (1993). The effects of temperature and moisture content on lipid peroxidation during storage of unblanched salted roasted peanuts: shelf life studies for unblanched salted roasted peanuts, *International Journal of Food Science and Technology*, 28:193-199. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb01264.x>
- Fan, C., Pacier, C., Martirosyan, D.M. (2014). Rose hip (*Rosa canina* L): A functional food perspective. *Functional Foods in Health and Disease*, 4(12):493-509. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v4i12.159>
- Fencioglu, H., Oz, E., Turhan, S., Proestos, C., Oz, F. (2022). The Effects of the marination process with different vinegar varieties on various quality criteria and heterocyclic aromatic amine formation in beef steak. *Foods*, 11(20). <https://doi.org/10.3390/foods11203251>
- Flynn, A.W., Bramblett, V.D. (1975). Effects of frozen storage, cooking method and muscle quality on attributes of pork loins. *Journal of Food Science*, 40(3):631-633. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1975.tb12544.x>
- García-Segovia, P., Moreno, M. J. P., Martínez-Monzó, J. (2014). Texture in meat and fish products. *Methods in Food Analysis*, Pages-76.
- Gheisari, H.R., Motamedi, H. (2010). Chloride salt type/ionic strength and refrigeration effects on antioxidant enzymes and lipid oxidation in cattle, camel and chicken meat. *Meat Science*, 86(2):377-383. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.020>
- Gök, V., Bor, Y. (2016). Effect of marination with fruit and vegetable juice on the some quality characteristics of turkey breast meat. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 18:481-488. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0225>
- Goli, T., Ricci, J., Bohuon, P., Marchesseau, S., Collignan, A. (2014). Influence of sodium chloride and pH during acidic marination on water retention and mechanical properties of

- turkey breast meat. *Meat Science*, 96(3):1133-1140. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.031>
- Grajeda-Iglesias, C., Salas, E., Barouh, N., Baréa, B., Panya, A., Figueroa-Espinoza, M.C. (2016). Antioxidant activity of protocatechuates evaluated by DPPH, ORAC, and CAT methods. *Food Chemistry*, 194:749-757. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.119>
- Gruenwald, J., Uebelhack, R., Moré, M.I. (2019). Rosa canina–Rose hip pharmacological ingredients and molecular mechanics counteracting osteoarthritis—A systematic review. *Phytomedicine*, 60. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152958>
- Hughes, E., Cofrades, S., Troy, D.J. (1997). Effects of fat level, oat fibre and carrageenan on frankfurters formulated with 5, 12 and 30% fat. *Meat Science*, 45(3):273-281. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(96\)00109-X](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(96)00109-X)
- Kaewthong, P., Wattanachant, S. (2018). Optimizing the electrical conductivity of marinade solution for water-holding capacity of broiler breast meat. *Poultry Science*, 97(2):701-708. <https://doi.org/10.3382/ps/pex334>
- Kalaycıoğlu, Z., Erim, F.B. (2019). Nitrate and nitrites in foods: worldwide regional distribution in view of their risks and benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(26):7205-7222. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01194>
- Karhan, M., Aksu, M., Tetik, N., Turhan, I. (2004). Kinetic modeling of anaerobic thermal degradation of ascorbic acid in rose hip (*Rosa Canina* L) pulp. *Journal of Food Quality*, 27(5):311-319. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2004.00638.x>
- Koczka, N., Stefanovits-Bányai, É., Ombódi, A. (2018). Total polyphenol content and antioxidant capacity of rosehips of some *Rosa* species. *Medicines*, 5(3). <https://doi.org/10.3390/medicines5030084>
- Larsen, E., Kharazmi, A., Christensen, L.P., Christensen, S.B. (2003). An antiinflammatory galactolipid from Rose hip (*rosa c anina*) that inhibits chemotaxis of human peripheral blood neutrophils in vitro. *Journal of Natural Products*, 66(7):994-995. <https://doi.org/10.1021/np0300636>
- Lyon, B.G., Hamm, D. (1986). Effects of mechanical tenderization with sodium chloride and polyphosphates on sensory attributes and shear values of hot-stripped broiler breast meat. *Poultry Science*, 65(9):1702-1707. <https://doi.org/10.3382/ps.0651702>
- Nile, S.H., Park, S.W. (2014). Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30(2):134-144. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.04.007>
- Novaković, S., Tomašević, I. (2017). A comparison between Warner-Bratzler shear force measurement and texture profile analysis of meat and meat products: A review. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 85(1): 012063. IOP Publishing.
- Nusairat, B., Tellez-Isaias, G., Qudsieh, R. (2022). An overview of poultry meat quality and myopathies. In: *Broiler Industry*, Guillermo Tellez-Isaias, Juan D. Latorre, Yordan Martínez-Aguilar (Eds.). DOI: 10.5772/intechopen.104474
- Offer, G., Knight, P. (1988). The structural basis of water-holding in meat. *Developments in Meat Science*, R. Lawrie (Ed.), Elsevier Applied Science, 89-190.
- Önenç, A., Serdaroglu, M., Abdraimov, K. (2004). Effect of various additives to marinating baths on some properties of cattle meat. *European Food Research and Technology*, 218:114-117. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0828-7>
- Orhan, D.D., Özlük, Ö., Coskun, S.H. (2012). Antioxidant capacities, ascorbic acid and total phenol contents of the plants sold as rose hip in Turkey. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37(3):161-167.
- Rivera Toapanta, E.A., Oruna, M.J., Terriente, C., Gonzalez, J., Guerrero, L., Claret, A., Paker, J., Gil, M., Oliver, M.A. (2022). Effects of rose hip (*Rosa canina* L.) extract as a natural ingredient on the nutritional composition, oxidative stability and sensory attributes of raw and cooked pork patties from Majorcan Black pig breed under retail conditions. *Acta Scientifc Nutritional Health*,

- 6(7):123-139. <https://doi.org/10.31080/ASNH.2022.06.1086>
- Saricaoglu, F.T., Atalar, I., Yilmaz, V.A., Odabas, H.I., Gul, O. (2019). Application of multi pass high pressure homogenization to improve stability, physical and bioactive properties of rosehip (*Rosa canina* L.) nectar. *Food Chemistry*, 282:67-75. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.002>
- Sasaki, K., Motoyama, M., Narita, T., Hagi, T., Ojima, K., Oe, M., Nakajima, I., Kitsunai, K., Saito, Y., Hatori, H., Muroya, S., Nomura, M., Miyaguchi, Y., Chikuni, K. (2014). Characterization and classification of Japanese consumer perceptions for beef tenderness using descriptive texture characteristics assessed by a trained sensory panel. *Meat Science*, 96(2):994-1002. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.021>
- Sengun, I.Y., Turp, G.Y., Cicek, S.N., Avci, T., Ozturk, B., Kilic, G. (2021). Assessment of the effect of marination with organic fruit vinegar on safety and quality of beef. *International Journal of Food Microbiology*, 336, 108904. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108904>
- Serdaroglu, M., Abdraimov, K., Onenc, A. (2007). The effects of marinating with citric acid solutions and grapefruit juice on cooking and eating quality of turkey breast. *Journal of Muscle Foods*, 18(2): 162-172. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.2007.00074.x>
- Taheri, T., Fazlara, A., Roomiani, L., Taheri, S. (2018). Effect of chitosan coating enriched with cumin (*Cuminum cyminum* L.) essential oil on the quality of refrigerated turkey breast meat. *Italian Journal of Food Science*, 30(3). <https://doi.org/10.14674/IJFS-1158>
- Tapp Iii W.N., Yancey, J.W.S., Apple, J.K. (2011). How is the instrumental color of meat measured?. *Meat Science*, 89(1):1-5. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.11.021>
- Ünal, K., Alagöz, E., Çelik, İ., Sarıçoban, C. (2022). Marination with citric acid, lemon, and grapefruit affects the sensory, textural, and microstructure characteristics of poultry meat. *British Poultry Science*, 63(1):31-38. <https://doi.org/10.1080/00071668.2021.1963674>
- Van de Velde, F., Esposito, D., Grace, M.H., Pirovani, M.E., Lila, M.A. (2019). Anti-inflammatory and wound healing properties of polyphenolic extracts from strawberry and blackberry fruits. *Food Research International*, 121:453-462. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.059>
- Vlaicu, P.A., Untea, A.E., Turcu, R.P., Panaite, T.D., Saracila, M. (2022). Rosehip (*Rosa canina* L.) Meal as a Natural Antioxidant on Lipid and Protein Quality and Shelf-Life of Polyunsaturated Fatty Acids Enriched Eggs. *Antioxidants*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/antiox11101948>
- Witte, V.C., Krause, G.F., Bailey, M.E. (1970). A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *Journal of Food Science*, 35(5):582-585. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1970.tb04815.x>
- Xiong, G., Fu, X., Pan, D., Qi, J., Xu, X., Jiang, X. (2020). Influence of ultrasound-assisted sodium bicarbonate marination on the curing efficiency of chicken breast meat. *Ultrasonics Sonochemistry*, 60: 104808. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104808>
- Yilmaz, F.M., Karaaslan, M., Vardin, H. (2015). Optimization of extraction parameters on the isolation of phenolic compounds from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) pomace. *Journal of Food Science and Technology*, 52:2851-2859. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1345-3>

NUGGET ÜRETİMİNDE FARKLI ORANLARDA BEYAZ ŞERİT PROBLEMLİ TAVUK GÖĞÜS ETİNİN KULLANIMI

Orhan Özünü*, Fazilet Ceyda Yüksel, Haluk Ergezer

Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Denizli, Türkiye

Geliş/Received: 12.01.2024; Kabul /Accepted: 26.02.2024; Online baskı /Published online: 01.03.2024

Özünlü, O., Yüksel, F. C., Ergezer, H. (2024). Nugget üretiminde farklı oranlarda beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etinin kullanımı. GIDA (2024) 49 (2) 252-268 doi: 10.15237/ gida.GD24014

Özünlü, O., Yüksel, F. C., Ergezer, H. (2024). The usage of chicken breast meat added with different rate of white stripe problem meats in production of chicken nuggets. GIDA (2024) 49 (2) 252-268 doi: 10.15237/ gida.GD24014

ÖZ

Bu çalışmada, orta dereceli beyaz şerit problemine sahip tavuk göğüs etlerinin nugget üretiminde kullanılabilme potansiyeli araştırılmış ve depolama boyunca (-18°C, 90 gün) farklı oranlarda (%0, 20, 40, 80 ve 100) beyaz şerit problemlili et ilavesiyle üretilen tavuk nuggetların fizikokimyasal özelliklerinde (pH, renk, TBARS ve tekstür profili) meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. Nuggetların üretiminde kullanılan beyaz şeritli problemlili et miktarının artışıyla örneklerdeki nem, protein ve kül miktarının azaldığı yağ miktarının ise arttığı gözlenmiştir. En yüksek kaplama yüzdesine 100N kodlu örneğin (%46.33) sahip olduğu ve 100N ile 20BŞ kodlu örnekler arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Beyaz şeritli et miktarının artışıyla örneklerdeki pişirme kayıpları ve pişirme verimi sonuçlarında bir dalgalanmanın olduğu görülmüştür. Depolamanın başlangıcında en düşük pH değerine 100N kodlu örneğin (5.83) sahip olduğu ve gruplar arasında önemli farklılıkların olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$). Depolama boyunca (-18°C, 90 gün) genellikle tüm örneklerin elastikiyet, adeziv yapışkanlık ve çiğnenebilirlik, sarılık ve TBARS değerlerinde bir artışın sertlik, parlaklık ve kırmızılık değerlerinde ise önemli düşüşler saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: tavuk göğüs eti, beyaz şerit problemi, nugget, fizikokimyasal özellikler

THE USAGE OF CHICKEN BREAST MEAT ADDED WITH DIFFERENT RATE OF WHITE STRIPE PROBLEM MEATS IN PRODUCTION OF CHICKEN NUGGETS

ABSTRACT

In this study, it was to investigate the potential of using chicken breast meats with moderate white stripe problem in the production of chicken nuggets and study changes occurred in physicochemical properties (pH, color, TBARS and texture profile) of chicken nuggets added to different rates (0, 20, 40, 80 and 100%) of white stripe problem meat during storage (-18°C, 90 days). With the increment of white stripe meat using in the production of chicken nugget, the moisture, protein and ash content of all samples increased and decreased fat content in the samples. The 100N sample (46.33%) had the highest coating percentage and there were no significant differences between 100N and 20BŞ samples ($P > 0.05$). With the increment of white stripe meat in chicken nugget, there was a fluctuation in the cooking losses and cooking efficiency of the nuggets. At the beginning of the storage, the

* Sorumlu yazar / Corresponding author

✉ :orhan1907gfb@hotmail.com.tr

☎ (+90) 258 296 3104

Orhan Özünü; ORCID no: 0000-0001-8633-253X

Fazilet Ceyda Yüksel; ORCID no: 0000-0001-5031-8365

Haluk Ergezer; ORCID no: 0000-0001-7489-165X

100N samples had the lowest pH value and there were significant differences among the samples ($P < 0.05$). In general, the elasticity, adhesiveness, chewiness, yellowness and TBARS value of the all samples increased while the hardness, lightness and redness value decreased in nugget samples during storage (-18°C, 90 days).

Keywords: chicken breast meat, white strip problem, nugget, physicochemical properties

GİRİŞ

2019 yılının aralık ayında Çin'in Vuhan kentinde ortaya çıkan ve buradan dünyanın tamamına yayılan Kovid-19 salgını başta sağlık olmak üzere ekonomi, gıda, sanayi gibi birçok sektörde çok ciddi problemlere yol açmıştır. Salgınla birlikte ürün tedarikinde önemli aksaklıklar yaşanmış ve bu durum başta et endüstrisi olmak üzere gıda sektöründe üretim maliyetlerinin artışına neden olmuştur. Üretim maliyetinde yaşanan artışlar ve hayvancılıkla uğraşan nüfusun azalmasıyla birlikte bireylerin hayvansal kökenli protein kaynaklarına ulaşmaları da zorlaşmıştır.

İnsanoğlunun yeterli ve dengeli beslenebilmesi için hayvansal ürünleri belirli sınırlar çerçevesinde tüketmesi gerekir. Bu bağlamda tavuk, hindi, kaz gibi kanatlı hayvan etleri bireylerin günlük protein ihtiyacının karşılanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Tavuk ve hindi göğüs etleri biyoaktif peptidler, proteinler, uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri, vitaminler, mineraller ve antioksidanca zengin gıdalardandır (Mudalal, 2019; Przybylski vd., 2021; Zampiga vd., 2018).

Yaşanan olumsuz gelişmeler sonucu maliyetlerin artmasıyla birlikte et ve et ürünlerine olan talep gitgide azalmıştır. Et endüstrisinde yaşanan fiyat artışına rağmen kanatlı eti ve ürünlerinin hali hazırda kırmızı et ve ürünlerine göre fiyatının daha düşük olduğu görülür. Ülkemizde 2019 yılında kişi başına düşen kanatlı eti miktarı 21.03 kg (tavuk eti: 20.47 kg; hindi eti: 0.56 kg) iken 2020 yılında 21.19 kg (tavuk eti: 20.68 kg; hindi eti: 0.51 kg) seviyesine yükselmiştir. (Besd-bir, 2021). Dünya'da kanatlı etine yönelik herhangi bir kültürel ve dini kısıtlamanın olmaması, fiyatının düşük olması, yemden yararlanma oranının yüksek olması ve endüstriyel tarzda teknolojiye uygunluğu gibi nedenlerden dolayı kanatlı eti tüketiminin arttığı görülür (Petracci vd., 2013). 2015 yılında dünyada kişi başına düşen kanatlı eti miktarının 15.8 kg olduğu ve 2015'ten 2019 yılına gelindiğinde ise bu miktarın 16.9 kg seviyelerine

çıktığı görülmüştür (Besd-bir, 2021). Son yıllarda, kanatlı endüstrisi, artan bu talebi karşılamak üzere tavuk, hindi gibi kanatlı hayvanların büyüme hızlarını ve karkas randımanını artırmak için Ar-Ge çalışmaları büyük ivme kazandırmıştır (Mudalal vd., 2015). Bu amaçla özellikle broilerlerde uygulanan genetik seleksiyon çalışmaları sonucu olumlu değişikliklerin yanı sıra birtakım olumsuz değişiklikler de meydana gelmektedir. Bu değişikliklerin başında broilerlerin göğüs filetosunda bulunan *Pectoralis major* kası başta olmak üzere bu hayvanların çeşitli kaslarında aşırı yağ ve kolajen birikimi, sertodunsu yapı, beyaz şerit ve spagetti göğüs gibi önemli miyopatiler ortaya çıkmaktadır (Petracci vd., 2012; Zuidhof vd., 2014). Beyaz şerit (white strip) problemi, kanatlı etlerinin göğüs filetosunda bulunan *Pectoralis major* kasına paralel olarak uzanan ve kusurlu kas lifinin kalınlığına bağlı olarak orta (<1 mm) ve şiddetli (>1 mm) ölçekte derecelendirilen önemli bir kas kusurudur (Adabi ve Soncu, 2019). Ayrıca, beyaz şerit problemi, etin duysal, fiziksel ve kimyasal özelliklerinde olumsuz birtakım değişikliklere neden olarak tüketicilerin satın alma tercihlerini olumsuz yönde etkilemektedir. Hem kanatlı endüstrisi hem de bilim insanları bu problemin ortadan kaldırılmasına yönelik çeşitli çalışmaları gerçekleştirmelerine rağmen şu ana kadar önemli mesafeler katedilmemiştir (Baldi vd., 2018; Kuttappan vd., 2017; Maiorano, 2017; Petracci vd., 2015; Zaid vd., 2020). Normal etle karşılaştırıldığında, beyaz şerit problemlili etin yağ içeriğinin daha yüksek protein içeriğinin ise daha düşük olduğu belirtilmiştir (Soglia vd., 2018). Ayrıca, beyaz şerit problemlili etlerin su tutma ve su bağlama kapasitelerinin düşük olduğu ve bu durumun etin işlenmesi, pişirilmesi ve depolanması sırasında yüksek sızıntı suyu ve pişirme kaybına, pişirme veriminde düşüş gibi olumsuz birtakım değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla bu tür etlerin doğrudan taze tüketimle değerlendirilemeyeceği ancak sosis, salam, nugget gibi ileri işlenmiş ürünlerin

üretiminde paçallanarak kullanılabilceği öngörülmektedir.

Bu çalışmada, nugget üretiminde farklı oranlarda (%0, 20, 40, 80 ve 100) orta dereceli olarak tanımlanan beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etlerinin kullanılabilme potansiyeli araştırılıp depolama boyunca (-18°C, 90 gün) örneklerin kalite karakteristiklerinde (pH, renk, TBARS ve tekstür profili analizi) meydana gelen değişiklikler incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmada kullanılan tavuk göğüs etleri (normal ve orta dereceli beyaz şerit problemlili etler) ve nugget üretiminde kullanılan sıvı ve kuru kaplama karışımları ticari bir işletmeden temin edilmiştir (Gedik Piliç A.Ş., Uşak). Nugget formülasyonunda kullanılan diğer bileşenler (galeta unu, ayçiçek yağı, karabiber, kimyon, soğan tozu, tuz) ise Denizli ilinde bulunan yerel bir süpermarketten satın alınmıştır (Gün Süpermarket, Denizli). Ayrıca, nuggetların paketlenmesinde kullanılan plastik kaplar (500 g'lık) Denizli ilinde bulunan yerel bir işletmeden temin edilmiştir.

Nuggetların üretimi ve paketlenmesi

Temin edilen normal ve orta dereceli beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etleri aseptik koşullar altında 3 mm çaplı delikli aynaya sahip kıyma makinesinden (PM-70, Mainca, Barselona, İspanya) geçirilmiş ve ardından kıymalar farklı oranlarda paçallanarak 5 farklı grup (100N: %100 normal tavuk göğüs etinden oluşturulmuş grup; 20BŞ: %20 beyaz şerit problemlili et+%80 normal tavuk göğüs eti; 40BŞ: %40 beyaz şerit problemlili et+%60 normal tavuk göğüs eti; 80BŞ: %80 beyaz şerit problemlili et+%20 normal tavuk göğüs eti; 100BŞ: %100 beyaz şerit problemlili tavuk göğüs eti) oluşturulmuştur. Daha sonra her bir kıyma formülasyonuna %1 tuz, %3 soğan tozu, %0.5 kimyon, %0.5 karabiber ilave edilmiş ve manuel olarak elle yaklaşık 15 dk boyunca yoğurulmuştur. Ardından nugget hamuruna paslanmaz çelikten imal edilmiş şekil vericilerle (5 cm çapında, 1 cm kalınlığında) şekilleri verilmiş ve ardından nuggetların üretiminde kullanılan kaplama

materyallerinin yapışma verimini artırmak için örnekler buzdolabında (Uğur, UES 273 D2K, Türkiye) yaklaşık 1 saat süreyle muhafaza edilmiştir. Buzdolabından çıkarılan köfteler Gedik Piliç'ten temin edilen sıvı kaplama solüsyonuna (un, kapyoka nişastası, mısır nişastası ve tuz) yaklaşık 10 saniye süreyle daldırılmıştır. Sıvı kaplama solüsyonunun hazırlanmasında öncelikle plastik bir kabın içerisine 45°C sıcaklığa ayarlanmış içme suyu (yaklaşık 2 L) ilave edilmiş ve içerisine Gedik Piliç'ten temin edilen sıvı kaplama materyal karışımı ilave edilip karışım metal bir kepçe yardımıyla 30 saniye süreyle karıştırılmıştır. Daldırma işleminden sonra örnekler yine Gedik Piliç'ten temin edilen kuru kaplamaya (galeta unu, zerdeçal ve paprika) bulanmış ve ardından köfteler Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Et ve Et Ürünleri Laboratuvarında bulunan fritözün (Korkmaz, A 486, Vertex, Türkiye) içerisine yerleştirilmiş ve köftelerin merkez sıcaklığı 72°C oluncaya kadar (yaklaşık 180°C, 3 dakika) ayçiçek yağı içerisinde kızartılmıştır. Köftelerin merkez sıcaklığı ve fritözün sıcaklığı termokupl cihazı (Weston 266200 CHE, Amerika) kullanılarak kontrol edilmiştir. Kızartılan nuggetlar metal bir tepsi içerisine alınarak oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ardından 500 g'lık plastik kapların içerisine yerleştirilip etiketlenerek derin dondurucuda (Uğur UED 5160 DTK, Türkiye) -18°C'de 90 gün boyunca muhafaza edilmiştir.

Analizler

Kimyasal kompozisyon

Derin yağda kızartılan nugget örneklerinin nem, protein ve kül içerikleri AOAC (2006) yöntemine göre belirlenmiştir. Örneklerdeki yağ içeriği ise Flynn ve Bramblett (1975) tarafından geliştirilen yöntemine göre yapılmıştır. Ayrıca, nugget örneklerinde karbonhidrat miktarının hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

Karbonhidrat miktarı, % = 100 - (nem + protein + yağ + kül miktarı)

Kaplama tutunma yüzdesi

Nuggetların üretiminde kullanılan kaplama materyalinin ürünün her tarafına homojen bir şekilde dağılması ve burada tutunması gerekir.

Çünkü nuggetlarda istenilen çıtırılığı ve gevrekliğı üretimde kullanılan sıvı ve kuru kaplama materyalleri sağlamaktadır. Bu çalışmada, nuggetlar kaplama öncesi ve sonrasında tartılmış ve nuggetlara yapışan kaplamanın ağırlıkça yüzdesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Gökçe vd., 2016).

$$\% \text{Yapışan kaplama} = \frac{C-I}{I} \times 100$$

C: Çiğ kaplanmış nugget ağırlığı (g)

I: Çiğ kaplanmamış nugget ağırlığı (g)

Pişirme kaybı

Kaplanıp kızartılmış örneklerin pişirme kayıpları aşağıdaki formülde ağırlık esasına göre belirlenmiştir (Rahimi vd., 2018).

$$\text{Pişirme kaybı} = \frac{Wc - Wf}{Wc} \times 100$$

Wc: Kaplamalı pişmemiş nugget ağırlığı (g)

Wf: Kızartılmış nugget ağırlığı (g)

Toplam pişirme verimi

Toplam pişirme verimi analizi, önce sıvı daha sonra ise kuru kaplanıp derin yağda kızartılan nuggetların ısı işlem öncesi ve sonrasında tartılması ile ortaya çıkan kayıplar esas alınarak aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (Pathera vd., 2017).

$$\% \text{Toplam Pişirme Verimi} = \left(\frac{Cw}{C} \right) \times 100$$

C_w: Pişmiş kaplamalı nugget ağırlığı (g)

C: Çiğ kaplamalı nugget ağırlığı (g)

pH ve renk tayini

Nugget örneklerinin pH değeriinde meydana gelen değerişikliklerin tespit edilmesinde dijital pH metre (Crison Basic 20+, İspanya) kullanılmıştır. pH değeriinin ölçülmesinde yaklaşık 10 g nugget örneğı alınıp kesi tahtasının üzerinde keskin bıçak yardımıyla küçük parçalar haline getirilmiş ve ardından örnekler küçük bir cam kavanozun içerisine yerleştirilip üzerine 100 ml saf su ilave edilmiştir. Daha sonra karışım homojenizatörde (HG-15A WiseTis, Kore) yaklaşık 2 dk süreyle parçalanmıştır. Parçalanmış karışımın içerisine pH elektrodu daldırılmış ve çıkan sonuçlar kaydedilmiştir. pH metrenin kalibrasyonunda

sırasıyla pH: 4, 7 ve 10 tamponları kullanılmıştır (Öznlü vd., 2018).

Depolama boyunca derin yağda kızartılmış nugget örneklerinin renk değeriinde (CIE L*, a* ve b*) meydana gelen değerişiklikleri tespit edebilmek için kalorimetre cihazı (Miniscan XE Plus, ABD) kullanılmıştır. Nugget örnekleri kaba filtre kağıtlarının üzerine yerleştirilmiş ve örneklerin yüzeyi taranarak 3 ayrı okumaları yapılmış ve çıkan sonuçlar kaydedilip istatistiksel analize tabi tutulmuştur. Kalorimetre cihazının kullanılabilmesinde öncelikle cihazın kalibre edilmesi gerekir. Bunun için kalorimetre cihazı önce siyah daha sonra ise beyaz plaka kullanılıp kalibrasyonu gerçekleştirilmiştir (Öznlü ve Ergezer, 2021).

TBARS değeri

Lipid oksidasyonu son ürünlerini saptamak amacıyla TBARS analizi Witte vd. (1970)'e göre yapılmıştır. 5 g örnek erlene tartılmış ve üzerine 50 ml %20'lik TCA çözeltisi ilave edilerek homojenizatörde (HG-15A WiseTis, Kore) 2 dakika süreyle parçalanmıştır. Karışım üzerine 50 ml su konularak 1 dk daha parçalanmış ve karışım 100 ml'lik balon jöjeye bir huniden filtre kağıdı yardımıyla süzölmüştür. Balon jöje 100 ml'ye 1:1 TCA/Su çözeltisi ile tamamlanmıştır. 5 ml süzöntü 100 ml'lik balon jöjeden alınıp deney tüpüne aktarılmıştır. Deney tüpünün üzerine 5 ml 0.02 M TBA çözeltisi ilave edilmiştir. Aynı şekilde 5 ml 1:1 TCA: su ve 0.02 M TBA ile kör numune hazırlanmıştır. Tüpler karıştırılarak 35 dk 80°C'deki su banyosunda bekletilmiş ve sonra soğutulmuştur. Süre sonunda rengi pembeye dönen örneklerin absorbensı 532 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometre ile ölçölmüştür. Absorbens değeriileri 5,2 faktörü ile çarpılarak kg üründeki oluşan mg malonaldehit miktarı hesaplanmıştır.

Tekstür profili analizi

Depolama boyunca nugget örneklerinin tekstüründe meydana gelen değerişikliklerin belirlenmesinde Pamukkale Üniversite Gıda Mühendisliğı Bölümü Temel İşlemler Laboratuvarında bulunan tekstür cihazı (Brookfield CT3-4500, ABD) kullanılmıştır.

Tekstür profili cihazı test tipi sıkıştırma, test hedefi yüklemeli, hedef değer 2 N, tetikleme yükü 0.020 N, test hızı 1 mm/sn ve TA 50 prob tipi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Silindirik plastik probu başlığı (38.1 mm çap ve 20 mm yükseklik) yardımıyla nuggetların üzerine uygulanan 2 defa sıkıştırma işlemi uygulanarak ürünün çeşitli tekstürel (sertlik, adezif yapışkanlık ve çıgnenebilirlik) özelliklerine bakılmıştır. Bunun için her bir örnek grubundan ikişer adet alınıp tekstür cihazının haznesine yerleştirilmiş ve ardından çıkan sonuçlar kaydedilmiştir.

İstatistiksel analiz

Farklı oranlarda beyaz şeritli problemlili tavuk göğüs ilaveli nugget örneklerinin fizikokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişiklikleri tespit edebilmek için analizler (2 tekrar ve 2 paralel şekilde) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen analiz sonuçları tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuş ve sonuçlar Duncan çoklu karşılaştırma testiyle değerlendirilerek uygulama grupları ile depolama süreleri arasında farklılık olup olmadığı SPSS istatistik programı kullanılarak ortaya konmuştur.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kimyasal bileşim sonuçları

Farklı oranlarda (%0, 20, 40, 80 ve 100) beyaz şeritli tavuk göğüs eti ilaveli kızartılmış nugget örneklerinin kimyasal bileşiminde meydana gelen değişiklikler Çizelge 1'de verilmiştir. Örneklerin nem içerikleri %56.88 ile 58.79 arasında değişkenlik göstermiş ve en yüksek nem içeriğine 100N kodlu örneğin (%58.79) sahip olduğu görülmüştür. Nuggetların üretiminde kullanılan beyaz şeritli problemlili et miktarının artışıyla örneklerdeki nem içeriğinin azaldığı ve bu azalışın istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Beyaz şeritli tavuk göğüs eti miktarının artışıyla nuggetların nem içeriklerinde düşüşlerin olmasına rağmen 40BŞ (%57.63) ve 80BŞ (%57.25) kodlu nugget örneklerinin istatistiksel açıdan benzer olduğu gözlenmiştir ($P > 0.05$). Benzer bir çalışmada kusurlu kas lifi uzunluğuna göre normal, orta ve şiddetli olarak derecelendirilmiş beyaz şeritli tavuk göğüs etlerindeki nem içeriklerinin %73.09 ile 73.22 arasında değiştiği ancak istatistiksel açıdan bir

farklılığın olmadığı bildirilmiştir (Adabi ve Soncu, 2019). Beyaz şerit probleminin (normal, orta ve şiddetli) tavuk göğüs etinin kimyasal bileşimi üzerine olan etkisinin incelendiği başka bir çalışmada, tavuk göğüs etlerindeki beyaz şerit yoğunluğunun artışıyla örneklerdeki nem içeriğinin arttığı belirtilmiştir (Bordignon vd., 2021).

Farklı oranlarda beyaz şeritli tavuk göğüs eti ilaveli nuggetların protein değerleri incelendiğinde (Çizelge 1), nuggetlardaki protein miktarının %21.32 (100BŞ) ile %23.62 (100N) arasında değişkenlik gösterdiği ve örnekler arasında önemli farklılıkların olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$). Nugget üretiminde kullanılan beyaz şeritli problemlili et miktarının artışıyla örneklerin protein içeriğinde önemli düşüşlerin görülmesine rağmen ($P < 0.05$), 20BŞ (%23.24) ve 40BŞ (%22.76) kodlu örnekler arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P > 0.05$). Mudalal ve Zaazaa (2022) tarafından yapılan bir çalışmada, beyaz şerit problemlili et miktarının artışıyla örneklerin protein miktarı %24.23 olarak bulunmuştur. Farklı derecelerde nitelendirilen (normal, orta ve şiddetli) beyaz şerit problemlili et miktarının artışıyla örneklerdeki protein içeriğinin %22.97'den %21.54'e düştüğü ve bu düşüşün anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

Nugget örneklerinin yağ miktarları Çizelge 1'de verilmiştir. En yüksek yağ içeriğine 100BŞ kodlu örneğin (%5.12) sahip olduğu görülmüş ve 40BŞ (%4.46) ile 80BŞ (%4.78) kodlu örnekler arasında istatistiksel açıdan bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). 100N (%3.89) kodlu örneğin en düşük yağ içeriğine sahip olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubuyla (100N) karşılaştırıldığında, beyaz şerit problemlili et ilave edilmiş örnek gruplarının daha yüksek yağ içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Beyaz şeritli problemlili tavuk göğüs eti miktarının artmasıyla nuggetlardaki yağ miktarının arttığı ve bu artışın beyaz şerit problemlili etlerin kas liflerinde meydana gelen atrofiye bağlı adipositlerin ve yağ birikiminin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. De

Beyaz şerit problemlili tavuk etlerinin değeriendirilmesi

Mello vd. (2021) ve Pereira vd. (2022), beyaz şerit gözlendiği tavuk göğüs etlerinde beyaz şerit yağ içeriğinin arttığı belirtilmiştir.

Çizelge 1. Farklı Oranlarda (%0, 20, 40, 80 ve 100) Beyaz Şeritli Tavuk Göğüs Eti İlaveli Nuggetların Kimyasal Bileşimi

Table 1. The proximate composition of chicken nuggets added with different levels of (0, 20, 40, 80 and 100%) white stripe meat

Kimyasal Kompozisyon / Proximate Composition					
Gruplar / Groups	Nem (%) / Moisture (%)	Protein (%)	Yağ (%) / Fat (%)	Kül (%) / Ash (%)	Karbonhidrat (%) / Carbohydrate (%)
100N	58.79±0.26 ^a	23.62±0.24 ^a	3.89±0.30 ^c	2.13±0.10 ^a	11.57±0.23 ^e
20BŞ	58.21±0.23 ^b	23.24±0.21 ^{ab}	4.13±0.28 ^{bc}	1.87±0.13 ^b	12.55±0.21 ^d
40BŞ	57.63±0.30 ^c	22.76±0.17 ^b	4.46±0.29 ^b	1.56±0.15 ^c	13.59±0.24 ^c
80BŞ	57.25±0.18 ^c	22.30±0.13 ^c	4.78±0.16 ^b	1.46±0.08 ^c	14.21±0.14 ^b
100BŞ	56.88±0.11 ^d	21.32±0.25 ^d	5.12±0.13 ^a	1.27±0.09 ^d	15.41±0.15 ^a

^{a, b, c, d}: Aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

(100N: %100 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 20BŞ: %20 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%80 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 40BŞ: %40 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%60 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 80BŞ: %80 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%20 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 100BŞ: %100 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu)

^{a, b, c, d}: Mean values within the same column bearing different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

(100N: chicken nugget with 100% normal chicken breast meat; 20BŞ: chicken nugget with 20% white stripe meat; 40BŞ: chicken nugget with 40% white stripe meat; 80BŞ: chicken nugget with 80% white stripe meat; 100BŞ: chicken nugget with 100% white stripe meat)

Nugget örneklerinin kül miktarları %1.27 ile 2.13 arasında değişkenlik gösterdiği ve gruplar arasında önemli farklılıkların olduğu gözlenmiştir. 100N (%2.13) kodlu örneğin en yüksek kül miktarına sahip olduğu görülmüştür. Beyaz şeritli tavuk göğüs eti miktarının artışıyla örneklerdeki kül miktarının azaldığı ve bu azalışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). 40BŞ (%1.56) ve 80BŞ (%1.46) kodlu örnekler arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P > 0.05$). Beyaz şeritli tavuk göğüs etlerinin yüzeysel ve derin yerlerinde kimyasal bileşiminin incelendiği bir çalışmada, yüzeysel ve derin yerlerdeki kül içeriğinin sırasıyla %1.15 ve %1.16 olduğu ve istatistiksel açıdan bir farklılığın olmadığı bildirilmiştir (Baldi vd., 2018). Farklı miyopatiye (normal, beyaz şerit ve tahta göğüs) sahip tavuk göğüs eti filetoalarında toplam kül içeriklerinin birbirine yakın değerler almasına rağmen normal ve beyaz şerit problemlili tavuk göğüs eti filetoalarında toplam kül içeriği %1.20 olarak bulunmuş ve bu değer tahta göğüs problemlili ete (%1.14) göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Gratta vd., 2019).

Et karbonhidrat açısından oldukça fakir bir üründür. Etteki karbonhidrat miktarı % 0.5 ile 1.5 arasında değişkenlik göstermektedir. Tavuk göğüs etindeki yağ içeriği ortalama olarak %1.5 ile 2.5 arasında değiştiği bilinmesine rağmen nugget örneklerindeki karbonhidrat miktarının %11.57 ile %15.41 arasında değişkenlik gösterdiği ve bu durumun nugget üretiminde kullanılan sıvı ve kuru kaplamalarının bileşiminde yer alan kapyoka nişastası, mısır nişastası, galeta, paprika gibi maddelerin varlığından kaynaklanmaktadır.

Kaplama tutunma yüzdesi (%) sonuçları

Nugget örneklerine ait kaplama tutunma yüzdesi sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. En yüksek kaplama yüzdesine 100N kodlu örneğin (%46.33) sahip olduğu ve 100N ile 20BŞ kodlu örnekler arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Beyaz şerit problemlili et miktarının artmasıyla birlikte örneklerdeki kaplama tutunma yüzdeleri düşmüştür. Beyaz şerit et miktarının artmasıyla sıvı kaplama karışımının nuggetlarda uzun süre tutunamadığı ve

sıvı kaplamayla iyi kaplanamayan örneklerin kuru kaplamayla birlikte galeta parçacıklarının tutunamadığı ve dökülmeye başladığı görülmüştür. Dolayısıyla bu durumun beyaz şeritli tavuk göğüs etlerinin kimyasal yapısından (su

tutma kapasitesi düşük gibi) kaynaklandığı düşünülmektedir. 100BŞ kodlu örneğin (%43.89) en düşük kaplama tutunma yüzdesine sahip olduğu görülmüştür.

Çizelge 2. Farklı Oranlarda (%0, 20, 40, 80 ve 100) Beyaz Şeritli Tavuk Göğüs Eti İleveli Nuggetların Kaplama Tutunma Yüzdeleri, Pişirme Kaybı ve Son Ürün Veriminde Meydana Gelen Değişiklikler
Table 2. The changes of coating pick up, cooking loss and cooking yields of chicken nuggets added with different levels of white stripe meat (0, 20, 40, 80 and 100%)

Gruplar / Groups	Kaplama Tutunma Yüzdesi (%) / Coating pick up (%)	Pişirme Kaybı (%) / Cooking Loss (%)	Toplam Pişirme Verimi (%) / Total Cooking Yield (%)
100N	46.33±0.22 ^a	16.25±0.31 ^d	83.75±0.75 ^a
20BŞ	46.09±0.25 ^a	15.98±0.28 ^d	84.02±0.63 ^a
40BŞ	45.54±0.26 ^b	16.89±0.29 ^c	83.11±0.48 ^a
80BŞ	45.05±0.18 ^c	17.63±0.35 ^b	82.37±0.51 ^b
100BŞ	43.89±0.32 ^d	20.25±0.44 ^a	79.75±0.36 ^c

^{a, b, c, d}: Aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

(100N: %100 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 20BŞ: %20 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%80 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 40BŞ: %40 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%60 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 80BŞ: %80 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%20 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 100BŞ: %100 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu)

^{a, b, c, d}: Mean values within the same column bearing different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

(100N: chicken nugget with 100% normal chicken breast meat; 20BŞ: chicken nugget with 20% white stripe meat; 40BŞ: chicken nugget with 40% white stripe meat; 80BŞ: chicken nugget with 80% white stripe meat; 100BŞ: chicken nugget with 100% white stripe meat)

Literatür incelendiğinde, beyaz şerit, odunsu göğüs gibi çeşitli miyopatilere sahip etlerin nugget üretiminde kullanılmaması çalışmanın özgünlüğünü artırması açısından büyük önem arz etmiştir. Bilimsel çalışmalarda daha çok nugget üretiminde kullanılan kaplama bileşenine ilave edilen farklı türdeki katkı maddelerin kullanıldığı veya kullanılan katkı maddelerinin oranlarında birtakım değişikliklerin yapıldığına yönelik çeşitli çalışmalara rastlanılmıştır. Ayrıca, nugget hamuru içerisine çeşitli antioksidan maddelerin kullanıldığına yönelik çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır.

Nuggetların kaplanması 3 farklı unun (karabuğday, nohut ve pirinç) kullanıldığı bir çalışmada ise, çiğ tavuk nuggetlarının kaplama tutunma yüzdeleri %13 ile %25 arasında değişkenlik gösterdiği ve pirinç unu ile kaplanan nuggetın en yüksek kaplama tutunma yüzdesine

sahip olduğu bildirilmiştir (Uyarcan vd., 2021). Nugget hamurunun hazırlanmasında antioksidanca zengin çeşitli bileşiklerin (meyan kökü, biberiye ve bir çeşit vişneye Amerika'nın bazı eyaletlerinde yetişebilen aserola meyve ekstraktı) ilave edildiği bir çalışmada ise, 500 ppm bitki ekstraktı katkılı nuggetlardaki kaplama tutunma yüzdelerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirtilmiştir (Paiva vd., 2021).

Pişirme kaybı (%)

Farklı oranlarda beyaz şeritli tavuk göğüs eti ileveli nuggetların pişirme kaybı (%) sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. 20BŞ kodlu örneğin en düşük pişirme kaybına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Beyaz şeritli et miktarının artışıyla örneklerdeki pişirme kayıplarının arttığı görülmüştür. Beyaz şeritli et miktarının artışıyla örneklerdeki pişirme kayıplarının arttığı görülmüştür. Beyaz şeritli et miktarının artışıyla örneklerdeki pişirme kayıplarının arttığı görülmüştür. Beyaz şeritli et miktarının artışıyla örneklerdeki pişirme kayıplarının arttığı görülmüştür. Beyaz şeritli et miktarının artışıyla örneklerdeki pişirme kayıplarının arttığı görülmüştür. Beyaz şeritli et miktarının artışıyla örneklerdeki pişirme kayıplarının arttığı görülmüştür.

edilmiştir. 100N (%16.25) ve 20BŞ (%15.98) kodlu nugget örnekleri arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P > 0.05$). 100BŞ kodlu örneğin (%20.25) en yüksek pişirme kaybına sahip olduğu görülmüştür. Nugget üretiminde %20'e kadar ilave edilen beyaz şerit problemlili etin kullanılabilmesi ve bu miktarın üzerinde çıktığında ise et endüstrisi açısından önemli ekonomik kayıplarına neden olabileceği öngörülmüştür.

Marinasyon işleminin orta ve şiddetli hindi göğüs etlerinin pişirme kayıplarında meydana gelen değişikliklerin araştırıldığı bir çalışmada, marine edilmemiş orta ve şiddetli beyaz şerit problemlili hindi göğüs etlerindeki pişirme kayıplarının sırasıyla %17.1 ve %16.2 olduğu ve marinasyon işlemiyle birlikte örneklerdeki pişirme kayıplarının sırasıyla %18.6 ve %19.1 seviyesine yükseldiği bildirilmiştir (Soglia vd., 2018). Mudalal vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada ise, marine edilmiş normal, orta ve şiddetli beyaz şeritli hindi göğüs etlerinde pişirme kayıplarının %17.96 ile 18.65 arasında değişkenlik göstermesine rağmen örnekler arasında önemli farklılıklar tespit edilmemiştir ($P > 0.05$).

Toplam pişirme verimi sonuçları (%)

Nugget örneklerine ait toplam pişirme kaybı sonuçları (%) Çizelge 2'de verilmiştir. Toplam pişirme verimi sonuçları incelendiğinde %20 beyaz şerit problemlili etin kullanıldığı nugget örneğinin (20BŞ: 84.02) kontrol grubuna (100N: 83.75) nazaran daha yüksek bir pişirme verimine sahip olmasına rağmen istatistiksel açıdan bir farklılık tespit edilmemiştir ($P > 0.05$). 100N, 20BŞ ve 40BŞ kodlu örnekler arasında önemli bir farklılığın bulunmadığı ($P > 0.05$) ve diğer örnek gruplarına göre daha yüksek pişirme verimine sahiptir. 100BŞ kodlu örneğin (%79.75) en düşük pişirme verimine sahip olduğu görülmüştür. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, beyaz şerit problemlili et miktarı artışına bağlı olarak pişirme kaybının (%20 ve üzeri oranda ilave edildiğinde) arttığı ve pişirme veriminin (%40 ve üzeri oranda ilave edildiğinde) ise önemli oranda düştüğü gözlenmiştir. Nugget üretiminde su tutma kapasitesi oldukça düşük olan beyaz şeritli etlerin belli bir orana kadar kullanılabilmesi ve özellikle

%40'ın üzerinde kullanılan beyaz şeritli etin işletmelere önemli miktarda ekonomik kayıplara yol açabileceği öngörülmektedir (Çizelge 2).

Beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etlerinin iki farklı yöntemde (geleneksel fırın ve sous-vide) pişirildiği bir çalışmada, fırında pişirilen tavuk göğüs etindeki pişirme kaybının (%25) sous-vide yöntemiyle pişirilen ete (%13.5) göre daha yüksek olması sous-vide yöntemiyle pişirilen etin daha yüksek pişirme verimine sahip olduğu bildirilmiştir (Lee vd., 2021). Marinasyon işleminin beyaz şeritli tavuk göğüs etlerinin pişirme verimine olan etkisinin incelendiği bir çalışmada ise, marinasyon işleminin beyaz şeritli tavuk göğüs etlerindeki pişirme verimini %73.97'den %87.59 seviyesine yükselttiği belirtilmiştir (U-Chupaj vd., 2021).

pH ve renk tayini

Depolama boyunca (-18°C, 90 gün) farklı oranlarda (%0, 20, 40, 80 ve 100) beyaz şerit problemlili tavuk göğüs eti ilaveli nuggetların pH ve renk değerlerinde (*CIE L**, *a** ve *b**) meydana gelen değişiklikler Çizelge 3'te verilmiştir. Depolamanın başlangıcında en düşük pH değerine 100N kodlu örneğin (5.83) sahip olduğu ve gruplar arasında önemli farklılıkların olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$). Depolamanın 15., 30., 45., 60., 75., ve 90. günlerinde, 20BŞ ve 40BŞ kodlu örneklerindeki pH değerlerinin birbirine yakın olduğu ve istatistiksel açıdan bir farklılığın olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). Depolamanın sonunda 100N kodlu (6.05) örneğin en düşük pH değerine sahip olduğu ve 20BŞ (6.10) ile 40BŞ (6.13) kodlu örnekler arasında önemli farklılıklar bulunmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$). Her bir analiz gününde, 100BŞ kodlu örneğin en yüksek pH değerine sahip olduğu ve 100BŞ kodlu örneğin diğer örnek gruplarına göre istatistiksel açıdan farklı olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Depolamanın başlangıcından depolamanın 45. gününe gelindiğinde, 100N, 40BŞ ve 100BŞ kodlu örneklerin pH değerlerinde bir artışın olmasına rağmen bu artışın anlamlı olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$).

Çizelge 3. Depolama Boyunca (-18°C, 3 ay) Farklı Oranlarda (%0, 20, 40, 80 ve 100) Beyaz Şeritli Tavuk Göğüs Eti İlaveli Nuggetların pH ve Renk Değerlerinde (CIE L*, a* ve b*) Meydana Gelen Değişiklikler

Table 3. pH and color values (CIE L*, a* and b*) of chicken nuggets added with different levels of (0, 20, 40, 80 and 100%) white stripe meat during storage (-18°C, 3 months)

Gruplar / Groups	pH Değeri / pH Value						
	Depolama Süresi (gün) / Storage Times (days)						
	0	15	30	45	60	75	90
100N	5.83±0.01 ^{cC}	5.85±0.02 ^{dC}	5.88±0.01 ^{dC}	5.90±0.02 ^{dC}	5.95±0.03 ^{dB}	5.99±0.01 ^{dB}	6.05±0.01 ^{cA}
20BŞ	5.90±0.02 ^{dD}	5.93±0.01 ^{cD}	5.95±0.02 ^{cC}	5.98±0.02 ^{cC}	6.01±0.02 ^{cC}	6.06±0.02 ^{cB}	6.10±0.02 ^{bcA}
40BŞ	5.94±0.01 ^{cD}	5.96±0.03 ^{cD}	5.97±0.03 ^{cD}	6.00±0.01 ^{dD}	6.03±0.01 ^{cC}	6.08±0.01 ^{cB}	6.13±0.03 ^{bcA}
80BŞ	5.99±0.01 ^{bE}	6.02±0.01 ^{bD}	6.05±0.01 ^{bC}	6.06±0.01 ^{bC}	6.10±0.02 ^{bb}	6.14±0.02 ^{bb}	6.18±0.01 ^{bA}
100BŞ	6.10±0.01 ^{aB}	6.11±0.04 ^{aB}	6.14±0.02 ^{aB}	6.17±0.02 ^{aB}	6.22±0.01 ^{aA}	6.26±0.03 ^{aA}	6.30±0.02 ^{aA}
L* (Parlaklık / Lightness)							
100N	42.37±0.23 ^{dA}	41.99±0.18 ^{cA}	41.31±0.30 ^{bB}	40.75±0.31 ^{dC}	40.27±0.11 ^{cD}	39.67±0.18 ^{cE}	39.56±0.23 ^{aE}
20BŞ	42.76±0.25 ^{dA}	42.48±0.16 ^{dA}	42.01±0.26 ^{dB}	41.34±0.32 ^{dC}	40.44±0.14 ^{cD}	39.99±0.15 ^{cE}	38.77±0.23 ^{bF}
40BŞ	43.87±0.19 ^{cA}	43.08±0.21 ^{cB}	42.77±0.19 ^{cB}	42.58±0.26 ^{cB}	41.86±0.23 ^{bc}	40.48±0.16 ^{bD}	38.54±0.26 ^{bE}
80BŞ	44.92±0.13 ^{bA}	44.05±0.22 ^{bb}	43.79±0.14 ^{bb}	43.32±0.20 ^{bc}	41.97±0.24 ^{bd}	38.91±0.12 ^{dE}	37.89±0.27 ^{cF}
100BŞ	46.45±0.17 ^{aA}	46.13±0.29 ^{aA}	45.26±0.15 ^{aB}	44.57±0.18 ^{aC}	43.42±0.23 ^{aD}	40.87±0.25 ^{aE}	37.65±0.30 ^{cF}
a* (Kırmızılık / Redness)							
100N	8.93±0.11 ^{aA}	8.67±0.19 ^{aA}	8.43±0.21 ^{aA}	8.29±0.16 ^{aAB}	8.01±0.31 ^{aAB}	7.98±0.23 ^{aB}	7.76±0.25 ^{aB}
20BŞ	8.78±0.13 ^{aA}	8.55±0.23 ^{aA}	8.27±0.22 ^{aA}	8.06±0.18 ^{aAB}	7.89±0.27 ^{aB}	7.72±0.16 ^{aB}	7.63±0.15 ^{aB}
40BŞ	8.25±0.10 ^{bA}	8.07±0.14 ^{bA}	7.85±0.18 ^{abAB}	7.54±0.20 ^{cB}	7.32±0.25 ^{bb}	7.19±0.21 ^{bb}	7.01±0.17 ^{bc}
80BŞ	7.89±1.15 ^{bA}	7.64±0.13 ^{cA}	7.43±0.17 ^{bA}	7.24±0.24 ^{cB}	7.01±0.18 ^{bb}	6.85±0.27 ^{bbc}	6.63±0.22 ^{cC}
100BŞ	7.34±0.21 ^{cA}	7.16±0.16 ^{dA}	7.02±0.15 ^{cA}	6.75±0.31 ^{dB}	6.33±0.19 ^{cB}	6.11±0.19 ^{bcB}	5.88±0.13 ^{dC}
b* (Sarılık / Yellowness)							
100N	24.55±0.24 ^{dC}	24.83±0.11 ^{dB}	25.18±0.23 ^{dB}	25.27±0.14 ^{cAB}	25.43±0.21 ^{dA}	25.62±0.25 ^{cA}	25.75±0.30 ^{aA}
20BŞ	25.01±0.12 ^{cC}	25.28±0.10 ^{cB}	25.57±0.22 ^{cB}	25.71±0.13 ^{dAB}	25.89±0.18 ^{dA}	26.01±0.26 ^{dA}	26.13±0.18 ^{dA}
40BŞ	25.46±0.13 ^{bF}	25.54±0.15 ^{cF}	25.98±0.17 ^{cE}	26.33±0.18 ^{dD}	26.77±0.22 ^{cC}	27.15±0.18 ^{cB}	27.59±0.17 ^{cA}
80BŞ	25.89±0.15 ^{aF}	26.02±0.19 ^{bF}	26.57±0.13 ^{bE}	26.93±0.23 ^{bD}	27.46±0.27 ^{bc}	27.98±0.16 ^{bb}	28.97±0.25 ^{bA}
100BŞ	26.23±0.22 ^{aF}	26.56±0.20 ^{aF}	27.53±0.14 ^{aE}	28.16±0.26 ^{aD}	28.87±0.29 ^{aC}	29.34±0.23 ^{aB}	30.36±0.34 ^{aA}

a, b, c, d, e: Aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

A, B, C, D, E, F, G: Aynı satırda bulunan harfler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

(100N: %100 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 20BŞ: %20 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%80 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 40BŞ: %40 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%60 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 80BŞ: %80 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%20 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 100BŞ: %100 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu)

a, b, c, d, e: Mean values within the same column bearing different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

A, B, C, D, E, F, G: Mean values within the same row bearing different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

(100N: chicken nugget with 100% normal chicken breast meat; 20BŞ: chicken nugget with 20% white stripe meat; 40BŞ: chicken nugget with 40% white stripe meat; 80BŞ: chicken nugget with 80% white stripe meat; 100BŞ: chicken nugget with 100% white stripe meat)

Beyaz şerit problemlili (normal, orta ve şiddetli) hindi göğüs etleri kullanılarak üretilen sosislerin depolanması sırasında (4°C, 56 gün) ürünün pH değerinde meydana gelen değişiklikler araştırılmış ve depolama boyunca ürünlerin pH değerinde düşüş gözlenmesine rağmen bu düşüşün anlamlı olmadığı ($P > 0.05$) belirtilmiştir (Carvalho vd., 2021). Beyaz şerit problemine sahip tavuk göğüs etlerinin (normal, orta ve şiddetli) depolanması sırasında kalite karakteristiklerinde meydana gelen değişikliklerin incelendiği bir çalışmada ise, depolama boyunca (-2°C, 12 ay) beyaz şerit problemlili etlerin normal olarak sınıflandırılan tavuk göğüs etlerine göre daha yüksek pH

değerine sahip olduğu bildirilmiştir (Pereira vd., 2021).

Depolama boyunca (-18°C, 90 gün) nugget örneklerinin renk değerlerinde (CIE L*, a* ve b*) meydana gelen değişiklikler Tablo-3'te verilmiştir. Depolamanın başlangıcında 100BŞ kodlu örneğin (46.45) en yüksek parlaklık değerine sahip olduğu gözlenirken 100N (42.37) ile 20BŞ kodlu (42.76) örnekler arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P > 0.05$). Depolamanın 15. ve 30. günlerinde gruplar arasında önemli bir farklılığın olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$). Depolamanın 45., 60. ve 75. günlerinde 100N ve 20BŞ kodlu

örneklerin istatistiksel açıdan benzer olduğu ve bu örnek gruplarının diğer örnek gruplarına göre daha düşük parlaklık değerine sahip olduğu görülmüştür. Depolamanın sonunda 20BŞ ile 40BŞ kodlu örnekler arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı görülürken en düşük parlaklık değerine 100N kodlu örneğin sahip olduğu gözlenmiştir. Her bir depolama sürecinde beyaz şerit problemlili et miktarının artmasıyla örneklerdeki parlaklık değerinin arttığı ve bu artışın beyaz şerit problemlili etlerin yüzeyinde görülen beyaz renkten kaynaklandığı düşünülmektedir. Depolamanın başlangıcından depolamanın 15. gününe gelindiğinde 100N, 20BŞ ve 100BŞ kodlu örneklerin parlaklık değerlerinde bir düşüş görülmesine rağmen bu düşüşün istatistiksel açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Depolamanın 45. gününden depolamanın 90. gününe gelindiğinde tüm örneklerin parlaklık değerlerinde önemli düşüşler yaşanmıştır. Depolama boyunca nugget örneklerinin parlaklık değerlerinde gerçekleşen düşüşün ürünün depolanması sırasında meydana gelen oksidatif reaksiyonlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Carvalho vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, normal, orta ve şiddetli dereceli olarak tanımlanan beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etlerindeki parlaklık değerinin 56.08 ile 59.58 arasında değiştiği ve beyaz şerit problemlili etlerindeki parlaklık değerinin normal ete nazaran daha düşük olduğu ve bu düşüşün istatistiksel anlamda önemli olduğu bildirilmiştir ($P < 0.05$). Son yıllarda tavukçuluk endüstrisinin önemli bir problemi olan beyaz şerit ve tahta göğüs problemlili tavuk etlerinin kalite karakteristiklerinin incelendiği bir diğer çalışmada ise, tahta göğüs problemlili etin beyaz şerit problemlili tavuk etine göre daha yüksek bir parlaklık değerine sahip olduğu belirtilmiştir (Mudalal vd., 2015). Normal, orta ve şiddetli olarak derecelendirilmiş tavuk göğüs etlerinin fizikokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişikliklerin araştırılmış ve beyaz şerit problemlili derecesi arttıkça örneklerdeki parlaklık değerinin arttığı bildirilmiştir (Bordignon vd., 2021).

Örneklerdeki kırmızılık değeri 5.88 ile 8.93 arasında değişkenlik göstermiştir. 45. gün hariç, her bir depolama periyodunda, 100N ve 20BŞ

kodlu örneklerin en yüksek kırmızılık değerine sahip olduğu ve bu örnekler arasında önemli bir farklılığın olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). Ayrıca, her bir depolama periyodunda beyaz şerit problemlili et miktarının artışıyla nuggetlardaki kırmızılığın azaldığı gözlenmiştir. Depolamanın başlangıcından depolamanın 30. gününe gelindiğinde, tüm örneklerin kırmızılık değerlerinde düşüşler gözlenmesine rağmen bu düşüşün önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Depolamanın 45. gününden depolamanın 90. gününe gelindiğinde ise, 40BŞ, 80BŞ ile 100BŞ kodlu örneklerin kırmızılık değerlerinde gerçekleşen düşüşün önemli olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). Depolama boyunca nugget örneklerinin kırmızılık değerindeki düşüşün ürünlerin depolanması sırasında meydana gelen oksidatif reaksiyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Farklı derecelerle tanımlanmış beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etlerindeki (normal, orta ve şiddetli) kırmızılık değerinin beyaz şerit derecesi artışına paralel olarak arttığı belirtilmiştir (Pettracci vd., 2013). Orta dereceli tavuk göğüs etinin kalite karakteristik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada ise, tavuk göğüs etindeki kırmızılık değerinin -0.40 olduğu ve bu sonucun çalışmamızdaki nugget örneklerinin kırmızılık değerine göre oldukça düşük olduğu bildirilmiştir (Bowker ve Zhuang, 2016). Baldi vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada ise, normal ve beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etlerinin hem iç hem de dış yüzeylerinde kırmızılık değerleri ölçülmüş, beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etlerinin normal olarak sınıflandırılan tavuk göğüs etleri numunelerine göre daha yüksek bir kırmızılık değerine sahip olduğu belirtilmiştir.

Sarılık değerleri ($CIE b^*$) incelendiğinde, 60. gün hariç, her bir depolama periyodunda, 100N kodlu nuggetın diğerlerinden istatistiksel açıdan farklı olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$) diğer taraftan her bir depolama periyodunda, 100N kodlu örneğin en düşük sarılık değerine sahip olduğu görülmüştür. 15. ve 30. depolama günlerinde 40BŞ ile 80BŞ kodlu örneklerin istatistiksel açıdan benzer bulunmuştur ($P > 0.05$). Çizelge 1'de de görüldüğü üzere, beyaz şerit problemlili etlerden üretilen nuggetlarda toplam yağ içeriğinin kontrol

grubuna göre daha yüksek olduğu ve bu durumun nuggetların depolanması sırasında lipid oksidasyonunu katalizleyerek nuggetlardaki sarılık değerinin artmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Farklı derecelere tanımlanmış tavuk göğüs etlerinde teknolojik ve duyuşal özelliklerinin incelendiği bir çalışmada ise, normal, beyaz şerit ve tahta göğüs problemlili tavuk göğüs etlerindeki sarılık değerinin 9.27 ile 11.40 arasında değiştiği ve örnekler arasında önemli bir farklılığın olduğu belirtilmiştir (Tasoniero vd., 2016). De Mello vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada ise, beyaz şerit miyopati bozukluğuna (normal, orta ve şiddetli) sahip olan tavuk göğüs etlerinde beyaz şerit derecesinin artmasıyla örneklerdeki sarılık değerlerinde (önce bir artış daha sonra ise bir düşüş) bir dalgalanmanın yaşandığı bildirilmiştir.

Tekstür ve TBARS sonuçları

Depolama boyunca nugget örneklerinin TBARS (mg malonaldehit/kg ürün) değerlerinde meydana gelen değişiklikler Çizelge 4'te verilmiştir. Depolama boyunca nugget örneklerindeki TBARS değerlerin 0.17 ile 1.49 mg malonaldehit/kg ürün seviyelerinde değişkenlik gösterdiği ve her bir depolama periyodunda 100BŞ kodlu örneğin en yüksek TBARS değerine sahip olduğu gözlenmiştir. 45. ve 75. günler

haricinde, 100N ve 20BŞ kodlu örneklerin diğer örnek gruplarına (40BŞ grubu hariç) nazaran istatistiksel açıdan farklı olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$). Depolamanın başlangıcından 15. güne gelindiğinde tüm örnek gruplarında TBARS değerinin artmasına rağmen bu artışın anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Depolamanın 45. gününden 60. güne gelindiğinde, 100N kodlu örneğin TBARS değeri 0.43'ten 0.49 mg malonaldehit/kg ürün seviyesine yükselmesine rağmen bu artış önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Depolama boyunca tüm örneklerin TBARS değerlerinde önemli artışların olduğu ve en fazla artışın 100BŞ kodlu örnekte (%432) yaşandığı ve bunu sırasıyla 80BŞ (%417), 40BŞ (%296), 20BŞ (%283) ve 100N (%271) kodlu örneklerin takip ettiği görülmüştür. Depolamanın sonunda 80BŞ (1.24 mg malonaldehit/kg ürün) ve 100BŞ (1.49 mg malonaldehit/kg ürün) kodlu örneklerin oksidasyon derecesi açısından çeşitli araştırmacılar tarafından eşik sınır olarak kabul edilen 1 mg malonaldehit/kg ürün seviyesinin üzerine çıktığı tespit edilmiştir. Nugget üretiminde kullanılacak beyaz şerit problemlili et miktarının en fazla %40 seviyesinde olabileceği aksi takdirde bu oranın üzerine çıktığında depolama boyunca ürünlerde meydana gelebilecek lipid oksidasyonunu hızlandırarak ürünün raf ömrünü kısaltabileceği öngörülmektedir.

Çizelge 4. Depolama boyunca (-18°C, 3 ay) farklı oranlarda (%0, 20, 40, 80 ve 100) beyaz şeritli tavuk göğüs eti ilaveli nuggetların TBARS (mg malonaldehit/kg ürün) değerlerinde meydana gelen değişiklikler

Table 4. TBARS values (mg malondialdehyde/kg product) of chicken nuggets added with different levels of white stripe meat (0, 20, 40, 80 and 100%) during storage (-18°C, 3 months)

Gruplar / Groups	Depolama Süresi (gün) / Storage Times (days)						
	0	15	30	45	60	75	90
100N	0.17±0.02 ^{bE}	0.20±0.05 ^{bDE}	0.29±0.06 ^{cD}	0.43±0.06 ^{cC}	0.49±0.03 ^{dC}	0.56±0.02 ^{eB}	0.63±0.04 ^{dA}
20BŞ	0.18±0.03 ^{bF}	0.21±0.02 ^{bF}	0.32±0.02 ^{cE}	0.48±0.04 ^{bD}	0.55±0.03 ^{dC}	0.62±0.01 ^{dB}	0.69±0.03 ^{dA}
40BŞ	0.22±0.05 ^{abE}	0.26±0.01 ^{abE}	0.39±0.03 ^{bD}	0.51±0.04 ^{bC}	0.70±0.02 ^{eB}	0.81±0.03 ^{eA}	0.87±0.05 ^{eA}
80BŞ	0.24±0.06 ^{aF}	0.29±0.03 ^{aF}	0.43±0.05 ^{abE}	0.59±0.05 ^{aD}	0.76±0.01 ^{bC}	0.97±0.04 ^{bB}	1.24±0.02 ^{bA}
100BŞ	0.28±0.04 ^{aF}	0.33±0.04 ^{aF}	0.49±0.04 ^{aE}	0.65±0.03 ^{aD}	0.81±0.02 ^{aC}	1.23±0.02 ^{aB}	1.49±0.02 ^{aA}

a, b, c, d, e: Aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

A, B, C, D, E, F: Aynı satırda bulunan harfler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

(100N: %100 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 20BŞ: %20 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%80 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 40BŞ: %40 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%60 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 80BŞ: %80 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%20 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 100BŞ: %100 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu)

a, b, c, d, e: Mean values within the same column bearing different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

A, B, C, D, E, F: Mean values within the same row bearing different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

(100N: chicken nugget with 100% normal chicken breast meat; 20BŞ: chicken nugget with 20% white stripe meat; 40BŞ: chicken nugget with 40% white stripe meat; 80BŞ: chicken nugget with 80% white stripe meat; 100BŞ: chicken nugget with 100% white stripe meat)

Çizelge 5. Depolama Boyunca (-18°C, 3 ay) Farklı Oranlarda (%0, 20, 40, 80 ve 100) Beyaz Şeritli Tavuk Göğüs Eti İleveli Nuggetların Tekstür Profili Analiz (Sertlik, Elastikiyet, Adezif Yapışkanlık, Çiğnenebilirlik) Sonuçları

Table 5. Texture profile analyses results (hardness, spring, adhesiveness and chewiness) of chicken nuggets added with different levels of white stripe meat (0, 20, 40, 80 and 100%) during storage (-18°C, 3 months)

Gruplar / Groups	Sertlik (N) / Hardness (N)			
	Depolama Süresi (gün) / Storage Times (days)			
	0	30	60	90
100N	24.01±0.47 ^{cA}	23.77±0.31 ^{dA}	23.32±0.32 ^{bAB}	22.98±0.28 ^{cB}
20BŞ	25.35±0.54 ^{bA}	25.13±0.29 ^{cA}	24.87±0.35 ^{bB}	24.53±0.27 ^{bB}
40BŞ	25.96±0.33 ^{aA}	25.74±0.23 ^{bA}	25.41±0.26 ^{aAB}	25.07±0.24 ^{aB}
80BŞ	26.22±0.28 ^{aA}	26.08±0.35 ^{aA}	25.69±0.19 ^{aB}	25.33±0.30 ^{aB}
100BŞ	26.54±0.31 ^{aA}	26.21±0.20 ^{aAB}	25.98±0.25 ^{aB}	25.56±0.18 ^{aC}
Elastikiyet (mm) / Spring (mm)				
100N	3.05±0.11 ^{dB}	3.18±0.13 ^{dAB}	3.33±0.16 ^{dA}	3.52±0.13 ^{eA}
20BŞ	3.26±0.12 ^{cB}	3.37±0.12 ^{dA}	3.51±0.12 ^{dA}	3.76±0.17 ^{cA}
40BŞ	3.47±0.09 ^{bcC}	3.69±0.10 ^{cB}	3.88±0.13 ^{cA}	4.05±0.15 ^{bA}
80BŞ	3.61±0.08 ^{bc}	3.87±0.07 ^{bB}	4.13±0.11 ^{bA}	4.34±0.14 ^{bA}
100BŞ	3.82±0.10 ^{aD}	4.01±0.05 ^{aC}	4.35±0.10 ^{aB}	4.69±0.12 ^{aA}
Adeszif Yapışkanlık / Adhesiveness				
100N	1.12±0.21 ^{bB}	1.25±0.18 ^{cA}	1.42±0.20 ^{bA}	1.56±0.23 ^{bA}
20BŞ	1.34±0.19 ^{bA}	1.41±0.15 ^{bcA}	1.53±0.14 ^{bA}	1.67±0.18 ^{bA}
40BŞ	1.53±0.23 ^{aA}	1.55±0.13 ^{bA}	1.64±0.11 ^{abA}	1.72±0.11 ^{bA}
80BŞ	1.67±0.25 ^{aA}	1.70±0.19 ^{aA}	1.75±0.17 ^{aA}	1.84±0.10 ^{bA}
100BŞ	1.86±0.26 ^{aA}	1.89±0.16 ^{aA}	1.92±0.22 ^{aA}	1.98±0.03 ^{aA}
Çiğnenebilirlik (N.mm) / Chewiness (N.mm)				
100N	27.08±0.11 ^{cC}	27.22±0.10 ^{dB}	27.20±0.21 ^{eB}	27.89±0.07 ^{eA}
20BŞ	27.29±0.07 ^{dC}	27.58±0.11 ^{cB}	27.84±0.10 ^{dA}	28.02±0.08 ^{dA}
40BŞ	27.65±0.08 ^{cB}	27.93±0.15 ^{bA}	28.16±0.19 ^{cA}	28.35±0.10 ^{cA}
80BŞ	28.02±0.09 ^{bD}	28.34±0.14 ^{aC}	28.67±0.13 ^{bB}	28.96±0.13 ^{bA}
100BŞ	28.33±0.05 ^{aD}	28.61±0.17 ^{aC}	28.98±0.06 ^{aB}	29.31±0.18 ^{aA}

a, b, c, d, e: Aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

A, B, C, D: Aynı satırda bulunan harfler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

(100N: %100 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 20BŞ: %20 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%80 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 40BŞ: %40 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%60 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 80BŞ: %80 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti+%20 Normal Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu; 100BŞ: %100 Beyaz Şerit Problemine Sahip Tavuk Göğüs Eti Kullanılarak Üretilen Nugget Grubu)

a, b, c, d, e: Mean values within the same column bearing different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

A, B, C, D: Mean values within the same row bearing different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

(100N: chicken nugget with 100% normal chicken breast meat; 20BŞ: chicken nugget with 20% white stripe meat; 40BŞ: chicken nugget with 40% white stripe meat; 80BŞ: chicken nugget with 80% white stripe meat; 100BŞ: chicken nugget with 100% white stripe meat)

Depolama boyunca (-18°C, 90 gün) nugget örneklerinin çiğnenebilirlik değerlerinde meydana gelen değişiklikler Çizelge 5'te verilmiştir. 30. gün hariç, her bir depolama sürecinde örnek grupları arasında anlamlı bir farklılığın olduğu gözlenmiştir

($P < 0.05$). Depolamanın 30. gününde, 80BŞ (28.34 N.mm) ile 100BŞ (28.61 N.mm) kodlu örnekler arasında önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Depolama boyunca tüm nugget örneklerinin çiğnenebilirlik

değerlerinde artışlar görülmüştür. Depolama süresi boyunca 40BŞ kodlu örnek grubunun çignenebilirlik değeri depolamanın başlangıcından depolamanın 30. gününe kadar artış gösterirken, depolamanın 30. gününden depolamanın sonuna kadar geçen sürede 40BŞ kodlu örneğin çignenebilirlik değeriinde meydana gelen artışın anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Depolama boyunca (-18°C, 90 gün) genellikle tüm örneklerin elastikiyet, adezif yapışkanlık ve çignenebilirlik değerlerinde bir artışın sertlik değerlerinde ise bir azalışın olduğu ve durumun etin dokusunda meydana gelen histolojik ve kimyasal değişimlerden meydana gelebileceği düşünülmektedir.

Farklı derecelere (normal, orta ve şiddetli) tanımlanmış beyaz şerit problemlili hindi göğüs etlerinin sosis üretiminde kullanıldığı bir çalışmada, beyaz şerit yoğunluğu arttıkça sosislerdeki çignenebilirlik ve elastikiyet değerlerinde önemli düşüşler görülürken yapışkanlık ve sertlik değerlerinde ise önce bir artışın daha sonra ise bir düşüşün yaşandığı belirtilmiştir (Carvalho vd., 2021). Beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etleri iki farklı pişirme yöntemiyle (fırında ve sous-vide) pişirilerek tekstürel özelliklerinde meydana gelen değişikliklerin araştırıldığı bir çalışmada ise, normal göğüs etiyle karşılaştırıldığında beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etlerinin daha düşük sertlik, yapışkanlık ve çignenebilirlik değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir (Lee vd., 2021). U-Chupaj vd. (2021) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, marinasyon işleminin beyaz şerit problemlili etlerin tekstürel özelliklerinde (sertlik, yapışkanlık ve çignenebilirlik) meydana gelen değişiklikler incelenmiş ve marinasyon işleminin beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etlerinin sertlik, yapışkanlık ve çignenebilirlik değerlerinde önemli bir artışa ($P < 0.05$) yol açtığı belirtilmiştir.

SONUÇ

Son yıllarda kanatlı eti endüstrisinin karşılaştığı en önemli kas kusurlarından birisinin beyaz şerit problemi olduğu ve bu probleminin oluşumunda artan nüfusun kanatlı eti talebini karşılamak adına broilerlerin hızlı büyütülmeye çalışılmasından kaynaklandığı belirtilmektedir. Beyaz şerit

problemi kas lif kalınlığına bağlı olarak orta ve şiddetli olarak derecelerine ayrılır. Şu ana kadar yapılan literatür çalışmalarında beyaz şerit probleminin tam anlamıyla engellenmesine yönelik herhangi bir stratejinin geliştirilemediği dolayısıyla tavukçuluk endüstrisinde önemli ekonomik kayıplara yol açan bu problemin ileri işlenmiş ürünlerin (nugget, schnitzel, sosis, salam gibi) üretiminde belli bir orana kadar katılabileceği düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Fazilet Ceyda Yüksel, nugget örneklerinde analizlerin gerçekleştirilmesi ve takibi, Orhan Özünlü, sonuçların değeriendirilmesi, istatistiksel analizler ve makale yazımında; Haluk Ergezer ise makale yazımı, makalenin düzenlenmesi ve kontrolünde katkı sağlamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde yardımlarını (orta dereceli beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etleri, sıvı ve katı kaplama karışımları) esirgemeyen Gedik Piliç'e teşekkür eder, saygılar sunarız.

KAYNAKLAR

Adabi, S.G., Soncu, E.D. (2019). White striping prevalence and its effect on meat quality of broiler breast fillets under commercial conditions. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 103: 1060-1069, <https://doi.org/10.1111/jpn.13092>

Association of Official Analytical Chemists, AOAC, 'Official methods of analysis', Horwitz, W., Latimer, G.W. (Eds.), 2005 Current Through Revision 1. 18th ed. Gaithersburg, MD, USA, (2006).

Baldi, G., Soglia, F., Mazzoni, M., Sirri, F., Canonico, L., Babini, E., Laghi, L., Cavani, C., Petracci, M. (2018). Implications of white striping and spaghetti meat abnormalities on meat quality and histological features in broilers. *Animal*, 12(1): 164-173, <http://doi.org/10.1017/S1751731117001069>.

- Bordignon, S., Stefani, L.M., Boiago, M.M. (2021). The use of white striped chicken breasts on the quality of nuggets and hamburgers. *Food Science and Technology*, 41(3): 570-575, <https://doi.org/10.1590/fst.16320>.
- Bowker, B., Zhuang, H. (2016). Impact of white striping on functionality attributes of broiler breast meat. *Poultry Science*, 95: 1957-1965, <https://doi.org/10.3382/ps/pew115>.
- Carvalho, L.M., Delgado, J., Madruga, M.S., Estévez, M. (2020). Pinpointing oxidative stress behind the white striping myopathy: depletion of antioxidant defenses, accretion of oxidized proteins and impaired proteostasis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101: 1364-1371, <https://doi.org/10.1002/jsfa.10747>.
- Carvalho, L.T., Owens, C.M., Giampietro-Ganeco, A., de Mello, J.L.M., Ferrari, F.B., Carvalho, F.A., Souza, R.A., Amoroso, L., Souza, P.A., Borba, H., Trindade, M.A. (2021). Quality of turkey's breast meat affected by white striping Myopathy. *Poultry Science*, 100: 101022, <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101022>.
- De Mello, J.L.M., De Souza, R.A., Ferrari, F.B., Cavalcanti, E.N.F., Oliveira, R.F., Fidelis, H. A., Pereira, M.R., Villegas-Cayllahua, E.A., Giampietro-Ganeco, A., Dutra, D.R., De Souza, P. A., Borba, H. (2021). Quality of breast meat from broiler chickens raised in Brazil affected by white striping myopathy. *Research, Society and Development*, 10(2): e42210212637, <https://dx.doi.org/10.33448/rsd/-v10i2.12637>.
- Flynn, A.W., Brambert, V.D. (1975). Effects of frozen storage cooking methods and muscle quality attributes of pork loins. *Journal of Food Science*, 40: 631-633, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1975.tb12544.x>.
- Gökçe, R., Akgün, A.A., Ergezer, H., Akcan, T. (2016). Farklı Kaplama Bileşenleriyle Kaplamanın Derin Yağda Kızartılan Piliç Nuggetların Bazı Kalite Karakteristikleri Üzerine Etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 22: 331-338, https://doi.org/10.1501/Tarimbil_0000001391.
- Gratta, F., Fasolato, L., Birolo, M., Zomeno, C., Novelli, E., Petracci, M., Pascual, A., Xiccato, G., Trocino, A. (2019). Effect of breast myopathies on quality and microbial shelf life of broiler meat. *Poultry Science*, 98: 2641-2651, <https://doi.org/10.3382/ps/pez001>.
- Kuttappan, V.A., Owens, C.M., Coon, C., Hargis, B.M., Vazquez-Anon, M. (2017). Incidence of broiler breast myopathies at 2 different ages and its impact on selected raw meat quality parameters. *Poultry Science*, 96: 3005-3009, <https://doi.org/10.3382/ps/pex072>.
- Lee, B., Park, C.H., Kong, C., Kim, Y.S., Choi, Y.M. (2021). Muscle fiber and fresh meat characteristics of white-striping chicken breasts, and its effects on palatability of sous-vide cooked meat. *Poultry Science*, 100: 101177, <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101177>.
- Maiorano, G. (2017). Meat defects and emergent muscle myopathies in broiler chickens: Implications for the modern poultry industry. *Animal Science and Genetics*, 13: 43-51, DOI: 10.5604/01.3001.0010.5454
- Mudalal, S., Zaazaa, A. (2022). Influence of Slaughter Age on the Occurrence and Quality Characteristics of White Striping and Wooden Muscle Abnormalities. *Food Science of Animal Resources*, 42(3): 455-466, DOI: 10.5851/kosfa.2022.e15.
- Mudalal, S. (2019). Incidence of White Striping and Its Effect on the Quality Traits of Raw and Processed Turkey Breast Meat. *Food Science of Animal Resources*, 39(3): 410-417, DOI: 10.5851/kosfa.2019.e35.
- Mudalal, S., Lorenzi, M., Soglia, F., Cavani, C., Petracci, M. (2015). Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. *Animal*, 9(4): 728-734, <https://doi.org/10.1017/S175173111400295X>.
- Özünlü, O., Ergezer, H. (2021). Possibilities of using dried oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in the production of beef salami. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45: e15117, <https://doi.org/10.1111/jfpp.15117>.
- Özünlü, O., Ergezer, H., Gökçe, R. (2018). Improving physicochemical, antioxidative and sensory quality of raw chicken meat by using

- acorn extracts. *LWT*, 98: 477-484, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.007>.
- Paiva, G.B., Trindade, M.A., Romero, J.T., Silva-Barretto, A.C. (2021). Antioxidant effect of acerola fruit powder, rosemary and licorice extract in caiman meat nuggets containing mechanically separated caiman meat. *Meat Science*, 173: 108406, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108406>.
- Pathera, A.K., Riar, C.S., Yadav, S., Sharma, D.P. (2017). Effect of Dietary Fiber Enrichment and Different Cooking Methods on Quality of Chicken Nuggets. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(3): 410-417, DOI: 10.5851/kosfa.2017.37.3.410.
- Pereira, M.R., Mello, J.L.M., Oliveira, R.F., Villegas-Cayllahua, E.A., Cavalcanti, E.N.F., Fidelis, H.A., Ferrari, F.B., Giampietro-Ganeco, A., Souza, P.A., Borba, H. (2022). Effect of freezing on the quality of breast meat from broilers affected by White Striping myopathy. *Poultry Science*, 101(2): 101607, <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101607>.
- Petracci, M., Mudalal, S., Soglia, F., Cavani, C. (2015). Meat quality in fast-growing broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*, 71: 363-374, <https://doi.org/10.1017/S0043933915000367>.
- Petracci, M., Mudalal, S., Bonfiglio, A., Cavani, C. (2013). Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens. *Poultry Science*, 92: 1670-1675, <https://doi.org/10.3382/ps.2012-03001>.
- Petracci, M., Cavani, C. (2012). Muscle growth and poultry meat quality issues. *Nutrients*, 4: 1-12, <https://doi.org/10.3390/nu4010001>.
- Przybylski, W., Jaworska, D., Kajak-Siemaszko, K., Salek, P., Pakula, K. (2021). Effect of Heat Treatment by the Sous-Vide Method on the Quality of Poultry Meat. *Foods*, 10: 1-14, <https://doi.org/10.3390/foods10071610>.
- Rahimi, D., Kashaninejad, M., Ziaüfar, A.M., Mahoonak, A.S. (2018). Effect of infrared final cooking on some physico-chemical and engineering properties of partially fried chicken nugget. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47: 1-8, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.01.004>.
- Salles, G.B.C., Boiago, M.M., Silva, A.D., Morsch, V.M., Gris, A., Mendes, R.E., Baldissera, M.D., Da Silva, A.S. (2019). Lipid peroxidation and protein oxidation in broiler breast fillets with white striping myopathy. *Journal of Food Biochemistry*, 43: e12792, <https://doi.org/10.1111/jfbc.12792>.
- Soglia, F., Baldi, G., Laghi, L., Mudalal, S., Cavani, C., Petracci, M. (2018). Effect of white striping on turkey breast meat quality. *Animal*, 12(10): 2198-2204, <https://doi.org/10.1017/S1751731117003469>.
- Tasoniero, G., Cullere, M., Cecchinato, M., Puolanne, E., Zotte, A.D. (2016). Technological quality, mineral profile, and sensory attributes of broiler chicken breasts affected by White Striping and Wooden Breast myopathies. *Poultry Science*, 95: 2707-2714, <https://doi.org/10.3382/ps/pew215>.
- U-Chupaj, J., Malila, Y., Gozzi, G., Vannini, L., Dellarosa, N., Laghi, L., Petracci, M., Benjakul, S., Visessanguan, W. (2021). Influence of non-phosphate and low-sodium salt marination in combination with tumbling process on properties of chicken breast meat affected by white striping abnormality. *Journal of Food Science*, 86(2): 319-327, <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15565>.
- Uyarcan, M., Yayla, E., Akgül, D., İşseven, D. (2021). 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.
- Witte, V.C., Krauze, G.F., Bailey, M.E. (1970). A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *Journal of Food Science*, 35: 582-585, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1970.tb04815.x>.
- Zaid, A., Abu-Khalaf, N., Mudalal, S., Petracci, M. (2020). Differentiation between Normal and White Striped Turkey Breasts by Visible/Near Infrared Spectroscopy and Multivariate Data Analysis. *Food Science of Animal Resources*, 40(1): 96-105, DOI: 10.5851/kosfa.2019.e88.

Zampiga, M., Flees, J., Meluzzi, A., Dridi, S., Sirri, F. (2018). Applications of omics technologies for a deeper insight into quali-quantitative production traits in broiler chickens: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 9: 61, <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0278-5>.

Zuidhof, M.J., Schneider, B.L., Carney, V.L., Korver, D.R., Robinson, F.E. (2014). Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. *Poultry Science*, 93: 2970-2982, <https://doi.org/10.3382/ps.2014-04291>.



GLUTENSİZ ŞALGAM SUYU ÜRETİMİ VE TS11149 ŞALGAM SUYU STANDARDINA UYGUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI

Şeyda Yanardağ Karabulut^{1*}, Sami Bulut²

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

² Trakya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Edirne, Türkiye

Geliş/Received: 03.09.2023; Kabul /Accepted: 17.02.2024; Online baskı /Published online: 06.03.2024

Yanardağ Karabulut, Ş., Bulut, S. (2024). Glutensiz şalgam suyu üretimi ve TS 11149 şalgam suyu standardına uygunluğunun araştırılması. GIDA (2024) 49 (2) 269-283 doi: 10.15237/ gida.GD23100

Yanardağ Karabulut, Ş., Bulut, S. (2024). Production of gluten-free shalgam juice and its compliance with the TS11149 turnip juice standard. GIDA (2024) 49 (2) 269-283 doi: 10.15237/ gida.GD23100

ÖZ

Bu çalışmada geleneksel bir Türk içeceği olan şalgam suyunun üretiminde kullanılan bulgur unu yerine %60 mısır ve %40 pirinç unu karışımı kullanılarak glutensiz şalgam suyu üretilmiş ve TS11149 şalgam suyu standardına uygunluğu araştırılmıştır. Elde edilen veriler glutensiz şalgam suyunun duyuşsal olarak, renk ve ekşilik hariç, bulgur unlu şalgam suyu ile karşılaştırılabilir nitelikte olduğunu göstermiştir. Bulgur unu (gluten) içeren ve gluten içermeyen şalgam sularının üretildiği bu karşılaştırmalı çalışmadan elde edilen veriler; üretilen şalgam sularının toplam asit (9.37-6.76>6 g/L), kül (13.94-12.98<20 g/L) ve tuz (1.55-1.47<%2) kriterleri bakımından TS11149 ile uyumlu olduğu, pH (2.83-2.87<3.3-3.8) ve toplam kuru madde (21.49-18.06<25 g/L) değerlerinin TS11149'daki değerlerden düşük olduğu, toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısının ilgili standarttaki limit değerden (6.15-7.77>5 log KOB/mL) yüksek olduğu ve sadece bulgur unu ile üretilen şalgam suyunun briksinin standarttaki limit değeri (2.83>2.5 °B) karşıladığı şeklindedir. Literatür verileri ve bu çalışma ile elde edilen sonuçlar TS11149 şalgam suyu standardında revizyon yapılması gerektiğini ortaya çıkarmıştır.

Anahtar kelimeler: Glutensiz şalgam suyu, TS11149 şalgam suyu standardı

PRODUCTION OF GLUTEN-FREE SHALGAM JUICE AND ITS COMPLIANCE WITH THE TS11149 TURNIP JUICE STANDARD

ABSTRACT

In this study, turnip juice, which is a traditional Turkish beverage was produced gluten-free by using a mixture of 60% corn and 40% rice flour instead of bulgur flour used in the production of traditional turnip juice and its compliance with the TS11149 turnip juice standard was investigated. Gluten-free turnip juice was sensorially comparable to standard turnip juice, except for color and sourness. The data obtained from this comparative study, in which bulgur flour containing and gluten-free turnip juices were produced, showed that the produced turnip juices contained total acid (6.53-9.1>6 g/L), ash (12.98-13.94<20 g/L) and salt (1.47-1.55<2%) is compatible with TS11149 in terms of criteria, pH (2.81-2.82<3.3-3.8) and total dry matter (18.06-21.49<25 g/L) values are lower than the values in TS11149; the total number of mesophilic aerobic bacteria is higher than the limit value in the relevant standard (6.15-7.77>5 log CFU/mL) and the brix of turnip juice produced only with bulgur

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉: seyda karabulut@klu.edu.tr

☎ (+90) 288 214 0514

☎ (+90) 288 214 0516

Şeyda Yanardağ Karabulut; ORCID no: 0000-0002-9649-5874

Sami Bulut; ORCID no: 0000-0002-6677-1612

flour meets the limit value in the standard ($2.83 > 2.5$ °B). The literature data and the results obtained with this study revealed that a revision should be made in the TS11149 turnip juice standard.

Keywords: Gluten-free shalgam juice, TS11149 turnip juice standard

GİRİŞ

TS11149 şalgam suyu standardında şalgam suyu, “Bulgur unu, ekşi hamur, içme suyu ve yemeklik tuzun karıştırılıp laktik asit fermentasyonuna tabi tutulduktan sonra elde edilen özütün, kara havuç (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef), şalgam ve istenirse acı toz biber ilave edilerek hazırlanan karışımın tekrar laktik asit fermentasyonuna tabi tutulması ile elde edilen ve istenildiğinde ısı işlem ile dayanıklı hale getirilen bir ürün” olarak tanımlanmıştır.

İştah açıcı ve sindirimi düzenleyici geleneksel bir ürün (Canbaş ve Fenercioğlu, 1984, Özler ve Kılıç, 1996) olan şalgam (*Brassica rapa* subsp. *rapa*) suyunun kalsiyum, demir ve A, C, B grubu vitaminlerince (Canbaş ve Fenercioğlu, 1984) ve fenolik maddelerce zengin olduğu, vücuttan toksinleri uzaklaştırdığı, böbrek taşı oluşumunu azalttığı, akne, egzama, apse ve hematomu tedavi etmeye, idrar söktürmeye, akciğer ve bronşları temizlemeye yardımcı olduğu belirtilmiştir (Coşkun, 2017).

Fonksiyonel gıda olarak da değerlendirilebilecek olan şalgam suyunun üretiminde ekşi hamur ve bulgur unu kullanıldığından gluten hassasiyeti olanlar için uygun bir içecek olmayabilmektedir. Bulgur, önceden jelatine edilmiş geleneksel ve fonksiyonel bir buğday ürünü olup, genel olarak durum buğdayından temizleme, kaynatma, kurutma, kısmen kepek ayırma, öğütme ve eleme proses adımları ile üretilmektedir (Candal-Uslu vd., 2020). Gluten buğday, arpa, yulaf ve çavdarın esas proteini olup, glutenin ve gliadin bileşenlerinden oluşmaktadır (Guandalini ve Polanco, 2015). Gluten içeren buğday türevleri ise bulgur, setik ve kuskustur (Saturni vd., 2010; Sapone vd., 2012; Lamacchia vd., 2014; Fardet, 2015; Elli vd., 2019; Candal-Uslu vd., 2020). İleri düzeyde gluten hassasiyeti, çölyak hastalığı olarak bilinmektedir. Ancak çölyak olmadığı halde glutene karşı duyarlılık gösteren bireylerin de olduğu bildirilmiştir. Çölyak dışı gluten duyarlılığı olarak adlandırılan bu durum daha ziyade kadınlarda, genç ya da orta yaştaki bireylerde

görülmektedir (C-Bulsa, 2015; Guandalini ve Polanco, 2015; Roszkowska vd., 2019). Belirtileri; kabızlık ve/veya ishal, şişkinlik, karın ağrısı, (Guandalini ve Polanco, 2015; Rostami vd., 2015) mide bulantısı, epigastrik ağrı, gastroözofageal reflü, yorgunluk, baş ağrısı, fibromiyalji benzeri eklem / kas ağrısı, bacak veya kol uyuşması, deri döküntüsü, depresyon ve anemidir (Guandalini ve Polanco, 2015; Roszkowska vd., 2019). Yapılan çalışmalar glutenin yanı sıra buğdayda bulunan amilaz-tripsin inhibitörleri, fermente edilebilir kısa zincirli karbonhidratlar ve amilaz gibi bileşenlerin de çölyak dışı gluten duyarlılığı olan bireylerde görülen semptomların (özellikle hassas bağırsak sendromu) ortaya çıkma olasılığını artırdığını göstermiştir (Catassi vd., 2013; Roszkowska vd., 2019; Cárdenas-Torres vd., 2021). Ayrıca çölyak dışı gluten hassasiyeti tanısı için çölyak (lökosit antijeni (HLA)-DQ2 ve/veya HLA-DQ8 haplotipleri) ve buğday alerjisinde (immünoglobulin E antikorları) olduğu gibi hassas ve tekrarlanabilir biyobelirteçlerin bulunmaması nedeniyle plasebo kontrollü gluten testlerinin yapılması gerekmektedir (Cárdenas-Torres vd., 2021). Tanısının zor olması, gluten dışı fermente edilebilir oligo-, di-, monosakkaritler ve poliollerin de (FODMAP) semptomlara neden olabilmesi ve bireyden bireye hassasiyet gösterilen bileşiklerin sayı / tür ve tolerans eşik değerlerinin değişken olması nedeniyle “gutesiz” ibaresinin gıda etiketlerinde kullanımında daha dikkatli ve temkinli olunması gerektiğini göstermektedir.

Codex Alimentarius, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından kabul gören yaklaşıma göre içeriğinde 20 ppm’den daha az gluten içeren gıdaların etiketinde “gluten içermez” ibaresi bulunabilir (Verma vd., 2017). Ülkemizde de aynı yaklaşım benimsenmiş olup etiket üzerine “gluten içermez” ibaresinin konulabilmesi için gıdanın içeriğinde 20 ppm’den daha az gluten olması gerektiği Türk Gıda Kodeksi Gluten İntoleransı Olan Bireylere Uygun Gıdalar Tebliği’nde belirtilmiştir (Anonymous, 2012).

Piyasada satılan bazı şalgam sularında “gluten içermez” ibaresi bulunsa da üreticilerle yapılan görüşmelerden, bu şalgam sularının üretiminde bulgur kullanıldığı anlaşılmıştır ancak son üründe 20 ppm’den daha az gluten bulunduğu için bu ibare etikette yer almaya devam etmektedir. Bu durum şalgam suyunun fermantasyonunda rol alan laktik asit bakterilerinden (Tanguler ve Erten, 2012b; Altay vd., 2013; Okcu vd., 2016; Yetiman vd., 2022) özellikle proteolitik laktobasillerin gluteni proteolize ederek toksisitesini azaltması (Moroni vd., 2009; D’Amico vd., 2023) ile açıklanabilir.

Ekşi hamur üzerinde yapılan çalışmalarda laktik asit bakterileri (LAB) tarafından fermente edilen hamurda glutenin depolimerize olduğu, laktobasillerin proteolitik aktivitesi sonucunda toksik gluten epitoplarını da içeren peptitlerin parçalandığı ve bunun sonucunda glutenden kaynaklı alerjik reaksiyonların ve yangının (iltihaplanma) azalabileceği rapor edilmiştir (Moroni vd., 2009; Bender ve Schönlechner, 2020; Canesin ve Cazarin, 2021; D’Amico vd., 2023; Ribet vd., 2023). D’Amico vd. (2023) ekşi mayalı hamur fermantasyonunda laktobasillerin ve fungal proteazların birlikte kullanılmasıyla glutenin etkili bir şekilde parçalanabileceğini ve elde edilen ekmeklerin çölyak hastaları tarafından da kullanılabilmesini belirtmiştir (Rizzello vd., 2007; De Angelis vd., 2010). Ayrıca ekşi mayalı hamurdan yapılan ürünlerin besin değerinin ve sindirilebilirliğinin arttığına ve fitik asit ve gluten gibi anti-besleyici (anti-nutrient) faktörlerin azaldığına dair iddiaların in-vitro çalışmalara dayandığı, randomize klinik denemelerle desteklenmediği kaydedilmiştir. Etiketinde “gluten içermez” ibaresi bulunan ürünlerde 20 ppm’den daha fazla gluten bulunabileceğini kaynaklara (Verma vd., 2017; Falcomer vd., 2020) dayandıran yazarlar bu durumun 20 ppm’den daha az glutene maruz kaldıklarında bile ciddi reaksiyonlar gösterebilecek olan ileri derecede çölyak hastaları için olumsuz sonuçlar doğurabileceğini vurgulamışlardır.

Şalgam suyu fermantasyonu sırasında bulgur gluteninin parçalandığı ve son üründe 20 ppm’den daha az gluten bulunduğu için “gluten içermez”

ibaresinin etiketlerde yer aldığı anlaşılmalı birlikte, bu şalgam sularının çölyak hastaları tarafından güvenle kullanılabilmesine dair klinik bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle şalgam suyunun fermantasyonunda kullanılan bulgur unu yerine mısır ve pirinç unu gibi karbonhidrat ve protein kaynaklarının kullanılabilirliğinin araştırılması çölyak hastaları için tamamen güvenli ve pazarlaması daha kolay bir ürünün piyasaya sunulabilmesi açısından önem taşımaktadır.

Bu çalışmada geleneksel yöntemle bulgur unu kullanılarak elde edilen şalgam suyu ile mısır ve pirinç unu kullanılarak elde edilen glutensiz şalgam suyu karşılaştırılmış ve TS 11149 şalgam suyu standardına uygunluğu araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

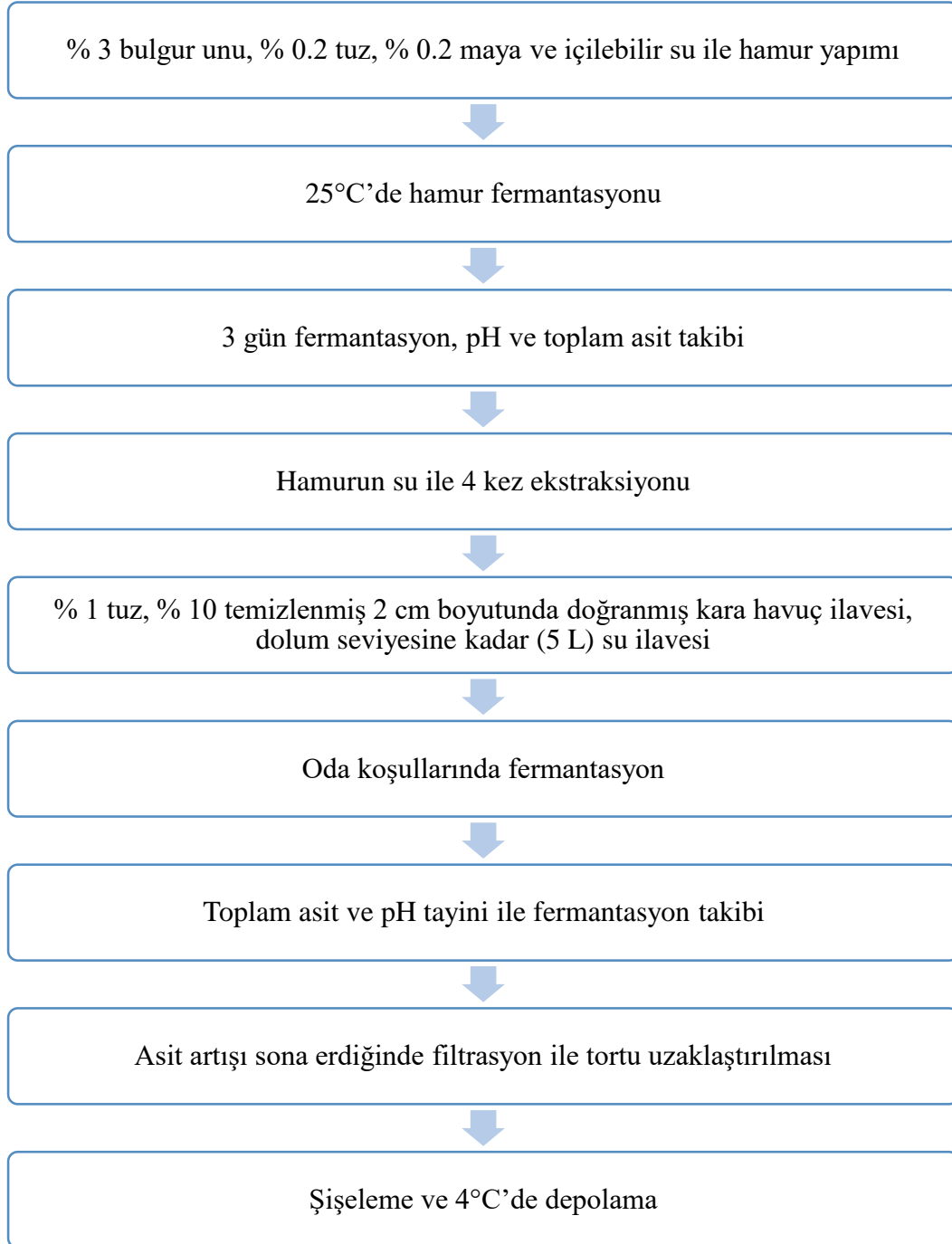
Şalgam suyu üretimi geleneksel fermantasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kullanılacak olan siyah havuç Mersin halinden temin edilerek buzdolabında saklanmış ve kullanılacağı zaman buzdolabından çıkarılıp yıkanarak yaklaşık 2-3 cm boyutlarında doğranmıştır. Deneylerde kullanılan kaya tuzu (Bağdat, Migros, Kırklareli), maya (*Saccharomyces cerevisiae*, Dr Oetker, Migros, Kırklareli) yerel bir marketten ve bulgur unu ise bir bulgur değirmeninden (Asri değirmen, Malatya) temin edilmiştir. Sodyum hidroksit, Plate Count agar, MRS (Man, Rogosa And Sharpe) agar, Dichloran Rose bengal agar ve potasyum klorür Merck (Almanya)’ten temin edilmiştir.

Şalgam suyu üretimi

Bulgur unu içeren şalgam suyu üretimi için Üçok ve Tosun (2012) tarafından kullanılan yöntem kısmen modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla %3 bulgur unu, %0.2 tuz, %0.2 kuru maya içme suyu ile hamur haline getirilmiştir. Elde edilen hamur oda koşullarında üç gün boyunca fermantasyona bırakıldıktan sonra içme suyu ile hamur 4-5 kez ekstrakte edilmiş ve bu ekstrakta %1 kaya tuzu, %20 siyah havuç ilave edilip içme suyu ile hacmine tamamlanmıştır. Oda koşullarında gerçekleştirilen fermantasyon süresi boyunca her gün 2 tekrarlı olarak pH ve toplam asit değerleri ölçülmüş, pH ve/veya toplam asit

değerleri 3 gün süresince sabit kaldığında fermantasyon sonlandırılmıştır. Bu aşamadan sonra kaba filtre kağıtları ile süzülen şalgam suları

bir litrelik steril cam şişelere doldurulup +4°C'de 200 gün depolanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Şalgam suyu üretim akım şeması. Üçok ve Tosun (2012) tarafından yapılan çalışmadan adapte edilmiştir.

Figure 1. Shalgam juice production flow chart Adapted from the study by Üçok and Tosun (2012).

Glutensiz şalgam suyu üretiminde bulgur unu yerine, ön denemelerden elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurularak, %60 mısır unu ve %40 pirinç unundan oluşan karışım kullanılmış olup diğer tüm bileşenler için formülasyon aynı kalmıştır. Fermantasyon takibi, sonlandırılması, elde edilen şalgam suyunun filtrelenmesi, şişelenmesi ve depolanması geleneksel fermantasyonda açıklandığı gibi gerçekleştirilmiştir.

Fizikokimyasal analizler

Elde edilen şalgam sularının TS 11149 standardına uygunluğunu belirlemek amacıyla aşağıda belirtilen fizikokimyasal analizler iki paralelli olarak çalışılmıştır.

pH ve toplam asit analizi

Örneklerin pH'sı el tipi pH metre (Hanna, HI99163, ABD) ile ölçülmüştür. Hamurda ve şalgam sularında toplam asit tayini titrasyon yöntemi ile belirlenmiş ve toplam asitlik laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2013).

Kuru madde tayini

Kaynar su banyosunda (Daihan, WB6, Güney Kore) suyu uçurulan örnekler etüvde (Nüve, FN055, Türkiye) 105°C'de sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuştur (Cemeroğlu, 2013).

Tuz tayini

Mohr metodundan yararlanılmıştır. Bu amaçla 10 mL örnek seyreltilip pH'sı nötralize edildikten sonra potasyum kromat indikatörü eşliğinde 0.1N gümüş nitratla esmer kırmızı renk oluşana kadar titre edilmiştir. Gerekli hesaplamalar yapılarak % tuz miktarı belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2013).

Kül tayini

Örnekler kaynar su banyosunda suyu tamamen buharlaştırıldıktan sonra kül fırınında (Daihan, Wisd FHPX-03, Güney Kore) 105°C'de 1 saat kurutulmuştur. 550°C'de 6-8 saat sabit ağırlıkta beyaz kül oluşana kadar yakılmıştır (Cemeroğlu, 2013).

Mikrobiyolojik analizler

Elde edilen şalgam sularının TS 11149 standardına uygunluğunu, laktik asit bakterileri, maya ve küf

sayılarını belirlemek amacıyla aşağıda belirtilen mikrobiyolojik analizler üç paralelli olarak çalışılmıştır.

TMAAB analizi

pH'sı 7.1'e ayarlanmış Fosfat tamponu (PBS) ile hazırlanan örnek dülüsyonlarının ekimleri damlatma yöntemiyle (Bulut vd., 2014; Whitmire ve Merrell, 2012), pH'sı 7.0±0.2 olan Plate Count Agar'a (PCA, Merck) üç paralelli olarak yapılmıştır. 30°C'de 24-48 saat inkübasyon (Daihan, Wisecube WIG-155, Güney Kore) sonunda oluşan koloniler sayılmıştır.

LAB (laktik asit bakterileri sayısı) analizi

Fosfat tamponu (PBS) ile hazırlanan örnek dülüsyonlarının ekimleri damlatma yöntemiyle pH'sı 5.6–5.9 olan MRS Agar'a (Man, Rogosa and Sharpe, Merck) üç paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. 30°C'de 48-72 saat inkübasyon (Daihan, Wisecube WIG-155, Güney Kore) sonunda oluşan koloniler sayılmıştır (Pektaş, 2014).

Toplam maya ve küf analizi

Fosfat tamponu (PBS) ile hazırlanan örnek dülüsyonlarının ekimleri yayma yöntemiyle pH'sı 5.6±0.2 olan Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar'a (Merck) üç paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. 25°C'de 5 gün inkübasyon (Nüve, ES 120, Türkiye) sonunda gelişen koloniler sayılmıştır (Özer ve Çoksöyler, 2015).

Duyusal analiz

Örneklerle uygulanan duyusal analiz 5 skalalı (1: Çok kötü, 2: Kötü, 3: Orta, 4: İyi, 5: Çok iyi) puanlama testidir (Özdemir vd., 2021). Örnek grupları kontrol olarak ticari bir markanın şalgam suyu ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Panelistlere yaklaşık 30 ml olarak sunulan her bir örneğin renk, koku, lezzet, ekşilik, genel beğeni olarak 1'den 5'e kadar puanlanması istenmiştir. Her bir panel 7 kişi ile gerçekleştirilmiştir. Panelistlere bulgur unlu şalgam suyu, glutensiz şalgam suyu ve ticari şalgam suyu (market örneği) örneklerinden oluşan duyusal panel raf ömrü süresince belirli periyotlarla uygulanmıştır.

İstatistiksel analiz

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

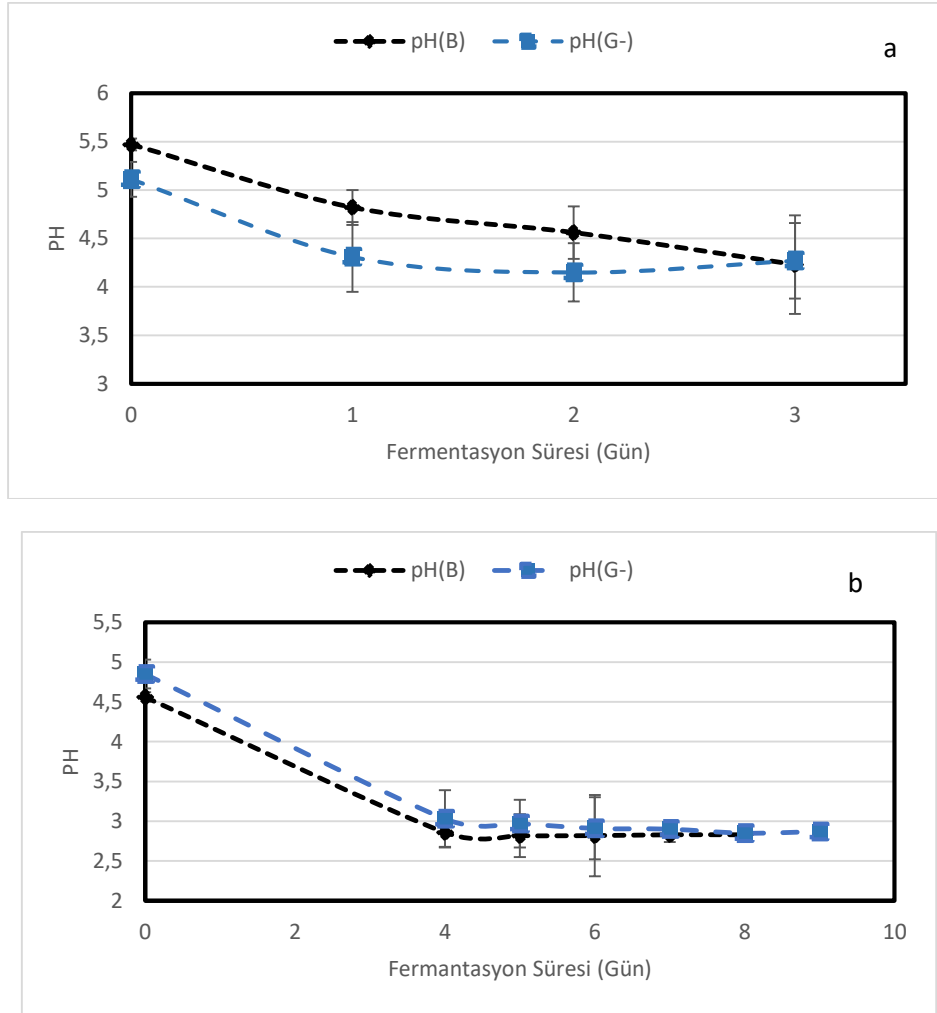
SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Fizikokimyasal özellikler

TS 11149 şalgam suyu standardına göre şalgam suyunun pH'sı 3.3-3.8, titre edilebilir asitlik (laktik asit olarak) en az 6.0 g/L, çözünür katı madde en az %2.5 (m/m), tuz oranı ve kül miktarı en çok

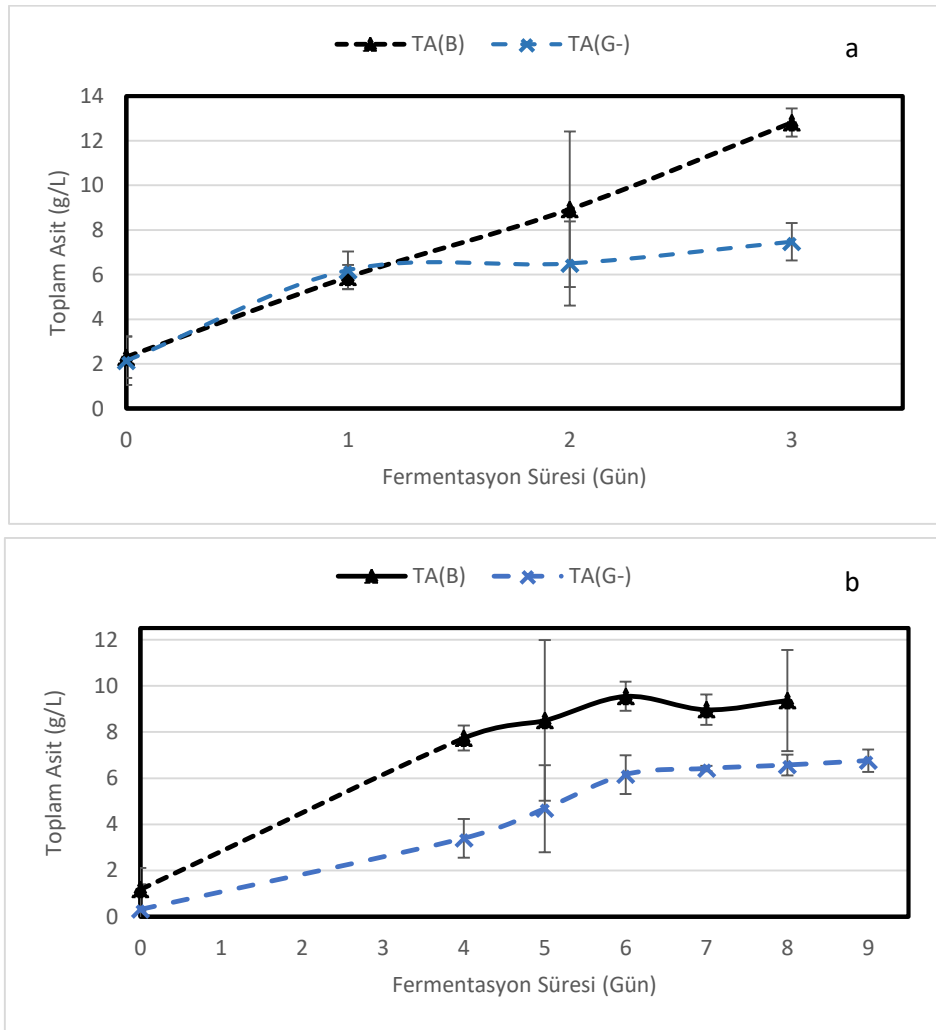
%2.0 (m/v) olmalıdır (Özer ve Çoksöyler, 2015; Ekinci vd., 2016).

Şekil 2a'da görüldüğü üzere bulgur unlu ve glutensiz şalgam suları için hazırlanan hamurların pH'sı sırasıyla 5.47 ve 5.11 iken, 3 günlük fermantasyon sonunda pH sırasıyla 4.23 ve 4.27 olarak kaydedilmiştir. Laktik asit cinsinden toplam asitlik ise, bulgur unlu ve glutensiz şalgam suları için hazırlanan hamurlarda başlangıçta 2.31 ve 2.14 g/L iken, 3 günlük fermantasyon sonunda bulgur unlu şalgam suyu için 12.81 g/L ve glutensiz şalgam suyu için ise 7.47 g/L olarak ölçülmüştür (Şekil 3a).



Şekil 2. Fermantasyon süresince pH değişimi (G-: glutensiz; B: bulgur unlu; a: hamur fermantasyonu; b: havuç fermantasyonu)

Figure 2. pH change during fermentation (G-: gluten-free; B: containing bulgur flour; a: dough fermentation; b: carrot fermentation).



Şekil 3. Fermantasyon süresince toplam asit değişimi (G-: glutensiz; B: bulgur unlu şalgam suyu; a: hamur fermantasyonu; b: havuç fermantasyonu)

Figure 3. Total acid change during fermentation (G-: gluten-free; B: containing bulgur flour; a: dough fermentation; b: carrot fermentation).

Şekil 2b'de görüldüğü üzere havuç fermantasyonu başlangıcında bulgur unlu ve glutensiz şalgam sularının pH değerleri sırasıyla 4.56 ve 4.85 iken, 7. günde 2.83 ve 2.90'a düşmüş, ilerleyen günlerde pH'da önemli bir değişiklik kaydedilmediğinden bulgur unlu şalgam suyu 8. günde 2.83 pH değeri ile, glutensiz şalgam suyu ise 9. günde 2.87 pH değeri ile filte edilip, şişelenmiş ve +4 °C'de depolanmıştır.

Şekil 3b'de görüldüğü üzere havuç fermantasyonu başlangıcında bulgur unlu ve glutensiz şalgam suları için sırasıyla 1.18 ve 0.32 g laktik asit/L olan

toplam asitlik değerleri fermantasyon sonunda 9.37 ve 6.76 g laktik asit/L değerlerine ulaşmıştır. Çizelge 1'de, bulgur unlu ve glutensiz şalgam sularının fermantasyonları sonlandırıldığında ölçülen pH ve TA değerlerinin, literatür sonuçları ve TS 11149 ile kıyaslanması gösterilmiştir. Üretilen şalgam sularının toplam asit değerleri, bulgur unlu ve glutensiz şalgam suyu için sırasıyla, 9.10 ± 0.09 ve 6.53 ± 0.24 g laktik asit/L olarak belirlenmiş olup TS 11149 şalgam suyu standardı ile (>6 g laktik asit/L) uyumludur. Literatür çalışmaları incelendiğinde, şalgam sularının toplam asitliğinin 3.7-12.6 g/L arasında değiştiği

görülmektedir (Özler ve Kılıç, 1996; Deryaoğlu, 2005; Utuş, 2008; Özdestand ve Üren, 2010; Çakır, 2011; Tangüler ve Erten, 2012a; Tangüler ve Erten, 2012b; Bayram vd., 2014; Tangüler vd., 2014; Özer ve Çoksöyler, 2015; Mete vd., 2017; Tangüler vd., 2017; Ağırman ve Erten, 2018; Boyacı- Gündüz vd., 2018; Güven vd., 2019). Bu çalışmada üretilen şalgam sularının pH değerleri, bulgur unlu ve glutensiz şalgam suyu için sırasıyla, 2.83 ± 0.01 ve 2.87 ± 0.01 olarak belirlenmiştir. TS 11149'da pH 3.3-3.8 olarak belirtilmişken, literatür bulguları için bu değer 3.25-4.25 aralığında değişmektedir (Özler ve Kılıç, 1996; Deryaoğlu, 2005; Utuş, 2008; Özdestand ve Üren, 2010; Çakır, 2011; Tangüler ve Erten, 2012a; Tangüler ve Erten, 2012b; Bayram vd., 2014; Tangüler vd., 2014; Özer ve Çoksöyler, 2015; Mete vd., 2017; Tangüler vd., 2017; Ağırman ve Erten, 2018; Boyacı- Gündüz vd., 2018; Güven vd., 2019). Çizelgeden görüleceği üzere, üretilen şalgam sularının toplam asit değerleri literatür ve standart ile paralellik gösterirken, pH değeri literatür verilerine ve TS standardına göre düşük

kalmaktadır. Düşük pH, fermantasyon sürecinin daha etkin bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir. Mikrobiyolojik sonuçlar (Çizelge 4) şalgam fermantasyonunun mayalar ve LAB'leri tarafından gerçekleştirildiğini göstermektedir. Mayaların büyük ölçüde hamur fermantasyonu için kullanılan *S. cerevisiae*'dan, LAB'nin ise bulgur ve kara havucun doğal florasında bulunan LAB'nden oluştuğu varsayılabilir. *S. cerevisiae*'nin pH 2.5'e kadar gelişim gösterebileceği bildirilmiştir (Liu vd., 2015). LAB'nin nötral pH'larda optimum gelişim gösterdiği bilinmekle birlikte gelişim gösterebilecekleri minimum pH değerlerinin LAB suşlarına göre farklılıklar gösterdiği (Hutkins vd., 1993) ve pH 3.1'de gelişim gösteren LAB'lerinin olduğu bildirilmiştir (Yu vd., 2022). Bu çalışmada elde edilen şalgam sularının pH'larının düşük olması fermantasyonda mayaların etkin bir rol aldığına işaret edebilir. Ayrıca, kullanılan mor havuç miktarı, mor havuçların doğranma boyutu ve şeker içeriği de iyi bir fermantasyon sonucunda düşük pH elde edilmesinde rol oynamış olabilir.

Çizelge 1. Üretilen bulgur unlu (B) ve glutensiz (G-) şalgam sularının fermantasyonları sonlandırıldığında ölçülen pH ve TA değerleri, literatür sonuçları ve TS 11149 ile kıyaslanması.

Table 1. Comparison of the pH and TA values measured when the fermentation of the produced bulgur flour (B) and gluten-free (G-) turnip juices was terminated with the literature results and TS 11149.

	pH	TA(g/L)
TS 11149 Şalgam Suyu Standardı	3.3-3.8	>6
B	2.83 ± 0.01	9.37 ± 0.09
G-	2.87 ± 0.01	6.76 ± 0.27
Güven vd. (2019)	3.49-3.96	5.98-10.8
Tangüler vd. (2017)	3.43-3.56	6.36-9.27
Ağırman ve Erten (2018)	3.26-3.47	7.4-8.71
Boyacı Gündüz vd. (2018)	3.62	9.16
Mete vd. (2017)	3.5	4.5
Özer ve Çoksöyler (2015)	3.4	7.3
Bayram vd. (2014)	3.58-3.62	3.7-5.0
Tangüler vd. (2014)	3.42-3.55	6.33-9.22
Tangüler ve Erten (2012a)	3.28-3.48	6.54-7.25
Tangüler ve Erten (2012b)	3.5	6.81-8.27
Çakır (2011)	3.31-4.13	6.3-12.6
Özdestand ve Üren (2010)	3.15-4.25	5.30-10.28
Utuş (2008)	3.45-3.53	7.15-7.75
Deryaoğlu (2005)	3.38-3.49	7.19-7.69
Özler ve Kılıç (1996)	3.34-3.37	5.2-8.9

G-: glutensiz; B: bulgur unlu ; \pm standart sapma. G-: gluten-free; B: containing bulgur flour; \pm standard deviation.

TS 11149 şalgam suyu standardına göre briks en az %2.5 (m/m), tuz ve kül miktarı en çok %2 ve toplam kuru madde en az %2.5 olmalıdır. Üretilen şalgam sularının briks, tuz ve kül değerleri, bulgur unlu ve glutensiz şalgam suları için sırasıyla, 2.83 °B, 2.08 °B; % 1.55, % 1.47 ve 13.94 g/L, 12.98 g/L olarak belirlenmiştir. Şalgam sularının tuz ve kül değerleri standarda uygun olup, glutensiz şalgam suyunun briks değeri standarttaki minimum değerlerin altında kalmaktadır. Bu durum, glutensiz şalgam suyunun üretiminde kullanılan mısır ve pirinç unlarının suda çözünen madde miktarı üzerine etkisi ve fermantasyonun etkin bir şekilde gerçekleşmesi ile açıklanabilir. Literatür verilerine göre (Çizelge 3) briks ve kül değerleri sırasıyla 2.5-4.0 °B; 13.2-19.7 g/L aralığında olup (Utuş, 2008; Çakır, 2011; Ağırman ve Erten, 2018) TS 11149 ile uyumludur.

Bulgur unlu (21.49±0.10 g/L) ve glutensiz (18.06±0.11 g/L) şalgam sularının toplam kuru madde değerleri, standarttaki minimum değer (25 g/L) altında kalmaktadır. Bu çalışmada elde edilen şalgam sularında briks ve toplam kuru madde içeriğinin düşük olması, fermantasyonun daha etkin bir şekilde gerçekleşmesi ile açıklanabilir. Nitekim fermantasyon sonunda ulaşılan düşük pH ve yüksek toplam asitlik, fermantasyonun etkin bir şekilde gerçekleştiğini, dolayısı ile mikrobiyal floranın besin maddelerini daha fazla metabolize ettiğini göstermektedir. Literatür verileri de laboratuvar çalışmalarından elde edilen şalgam sularının toplam kuru madde içeriklerinin çoğunlukla TS 11149'de belirtilen 25 g/L'den daha düşük olduğunu göstermektedir (Utuş, 2008; Güven vd., 2019).

Çizelge 2. Şalgam sularında yapılan analiz sonuçları.

Table 2. Analysis results of turnip juices.

Analizler	G-	B	TS 11149
Kül (g/L)	12.98±0.06	13.94±0.02	<20
Toplam kuru madde(g/L)	18.06±0.11	21.49±0.10	>25
Briks	2.08±0.00	2.83±0.00	>2.5
%Tuz	1.47±0.06	1.55±0.01	<2.0

G-: glutensiz; B: bulgur unlu ; ± standart sapma. G-: *gluten-free*; B: *containing bulgur flour*; ± *standard deviation*.

Çizelge 3. Şalgam sularının kimyasal özelliklerinin literatür ile kıyaslanması.

Table 3. Comparison of the chemical properties of turnip juices with the literature.

	Toplam kuru madde, g/L	Briks, %	Kül, g/L
B	21.49±0.10	2.83±0.00	13.94±0.02
G-	18.06±0.11	2.08±0.00	12.98±0.06
Güven vd. (2019)	16.48-30.09	-	-
Ağırman ve Erten (2018)	26.77-32.37	-	17.76-18.95
Özer ve Çoksöyler (2015)	34.0	-	-
Çakır (2011)	-	2.5-4.0	13.2-19.7
Özdehan ve Üren (2010)	23.3-36.7	-	-
Utuş (2008)	22.65-23.8	-	14.12-16.25
Deryaoğlu (2005)	26.0-26.6	-	-

G-: glutensiz; B: bulgur unlu; ± standart sapma. G-: *gluten-free*; B: *containing bulgur flour*; ± *standard deviation*.

Mikrobiyolojik özellikler

TS 11149 şalgam suyu standardına göre şalgam suyunda TMAB sayısı en fazla 1.0x10⁵ KOB/mL, koliform bakteri sayısı ise en fazla 1100 KOB/mL olmalıdır (Özer ve Çoksöyler, 2015; İkinci vd., 2016).

Çizelge 4'teki verilere göre, üretilen şalgam sularının TMAB, LAB ve maya-küf sayıları, bulgur unlu şalgam suları için sırasıyla 6.15, 6.52 ve 3.57 log KOB/mL ve glutensiz şalgam suyu için ise sırasıyla 7.77, 7.36 ve 4.26 log KOB/mL olarak belirlenmiştir. Literatürde ise bu değerler sırasıyla 4.77-8.09; 6.51-8.61 ve 4.51-7.60 log KOB/mL

aralığındadır (Utuş, 2008; Tangüler vd., 2014; Özer ve Çoksöyler, 2015; Ağırman ve Erten, 2018; Çankaya ve Tangüler, 2018). Üretilen şalgam sularının TMAB ve LAB sayıları literatür ile paralel; maya-küf sayıları ise literatür sonuçlarından daha düşüktür. Hem üretilen şalgam sularının hem de literatür sonuçlarının, Özer ve Çoksöyler (2015) tarafından yapılan çalışma hariç, TMAB sayısı standartta tanımlanan limit değerinin üzerindedir. Bunun nedeni şalgam

suyu fermantasyonunda mayaların rol almasıdır. Hem maya hem laktik asit fermantasyonu ile elde edilen bir ürün olan şalgam suyunda TMAB sayısının yüksek çıkması beklenen bir neticedir. Nitekim laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, mayaların TMAB sayımı için uygulanan protokol sonucunda PCA'da koloni oluşturduğu gözlemlenmiştir (yayınlanmamış sonuçlar).

Çizelge 4. Şalgam sularının fermantasyon sonlandırıldığındaki TMAB, LAB ve Maya-Küf sayısının (log KOB/mL) literatürdeki fermantasyon sonu değerleri ile kıyaslanması.

Table 4. Comparison of the TMAB, LAB and Yeast-Mold numbers (log CFU/mL) of turnip juices at the end of fermentation with the end-of-fermentation values in the literature.

	TMAB, log KOB/mL	LAB, log KOB/mL	MK, log KOB/mL
B	6.15	6.52	3.57
G-	7.77	7.36	4.26
Ağırman ve Erten (2018)	6.73-7.17	8.0-8.61	6.89-7.12
Çankaya ve Tangüler (2018)	7.87-8.09	6.59-8.27	6.39-7.59
Özer ve Çoksöyler (2015)	4.77	6.51	4.51
Tangüler vd. (2014)	7.03-7.46	7.43-7.74	6.96-7.50
Utuş (2008)	7.08-7.64	7.46-7.49	7.18-7.60
TS 11149 Şalgam Suyu Standardı	<5.0	-	-

G-: glutensiz; B: bulgur unlu. G-: *gluten-free*; B: *containing bulgur flour*

Duyusal özellikler

Bulgur unlu ve glutensiz şalgam suyunun duyuşal beğenisinin kıyaslanabilmesi için raf ömrünün ilk 198 günü boyunca düzenli periyotlarla duyuşal

analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 5'te özetlenmiştir.

Çizelge 5. +4°C'de depolanan örneklerde raf ömrü boyunca yapılan duyuşal panel sonuçlarının ortalaması

Table 5. Average of sensory panel results during shelf life of samples stored at +4°C.

Örnek	Renk	Koku	Lezzet	Ekşilik	Genel Beğeni
B	3.98±0.79 ^a	3.51±0.96 ^a	3.26±0.91 ^a	3.65±1.08 ^a	3.30±0.80 ^a
G-	3.11±1.03 ^b	3.27±1.16 ^a	2.93±0.96 ^a	3.09±1.08 ^b	2.94±1.40 ^a
M	3.82±1.10 ^a	2.94±1.43 ^a	3.41±1.37 ^a	3.13±1.08 ^{ab}	3.32±1.36 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır (P ≤0.05). Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

*Mean values represented by the same letters within the same column are not significantly different at P ≤0.05. Data are expressed as means ± standard deviations

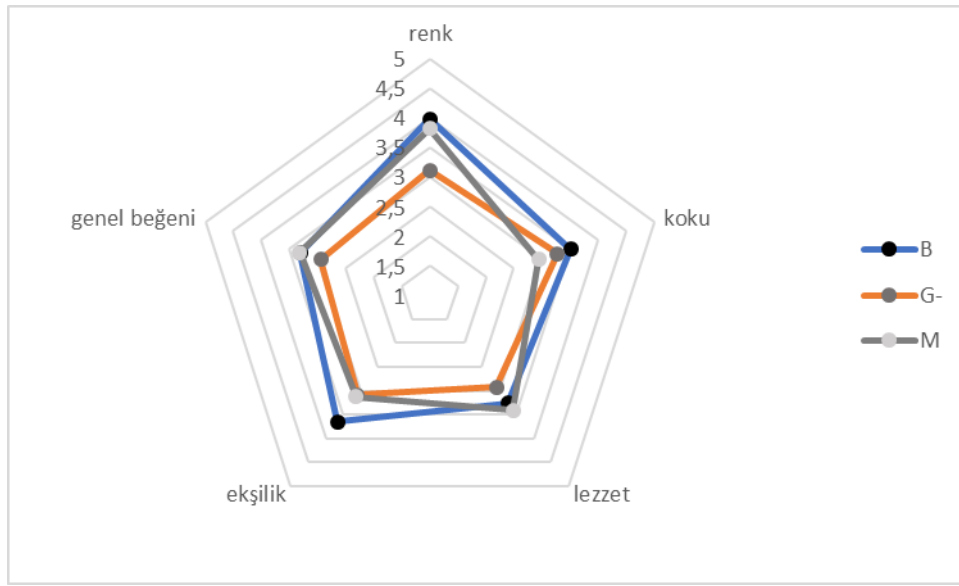
B: bulgur unlu şalgam suyu, G-: Glutensiz şalgam suyu, M: Market örneği. B: *shalgam containing bulgur flour*, G-: *Gluten-free shalgam*, M: *Market sample*.

Duyusal beğeninin korunduğu ve depolamanın olumsuz etkilerinin henüz gözlenmediği, depolamanın 19., 93., 121., 152., 178. ve 198. günlerinde yapılan duyuşal analizlerde (toplam 42

kişi) elde edilen verilerin istatistiksel analiz sonuçlarına göre, glutensiz şalgam suyunun (3.11±1.03) hem üretilen bulgur unlu şalgam suyu (3.98±0.79) ile, hem de market örneği (3.82±1.10)

(ticari bir markanın şalgam suyu) ile arasındaki renk farklılığı istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$). Glutensiz şalgam suyunun ortalama renk skoru diğer iki gruptan düşüktür. Örneklerin koku bakımından en yüksek skoru bulgur unlu şalgam suyunda iken (3.51 ± 0.96); en düşük skoru ise market örneğinde (2.94 ± 1.43) görülmüştür. Lezzet bakımından en yüksek puan 3.41 ± 1.37 ile market örneğinde iken en düşük puan 2.93 ± 0.96 ile glutensiz şalgam suyunda görülmüştür. Genel beğenisi en yüksek olan örnek grubu market örneği (3.32 ± 1.36) iken en düşük olan ise

glutensiz şalgam suyu (2.94 ± 1.40) olmuştur. Bulgur unlu örneğin ekşiliğinin (3.65 ± 1.08) glutensiz şalgam suyunun ekşiliğinden (3.09 ± 1.08) farklılığı istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$). Ekşilikte en beğenilen ürün bulgur unlu şalgam suyu olmuştur. Ancak örnek gruplarının koku lezzet ve genel beğeni değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli değildir ($P < 0.05$). Şekil 4'te ürün gruplarının duyuşsal beğenisi örümcek ağı diyagramı ile özetlenmiştir.



Şekil 4. Duyusal analiz sonuçlarının örümcek ağı diyagramı olarak görünümü (B: bulgur unlu şalgam suyu, G-: Glutensiz şalgam suyu, M: Market örneği.)

Figure 4. Appearance of the results of sensory analysis as a spider web diagram (B: turnip juice containing bulgur flour, G-: Gluten-free turnip juice, M: Market sample)

SONUÇ

Bu çalışmada mısır ve pirinç unu ile üretilen glutensiz şalgam suyunun briks ve toplam asit değerlerinin sırasıyla bulgur unu içeren ürüne göre %0.75 ve 2.61 g/L daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın formülasyon ve fermentasyonun etkinlik derecelerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. İstatistiksel olarak yapılan çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre glutensiz şalgam suyunun, renk kriteri dışında, market örneği ile rekabet edebilecek duyuşsal beğeniye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Bu karşılaştırmalı çalışmada kullanılan glutensiz şalgam suyu formülasyonu ile elde edilen sonuçların çölyak hastalarının ihtiyacına cevap verebilecek nitelikte şalgam suyunun piyasaya kazandırılmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Nitekim, fermente bir içecek olan şalgam suyu, bulgur unu içerdiğinden, çölyak hastalarının tüketimi için uygun olmayabilir.

Şalgam suyu üretiminde ekmek mayasının (*S. cerevisiae*) kullanıldığı (Tangüler ve Erten, 2012a; Tangüler ve Erten, 2013; Tangüler vd., 2014; Okçu vd., 2016; Tangüler vd., 2017; Boyacı-Gündüz vd., 2018; Çankaya ve Tangüler, 2018;

Tarıseven vd., 2018), maya kullanılmadan elde edilen şalgam sularında yapılan mikrobiyolojik analizlerde de yüksek sayıda maya tespit edildiği literatürde yer almaktadır. Bu durum şalgam suyu fermantasyonunda *S. cerevisiae* veya yabani mayaların rol aldığına işaret etmektedir. Bu nedenle, TS 11149 şalgam suyu standardında, şalgam suyunun “laktik asit fermantasyon ürünü” olarak tanımlanması doğru bulunmamış olup, “şalgam suyunun maya ve laktik asit bakterilerinin fermantasyonu neticesinde elde edildiğinin” belirtilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Ayrıca, tüm fermente ürünlerde olduğu gibi, şalgam sularında da TMAB sayısının ürün kalitesi veya güvenliğinin ölçüsü olarak kullanılması doğru olmayıp TMAB sayısının (<5 log) kriter olmaktan çıkarılmasının doğru olacağı düşünülmektedir. Nitekim, Çizelge 4’te de gösterildiği üzere bu standardı yakalamak geleneksel olarak üretilmiş ve pastörize edilmemiş bir ürün için çoğunlukla mümkün olamamaktadır. Pratikte ürünün ticaretini zorlaştırabilecek, üretici, perakendeci ve tüketiciler arasında anlaşmazlıklara ve kafa karışıklığına neden olabilecek durumlara meydan vermemek adına, söz konusu standartta ilgili değişikliklerin yapılması gerektiği düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

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

YAZARLARIN KATKISI

Bu çalışma Sami Bulut danışmanlığında 2020 tarihinde tamamlanan “Glutensiz ve Katkısız Şalgam Suyu Üretimi ve Yüksek Hidrostatik Basınç ile Raf Ömrünün Uzatılması” başlıklı yüksek lisans tezi esas alınarak hazırlanmıştır (Yüksek Lisans, Trakya Üniversitesi, Edirne, Türkiye, 2020). Şalgam suyu üretimi ve analizleri Şeyda Yanardağ Karabulut tarafından gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analizler ve makale yazımına tüm yazarlar katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

Anonymous (2003). TS 11149 şalgam suyu standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonymous (2012). Türk gıda kodeksi. Gluten intoleransı olan bireylere uygun gıdalar tebliği (2012/4). Tarım ve Orman Bakanlığı. 4 Ocak 2012 tarih ve 28163 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Ağırman, B., Erten, H. (2018). The influence of various chloride salts to reduce sodium content on the quality parameters of şalgam (shalgam): a traditional Turkish beverage based on black carrot. *Journal of Food Quality*, doi:10.1155/2018/3292185.

Altay, F., Karbancıoğlu-Güler, F., Daskaya-Dikmen, C., Heperkan, D. (2013). A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. *International Journal of Food Microbiology*, 167: 44-56.

Bayram, M., Erdoğan, S., Esin, Y., Saraçoğlu, O., Kaya, C. (2014). Farklı siyah havuç miktarlarının şalgam suyunun bileşimine ve duyuşsal özellikleri üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, 12(1): 29-34.

Bender, D., Schönlechner, R. (2020). Innovative approaches towards improved gluten-free bread properties. *Journal of Cereal Science*, 91, 102904.

Boyacı Gündüz, C. P., Ağırman, B., Erten, H. (2018). Şalgam powder production from fermented şalgam: a traditional Turkish lactic acid beverage. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 10(2): 37-47.

Bulut, S., Chapleau, N., Lamballerie, M., Le-Bail, A. (2014). High pressure processing of chicken meat: change in total aerobic counts after pressure treatment and during chilled storage. *British Microbiology Research Journal*, 4(5): 540-549.

Canbaş, A., Fenercioğlu, H. (1984). Şalgam suyu üzerinde bir araştırma. *Gıda*, 5: 279 – 286.

Candal-Uslu, C., Mutlu, C., Koç, A., Bilgin, D. G., Erbaş, M. (2020). A new gluten-free product: brown rice bulgur, and its physical and chemical properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45,15205, doi:10.1111/jfpp.15205.

Canesin, M.R., Cazarin, C.B.B. (2021). Nutritional quality and nutrient bioaccessibility in sourdough bread. *Current Opinion in Food Science*, 40: 81-86.

- Cárdenas-Torres, F. I., Cabrera-Chávez, F., Figueroa-Salcido, O. G., Ontiveros, N. (2021). Non-celiac gluten sensitivity: an update. *Medicina*, 57, 526. doi:10.3390/medicina57060526.
- Catassi, C., Bai, J. C., Bonaz, B., Bouma, G., Calabrò, A., Carroccio, A., Castillejo, G., Ciacci, C., Cristofori, F. (2013). Non-celiac gluten sensitivity: the new frontier of gluten related disorders. *Nutrients*, 5: 3839-3853; doi:10.3390/nu5103839.
- Cemeroğlu, B. (ed.) (2013). *Gıda analizleri*. 3. Baskı, Bizim Grup Basımevi Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, 480 s. ISBN: 978-605-63419-3-9..
- Coşkun, F. (2017). A traditional Turkish fermented non-alcoholic beverage, "shalgam". *Beverages*, 3(4): 49. doi:10.3390/beverages3040049
- Czaja-Bulsa, G. (2015). Non coeliac gluten sensitivity - a new disease with gluten intolerance. *Clinical Nutrition*, 34: 189 – 194.
- Çakır, P. (2011). *Ülkemizde üretilen şalgam sularının bileşimleri ve gıda mevzuatına uygunlukları üzerine bir araştırma*. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 53 s.
- Çankaya, A., Tangüler, H. (2018). Şalgam suyu üretiminde gerçekleştirilen havuç fermantasyonu sırasında mikrobiyal değişim üzerine sıcaklığın etkisi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(6): 749-755.
- D'Amico, V., Gänzle, M., Call, L., Zwirzitz, B., Grausgruber, H., D'Amico, S., Brouns, F. (2023). Does sourdough bread provide clinically relevant health benefits? *Frontiers in Nutrition*, 10, 1230043.
- De Angelis, M., Cassone, A., Rizzello, C.G., Gagliardi, F., Minervini, F., Calasso, M., Di Cagno, R., Francavilla, R., Gobetti, M. (2010). Mechanism of degradation of immunogenic gluten epitopes from *Triticum turgidum* L. var. *durum* by sourdough lactobacilli and fungal proteases. *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 508-518.
- Deryaoglu, A. (2005). Şalgam suyu üretiminde NaCl yerine KCl kullanılarak sodyum miktarını azaltma olanakları. *Gıda*, 30(5): 335 – 341.
- Ekinci, F. Y., Baser, G. M., Özcan, E., Güçlü-Üstündağ, Ö., Korachi, M., Sofu, A., Blumberg, J. B., Chen, C. O. (2016). Characterization of chemical, biological, and antiproliferative properties of fermented black carrot juice, shalgam. *European Food Research and Technology*, 242: 1355–1368.
- Ellia, L., Ferretia, F., Orlando, S., Vecchia, M., Monguzzia, E., Roncoronia, L., Schuppenc, D. (2019). Management of celiac disease in daily clinical practice. *European Journal of Internal Medicine*, 61: 15–24.
- Erol, H. (2013). *SPSS paket programı ile istatistiksel veri analizi*. Akademisyen Kitabevi Ltd. Şti., Kayseri, Türkiye, 516s. ISBN:978-605-464-921-1.
- Falcomer, A. L., Araújo, L. S., Farage, P., Monteiro, J. S., E., Nakano Y., Zandonadi, R. P. (2020). Gluten contamination in food services and industry: a systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(3): 479-493.
- Fardet, A. (2015). Wheat-based foods and non celiac gluten/wheat sensitivity: is drastic processing the main key issue? *Medical Hypotheses*, 85: 934–939.
- Guandalini, S., Polanco, I. (2015). Nonceliac gluten sensitivity or wheat intolerance syndrome. *The Journal of Pediatrics*, 166(4): 805 – 811.
- Güven, N., Yetim, H., Cankurt, H. (2019). Siyah havuç ve peyniraltı suyu kullanılarak üretilen tuzu azaltılmış şalgam suyunun fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 15: 599-610.
- Hutkins, R. W., Nannen, N. L. (1993). pH homeostasis in lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 76(8): 2354-2365.
- Lamacchia, C., Camarca, A., Picascia, S., Di Luccia, A., Gianfrani, C. (2014). Cereal-based gluten-free food: how to reconcile nutritional and technological properties of wheat proteins with safety for celiac disease patients. *Nutrients*, 6: 575-590, doi:10.3390/nu6020575.
- Liu, X., Jia, B., Sun, X., Ai, J., Wang, L., Wang, C., Zhao, F., Zhan, J., Huang, W. (2015). Effect of initial pH on growth characteristics and

- fermentation properties of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Science*, 80(4): M800-M808.
- Mete, A., Coşansu, S., Demirkol, O., Ayhan, K. (2017). Amino acid decarboxylase activities and biogenic amine formation abilities of lactic acid bacteria isolated from shalgam. *International Journal of Food Properties*, 20(1): 171–178.
- Moroni, A.V., Dal Bello, F., Arendt, E.K. (2009). Sourdough in gluten-free bread-making: an ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiology*, 26: 676-684.
- Okcu, G., Ayhan, K., Gunes Altuntas, E., Vural, N., Poyrazoglu, E.S. (2016). Determination of phenolic acid decarboxylase produced by lactic acid bacteria isolated from shalgam (şalgam) juice using green analytical chemistry method. *LWT - Food Science and Technology*, 66: 615-621.
- Özdemir, G., Dülger-Altın, D., Şahan, Y. (2021). Bazı tıbbi bitkilerle zenginleştirilmiş ekmeklerin duyuşal özellikleri ve satın alma niyetine etkisi. *Gıda*, 46(4): 767-784, doi: 10.15237/gida.GD21044.
- Özdeştan, Ö., Üren, A. (2010). Biogenic amine content of şalgam (s-şalgam): a traditional lactic acid fermented Turkish beverage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 2602–2608, doi:10.1021/jf903775.
- Özer, N., Çoksöyler, F. N. (2015). Şalgam suyunun bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Gıda*, 40(1): 31-38.
- Özler, N., Kılıç, O. (1996). Şalgam suyu üretimi üzerinde araştırmalar. *Gıda*, 21(5): 323 – 330.
- Pektaş, S. (2014). *Süt ve süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit üretim yeteneklerinin araştırılması*. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, Türkiye, 187 s.
- Ribet, L., Dessalles, R., Lesens, C., Brusselaers, N., Durand-Dubief, M. (2023). Nutritional benefits of sourdoughs: a systematic review. *Advances in Nutrition*, 14: 22-29.
- Rizzello, C.G., De Angelis, M., Di Cagno, R., Camarca, A., Silano, M., Losito, I., De Vincenzi, M., De Bari, M.D., Palmisano, F., Maurano, F., Gianfrani, C., Gobetti, M. (2007). Highly efficient gluten degradation by lactobacilli and fungal proteases during food processing: new perspectives for celiac disease. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 4499-4507.
- Rostami, K., Rostami-Nejad, M., Dulaimi, D. A. (2015). Post gastroenteritis gluten intolerance. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, 8(1): 66-70.
- Roszkowska, A., Pawlicka, M., Mroczek, A., Balabuszek, K., Nieradko-Iwanicka, B. (2019). Non-celiac gluten sensitivity: a review. *Medicina*, 55, 222, doi:10.3390/medicina55060222.
- Sapone, A., Bai, J., Ciacci, C., Dolinsek, J., Green, P., Hadjivassiliou, M., Kaukinen, K., Rostami, K., Sanders, D., Schumann, M., Ullrich, R., Villalta; D., Volta, U., Catassi, C., Fasano, A. (2012). Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Medicine*, 10, 13.
- Saturni, L., Ferretti, G., Bacchetti, T. (2010). The gluten-free diet: safety and nutritional quality. *Nutrients*, 2010, 2: 16-34, doi:10.3390/nu2010016.
- Tangüler, H., Selli, S., Şen, K., Cabaroğlu, T. (2017). Aroma composition of şalgam: a traditional Turkish lactic acid fermented beverage. *Journal of Food Science and Technology*, 54: 2011–2019.
- Tangüler, H., Saris, P. E. J., Erten, H. (2014). Microbial, chemical and sensory properties of şalgams made using different production methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95: 1008–1015. doi:10.1002/jsfa.6781.
- Tangüler, H., Erten, H. (2012a). Chemical and microbiological characteristics of şalgam (şalgam): a traditional Turkish lactic acid fermented beverage. *Journal of Food Quality*, 35: 298–230. doi:10.1111/j.1745-4557.2012.00447.x.
- Tangüler, H., Erten, H. (2012b). Occurrence and growth of lactic acid bacteria species during the fermentation of şalgam (şalgam), a traditional Turkish fermented beverage. *Food Science and Technology*, 46: 36–41, doi:10.1016/j.lwt.2011.10.026.
- Tangüler, H., Erten, H. (2013). Selection of potential autochthonous starter cultures from

- shalgam, a traditional Turkish lactic acid-fermented beverage. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37: 212-220.
- Tanrıseven, D., Dıblan, S., Selli, S., Kelebek, H. (2018). Şalgam suyunun üretim yöntemleri ve biyoaktif bileşenleri. *Artibilim: Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1): 38 – 45.
- Utuş, D. (2008). *Şalgam suyu üretiminde kullanılan siyah havuç (daucus carota) boyutunun şalgam suyu kalitesi üzerine etkisi*. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 55 s.
- Üçok, E. F., Tosun, H. (2012). Şalgam suyu üretimi ve fonksiyonel özellikleri. *C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1): 17 – 26.
- Verma, A.K., Gatti, S., Galeazzi, T., Monachesi, C., Padella, L., Baldo, G.D., Annibaldi, R., Lionetti, E., Catassi, C. (2017). Gluten contamination in naturally or labeled gluten-free products marketed in Italy. *Nutrients*, 9.
- Whitmire, J. M., Merrell, D. S. (2012). Successful culture techniques for *Helicobacter* Species: general culture techniques for *Helicobacter pylori*. *Helicobacter Species: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, Houghton, J. M. (Ed.), 921, Springer Science+Business Media, UK, s. 17-27. doi:10.1007/978-1-62703-005-2_4.
- Yetiman, A.E., Keskin, A., Darendeli, B.N., Kotil, S.E., Ortakci, F., Dogan, M. (2022). Characterization of genomic, physiological, and probiotic features *Lactiplantibacillus plantarum* DY46 strain isolated from traditional lactic acid fermented shalgam beverage. *Food Bioscience*, 46, 101499.
- Yu, J., Geng, Y., Xia, H., Ma, D., Liu, C., Wu, R., Wu, J., You S., Bi, Y. (2022). LAB fermentation improves production of bioactive compounds and antioxidant activity of *Withania somnifera* extract and its metabolic signatures as revealed by LC-MS/MS. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(4): 473-483.

KARPUZ ÇEKİRDEĞİ UNU İKAMELİ BESLEYİCİ BİSKÜVİ ÜRETİMİ

Mehmet Köten*

Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Yusuf Şerefoğlu Sağlık Bilimleri Fakültesi,
Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Kilis, Türkiye

Geliş/Received: 21.09.2023; Kabul / Accepted: 29.02.2024; Online baskı / Published online: 06.03.2024

Köten, M. (2024). Karpuz çekirdeği unu ikamelı besleyıcı bisküvı üretımı. GIDA (2024) 49 (2) 284-298
doi: 10.15237/gida.GD23113

Köten, M. (2024). Production of nutritional cookies with watermelon seed flour substitution. GIDA (2024) 49 (2) 284-298
doi: 10.15237/gida.GD23113

ÖZ

Bu çalışmada, karpuz çekirdeği ununun bisküvı üretiminde kullanım olanağı araştırılmıştır. Bu amaçla un haline getirilmiş karpuz çekirdekleri, bisküvı formülasyonuna 6 farklı oranda (% 0, 10, 20, 30, 40 ve 50) buğday unu ile ikame edilerek bisküvı üretiminde kullanılmıştır. Bisküvı formülasyonuna karpuz çekirdeği unu ikamesi ile bisküvı örneklerinin kül, protein, yağ, toplam besinsel lif, toplam fenolik madde, antioksidan ve fitik asit içeriklerinin arttığı tespit edilmiştir. %50 karpuz çekirdeği unu ikamelı örneklerde toplam besinsel lif, toplam fenolik madde, antioksidan ve fitik asit içerikleri sırasıyla %18.58, 76.83 mg/kg, %25.42 ve 3.09 mg/g şeklinde bulunmuştur. Karpuz çekirdeği unu ikamesi ile bisküvılerin L*, b* ve a* renk değerleri ile tekstür özelliklerinden sertlik ve kırılabilirlik değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca, karpuz çekirdeği unu ikamelı bisküvı örneklerinde kalınlık değerlerinin azaldığı, çap değerinin ve yayılma oranının arttığı bulunmuştur. Duyusal analiz sonucunda; genel kabul edilebilirlik bakımından en fazla beğeniyi %10 karpuz çekirdeği unu ikamelı örneğin aldığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Karpuz çekirdeği, bisküvı, fonksiyonel gıda, besinsel lif

PRODUCTION OF NUTRITIONAL COOKIES WITH WATERMELON SEED FLOUR SUBSTITUTION

ABSTRACT

In this study, the possibility of using watermelon seed flour in cookie production was investigated. For this purpose, watermelon seeds ground into flour were used in cookie production by substituting wheat flour in 6 different ratios (0, 10, 20, 30, 40 and 50%) in the cookie formulation. It was determined that the ash, protein, fat, total dietary fiber, total phenolic content, antioxidant and phytic acid contents of cookie samples increased with the substitution of watermelon seed flour to the cookie formulation. Total dietary fiber, total phenolic content, antioxidant and phytic acid contents of samples with 50% watermelon seed flour substitute were found to be 18.58%, 76.83 mg/kg, 25.42% and 3.09 mg/g, respectively. It was determined that the L*, b* and a* color values and the hardness and fracturability values of the cookies decreased with the substitution of watermelon seed flour. Additionally, it was found that the thickness values decreased and the diameter value and spreading ratio increased in cookie samples with watermelon seed flour substituted. As a result of sensory analysis; it was observed that the sample with 10% watermelon seed flour substitution received the most approval in terms of general acceptability.

Keywords: Watermelon seeds, cookie, functional food, dietary fiber

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author;*

✉: mehmetkoten@kilis.edu.tr

☎: (+90) 533 765 55 69

☎: (+90) 348 813 93 92

Mehmet Köten; ORCID no: 0000-0002-8232-8610

GİRİŞ

Bisküvi, unun içine kabarmayı sağlayıcı maddeler, şeker, tuz, yağ ve gıda maddeleri ile ilgili TS 2383 bisküvi standardında izin verilen diğer maddelerden biri veya birkaçı eklendikten sonra su ile yoğrularak tekniğine uygun bir biçimde işlenmesi, şekil verilmesi ve pişirilmesi sonucunda elde edilen bir unlu mamuldür (Anonim, 2010). Bisküvinin unlu mamuller içinde yoğun olarak tüketilen bir ürün olmasının temel nedenleri; raf ömrü uzun bir gıda olması, besinsel kalitesinin iyi olması, ucuz ve doyurucu olmasıdır (Köten, 2021). Bisküvi, bozulmadan uzun süre dayanabilmesi, tüketicinin damak zevkine hitap etmesi, değişik lezzetlerde sunulabilmesi ve besin öğelerinin üç öğünde alınmasının yetersiz olduğu zamanlarda atıştırılabilirlik olarak tüketilebilmesi nedenleriyle, ara öğün beslenmesinde önemli yer tutmaktadır (Demirel ve Demir, 2018; Kolawole vd., 2018).

Son yıllarda bazı gıdaların “doğal” yollardan vücuda alınmasının bazı hastalıkları önlediği ya da kısmen de olsa tedavi ettiği bilimsel olarak ortaya konmuştur. Günümüzde, daha sağlıklı bir hayat için tüketicilerin tercihleri düşük kalorili, yüksek lifli, düşük şeker ve tuz içerikli ve daha az katkılı gıdalar yönünde olmaktadır (Köten, 2021). Özellikle çocuklar tarafından sevilerek tüketilen ve atıştırılabilirlik gıda formunda yetişkinlere de hitap eden bisküvi formülasyonlarının fonksiyonel bileşenlerce zenginleştirilmesi, tüketim sırasında bu bileşenlerin de vücuda alınmasını sağlayacağından oldukça önemlidir (Doğan ve Meral, 2016).

Tahıl bazlı gıdalar insanlığın ilk dönemlerinden beri en çok tüketilen gıdalar arasında yer almaktadır. Bu nedenle tahıl bazlı gıdaların fonksiyonel özelliklere sahip bazı bileşenlerle (ikamelerle) zenginleştirilip “fonksiyonel gıda” olarak sunulması halk sağlığının iyileştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu ikameler ürünlerin besin değerlerini etkilerken aynı zamanda jel oluşturma, stabilizasyon, su ve yağ tutma kapasitelerinin artması gibi fonksiyonel özelliklerini de doğrudan etkilemektedir (Akbaş vd., 2023). Bu doğrultuda unlu mamullerin zenginleştirilmesinde meyve kabuğu, çekirdek ve

posa gibi atık ürünlerin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Karpuz çekirdeği de son yıllarda gıda atıklarının değerlendirilmesinde dikkat çeken ürünler arasında yer almaktadır (Abdalla vd., 2007; Huber ve Ruposinghe, 2009; Henriquez vd., 2010; Crizel de Moraes vd., 2013; Mirabella vd., 2013; Silva vd., 2014).

Karpuz (*Citrullus lanatus*), *Cucurbitaceae* familyasının en çok tüketilen türlerinden birisidir. Yüksek su içeriği (toplam ağırlığın %92'si) nedeniyle ferahlatıcı bir meyvedir (Benmeziyan ve Derradji, 2023). FAO'nun 2021 verilerine göre Çin, 61.013.536 ton ile dünyanın en büyük karpuz üreticisi konumundadır. Türkiye ise 2021 yılında 3.468.717 ton karpuz üretimi ile ikinci sırada; Hindistan, 3.254.000 ton ile üçüncü sırada; Brezilya, 2.141.970 ton ile dördüncü sırada; İran ise 1.251.415 ton ile beşinci sırada yer almıştır (FAO, 2021). Karpuz taze meyve olarak tüketilirken, meyve suları, nektarlar, konsantreler, reçeller ve daha birçok diğer ürünlere dönüştürülürken çekirdekler genellikle atık olarak ortaya çıkmaktadır. Ortaya çıkan bu atık çoğu zaman böceklerin ve kemirgenlerin çoğalmasıyla ilgili ekolojik sorunlar da yaratabilmektedir (Falade vd., 2020)

Son zamanlarda araştırmacılar, karpuz çekirdeğinin özelliklerini dikkate alarak yeni fonksiyonel gıda ürün formülasyonlarında (ekmek, atıştırılabilirlik, dondurma, sos, bisküvi vb.) kullanımına yönelik çalışmalarına hız vermişlerdir (Qayyum vd., 2017; Anang vd., 2018; Peter-Ikechukwu vd., 2018; Adeyeye vd., 2020). Böylece karpuz çekirdeğinin katma değerli yeni gıda ürünlerinde bileşen olarak kullanılması ile yeni bir pazar yaratılmasının yanı sıra üreticinin ülke ekonomisini canlandırarak önemli bir gelir elde edebileceği, aynı zamanda bertaraf sorunlarının çözülerek çevrenin de korunmuş olacağı ifade edilmektedir (Wani vd., 2015).

Günümüzde birçok hastalığın hızla artmasıyla birlikte sağlık bilincine sahip tüketicilerin, temel besin maddeleri sağlamanın ötesinde sağlık açısından faydalar da sağlayan karpuz çekirdeğine ilgisi artmaktadır. Karpuz çekirdeğinin besinsel bileşimine ilişkin mevcut literatürde farklı

oranlarda protein, yağ, lif, nem, kül ve karbonhidrat içeriği gösterilmektedir (Benmeziane ve Derradji, 2023). Yapılan araştırmalar karpuz çekirdeğinin insan beslenmesi ve sağlığı açısından önemli bir besin kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Özellikle protein, yağ, lif, B vitaminleri, mineraller (magnezyum, potasyum, fosfor, sodyum, demir, çinko, manganez ve bakır gibi) ve antioksidan aktiviteye sahip fitokimyasallar açısından zengin bir kaynak olduğu bildirilmiştir (Azeez vd., 2021). Karpuz çekirdeği mükemmel bir oleik asit ve linoleik asit kaynağıdır. İyot ve peroksit değerinin düşük olması onu insan tüketimine uygun hale getirmektedir. İçinde bulunan esansiyel yağ asitleri, prostat hastalıklarının tedavisinde büyük öneme sahiptir. Karpuz çekirdeği, arginin, glutamin ve aspartik asit dahil olmak üzere zengin bir esansiyel amino asit kaynağına sahip olan protein içermektedir. İdrar söktürücü özellik sergileyerek insanlarda böbrek taşı oluşumunu önlemenin yanı sıra içerdiği cucurbocitrin sayesinde kan basıncını düşürmeye ve böbrek fonksiyonlarını iyileştirmeye yardımcı olmaktadır (Qayyum vd., 2017).

Bu çalışma kapsamında, yukarıda olumlu birçok özelliği ifade edilen ve genellikle çerez olarak tüketilen karpuz çekirdeğinin un formunun fonksiyonel bir bileşen olarak bisküvi formülasyonunda kullanımının özellikle bisküvinin besinsel kalitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Ayrıca yapılan çalışmanın hem sürdürülebilirlik hem de atık durumunda bulunan karpuz çekirdeğinin kullanım alanının geliştirilmesi (atık değerlendirme) açısından değerli olduğu düşünülmektedir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Bisküvi üretiminde kullanılan buğday unu (BU), pudra şekeri, yağsız süt tozu, sodyum bikarbonat, amonyum bikarbonat, şortening ve tuz Kilis'te yerel bir marketten temin edilmiştir. Yüksek fruktozlu mısır şurubu ise Beşan Nişasta Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den (Gaziantep, Türkiye) temin edilmiştir. Araştırmada katkı olarak kullanılan kavrulmuş karpuz çekirdeği, Kilis ilinde

faaliyet gösteren Şekeroğlu Baharatçılık Gıda Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti.'den satın alınmıştır.

Yöntem

Materyallerin hazırlanması

Bisküvi üretim formülasyonunda kullanılan karpuz tohumu (çekirdeği), çekiçli değirmende (Yücebaş Makine Hammer Mill 2016-N2Y170025) öğütülüp 60 mesh elekten elenerek ince un haline getirilmiştir. Üretimde kullanılan ve analiz edilinceye kadar cam kavanozlarda oda koşullarında muhafaza edilmiştir. Yapılan analizlerin tümü 3 paralelli şekilde gerçekleştirilmiştir.

Bisküvi üretimi

Bisküvi üretimi Çizelge 1'de verilen temel formül kullanılarak AACCI Standart Metot No:10-54.01'de (AACCI, 2010) belirtilen esaslara göre yapılmıştır. Karpuz çekirdeği unu (KÇU), bisküvi formülasyonuna un ağırlığı bazında %0-kontrol, %10, %20, %30, %40 ve %50 oranlarında BU ile yer değiştirilerek ilave edilmiştir. (Çizelge 1). Formülasyondaki tüm materyaller laboratuvar tipi bir mikserde (KitchenAid Classic Model, KSM45, Artisan, USA) hamur oluşana kadar karıştırılmıştır. Elde edilen hamur, 5 mm yüksekliğinde inceltilmiş, 50 mm çapında dairesel şekil verilerek laboratuvar tipi bir fırında (Arçelik, SUF4000 MEB, Bolu, Türkiye) 205°C'de 11 dakika süreyle pişirilmiştir. Örnekler soğutulduktan sonra kilitli polietilen ambalajda muhafaza edilmiştir.

Kimyasal analizler

BU, KÇU ve bisküvi örneklerinin kül (metod 08-01), protein (metod 46-12) ve yağ (metod 30-25) içeriklerinin belirlenmesinde AACCI metotları kullanılmıştır (AACCI, 2010).

Fiziksel analizler

Çap, kalınlık ve yayılma oranı: Bisküvi örneklerinde çap ve kalınlık değerleri AACCI Metot No:10-54.01 metoduna göre dijital kumpas kullanılarak ölçülmüştür (AACCI, 2010). Bisküvilerin yayılma oranı ise çapların kalınlıklarına bölünmesiyle elde edilmiştir.

Çizelge 1. KÇU ikamesiz kontrol bisküvi formülasyonu
 Table 1. Control cookie formulation without watermelon seed flour (WSF) substitution

Bileşenler <i>Ingredients</i>	Ağırlık (g) <i>Weight (g)</i>
Pudra şekeri / <i>Powdered sugar</i>	16.8
Yağsız süt tozu / <i>Nonfat dry milk</i>	0.4
Tuz / <i>Salt</i>	0.5
Sodyum bikarbonat / <i>Sodium bicarbonate</i>	0.4
Yağ / <i>Shortening</i>	16.0
YFMS (Yüksek fruktozlu mısır şurubu) <i>HFCS (High fructose corn syrup)</i>	0.6
Amonyum bikarbonat / <i>Ammonium bicarbonate</i>	0.2
Deiyonize su; $g = (40 - g_{un}) + 8.8$ <i>Deionized water; $g = (40 - g_{flour}) + 8.8$</i>	Değişken <i>Variable</i>
Buğday unu (BU)* / <i>Wheat flour (WF)*</i>	40

*%13 rutubet esasına göre

*13% based on humidity

Fonksiyonel özellikler

Toplam besinsel lif: BU, KÇU ve bisküvi örneklerinde Köten (2021)'in bildirdiği metoda göre yapılmıştır. Yöntemde toplam besinsel lif test kiti (Megazyme International Ireland Ltd., Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, IRELAND) kullanılmıştır.

Fitik asit: BU, KÇU ve bisküvilerde Köten (2021)'in bildirdiği metoda göre yapılmıştır.

Toplam Fenolik Madde (TFM): BU, KÇU ve bisküvilerde Köten (2021)'in bildirdiği metod kullanılmıştır. Örnekler %80 metanol ile ekstrakte edilmiştir. TFM içeriği; önceden gallik asit ile oluşturulan (absorbans / konsantrasyon) standart grafiğinden elde edilen denklem ile hesaplanmış ve sonuçlar 1000 gram örnek için mg gallik asit eşdeğer (GAE) miktarı olarak ifade edilmiştir.

Antioksidan Aktivite: BU, KÇU ve bisküvilerde Köten (2021)'in bildirdiği metoda göre yapılmıştır. Örnekler saf metanol ile ekstrakte edilmiştir. Bu yöntem, pembe renkli stabil bir bileşik olan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radikalinin yok edilmesi sonucu, renkte meydana gelen azalmanın spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Sonuçlar DPPH radikalinin inhibisyon oranı şeklinde denklem 1 kullanılarak hesaplanmıştır.

DPPH radikalinin inhibisyon oranı (%) = $\frac{[\text{körün absorbansı} - \text{örneğin absorbansı}]}{\text{körün absorbansı}}$

absorbansı]x100 (1)

Renk Analizleri

BU, KÇU ve bisküvi örneklerinin renk ölçümleri Hunterlab MiniScan EZ (Reston, Virginia, USA) model renk ölçüm cihazıyla yapılmış ve değerler yine bu cihazda CIALAB ölçüm sistemine göre ifade edilmiştir. HunterLab renk skalasında L*=0 (siyah), L*=100 (beyaz); -a* (yeşillik), +a* (kırmızılık); -b* (mavilik), +b* (sarılık) değerleri gün ışığı (D65/10°) ayarında okunmuştur. Renk ölçümleri 3 paralelli yapılmış ve sonuç üç değerlerin ortalaması olarak verilmiştir.

Tekstürel Özellikler

Bisküvilerde kırılma direnci analizi TA-XT2i Tekstür Analiz Cihazıyla (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, UK) AACCI Metod No: 74-09.01 esas alınarak yapılmıştır (AACCI, 2010). Bu amaçla üç noktalı bükme testi tekniği kullanılmıştır. Bisküviler 4 cm aralıklı iki dik alüminyum bariyer üzerine yerleştirilerek orta noktasına doğru 1 mm/s hızında kuvvet uygulanmıştır. Kırılma noktasındaki maksimum güç Newton (N) olarak kaydedilmiştir. Testin yapıldığı mekaniksel şartlar cihazda aşağıdaki gibi ayarlanmıştır:

Pre-test speed: 1 mm/s

Test speed: 3 mm/s

Post-test speed: 10 mm/s

Test distance: 5 mm

Trigger value: 5 g veya 0.049N (Auto force)

Duyusal analiz

Hooda ve Jood (2005)'nin bildirdikleri metod modifiye edilerek kullanılmıştır. Duyusal analiz, yarı eğitilmiş 10 panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Analiz öncesi panelistlere çalışma ile ilgili kısa bir bilgi verilmiştir. Bisküvi örneklerinde hangi özellikleri nasıl değerlendireceklerine dair bir değerlendirme skalası verilmiş ve puanlamayı bu skalaya göre yapmaları; ayrıca bir örnekten diğerine geçerken su içmeleri gerektiği dile getirilmiştir. Panelistlerden bisküvileri renk, görünüş, sertlik, tat-aroma özellikleri ve genel kabul edilebilirlik açısından; 1-5 arasındaki skala (1-çok kötü, 2-kötü, 3-orta, 4-iyi ve 5-çok iyi) kullanarak duyuşal değerlendirme yapmaları istenmiştir.

İstatistiksel analizler

İki tekerrürlü olarak yürütülen çalışmada elde edilen sonuçlar, JMP 13.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, ABD) yazılımı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmeye tabi tutulmuştur.

Sonuçlar için varyans analizi (ANOVA) uygulanarak grup ortalamaları arasındaki farklılıklar $P \leq 0.05$ düzeyinde Student t testi ile belirlenmiştir.

SONUÇ ve TARTIŞMA
Hammadde özellikleri

Bisküvi formülasyonda kullanılan BU ve KÇU'ya ait bazı analiz sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. KÇU'nun BU'dan daha yüksek kül, protein, yağ, TBL, TFM ve antioksidan aktivite değerlerine sahip olduğu saptanmıştır. Bu da, karpuz çekirdeğinin zengin kimyasal kompozisyonu ile bisküvinin besinsel kalitesinin artırılması açısından uygun olduğunu göstermiştir. BU'nun kül, protein, yağ ve TFM içerikleri sırasıyla %0.63, %13.00, %1.15 ve 868.00 mg/kg olarak bulunmuştur. Bu değerler Demir (2015)'in bildirdiği sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Çalışmada kullanılan KÇU'nun kül miktarı %2.41, protein miktarı %16.73 ve yağ miktarı %25.97 olarak belirlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Hammadde özellikleri
Table 2. Raw material properties

Özellik <i>Property</i>	BU <i>WF</i>	KÇU <i>WSF</i>
Kül (%) ¹ <i>Ash (%)</i>	0.63±0.03 ^b	2.41±0.07 ^a
Protein (%) ^{1,2} <i>Protein (%)</i>	13.00±0.30 ^a	16.73±0.96 ^a
Toplam yağ (%) ¹ <i>Total fat (%)</i>	1.15±0.18 ^b	25.97±0.15 ^a
TBL (%) ^{1,3} <i>TDF (%)</i>	7.23±0.38 ^b	54.09±2.25 ^a
TFM (mg/kg) ^{1,4} <i>TPC (mg/kg)</i>	868.12±0.22 ^b	1350.90±0.18 ^a
Antioksidan aktivite (% inhibisyon) <i>Antioxidant activity (% inhibition)</i>	11.16±0.32 ^b	25.36±0.55 ^a
Fitik asit (mg/g) ¹ <i>Phytic acid (mg/g)</i>	2.46±0.48 ^b	5.83±0.44 ^a
L*	96.55±0.28 ^a	63.43±0.47 ^b
a*	0.59±0.03 ^b	6.06±0.08 ^a
b*	9.81±0.13 ^b	23.12±0.18 ^a

Çizelgede, aynı satırda farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir, *In the table, differences between values shown with different letters in the same line are significant compared to the 0.05 confidence level*; ¹Kuru madde üzerinden hesaplanmıştır, ¹*Calculated on dry matter bases*; ²Un için N x 5.70 ve KÇU için N x 6.25 faktörü kullanılmıştır, ²*Factors of N x 5.70 for wheat flour and N x 6.25 for watermelon seed flour was used*; ³Toplam besinsel lif, ³*Total dietary fiber*; ⁴Toplam fenolik madde, ⁴*Total phenolic content*

Çizelge 2'den de görülebileceği gibi KÇU'nun tüm kimyasal ve besinsel içeriklerinin BU'dan oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Özellikle toplam besinsel lif ve TFM değerleri KÇU'da sırasıyla %54.09 ve 1350.00 mg/kg olarak saptanırken BU'da %7.23 ve 868.00 mg/kg olarak saptanmıştır. Tabiri vd. (2016)'nın gıda olarak kullanılan karpuz çekirdeğinin besinsel bileşim, fitokimyasal ve antioksidan aktivite özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada üç farklı karpuz çeşidinin (Cherleston gray, Crimson sweet, Black diamond) çekirdeklerini kullanmışlardır. Çekirdek örneklerinde protein değerlerini %16.33-17.75, yağ değerlerini %26.50-27.83, kül değerlerini %2.00-3.00, lif değerlerini %39.03-43.28, antioksidan aktivite değerlerini %59.88-94.66 aralıklarında tespit etmişlerdir. Jyothi lakshmi ve Kaul (2011), yaptıkları çalışmalarında ise karpuz çekirdeğinin yağ içeriğini %46.83, protein içeriğini %27.59, kül içeriğini %2.87 ve lif içeriğini %4.68 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmalarda olduğu gibi yapılan diğer çalışmalarda (Neglo vd., 2021; Bamidele vd., 2021; Jaroszevska vd., 2023) karpuz çekirdeğinde saptanan kimyasal ve besinsel içerik sonuçları bu çalışmada bisküvide zenginleştirme materyali olarak kullanılan karpuz çekirdeğinde saptanan sonuçlarla benzerlik ve farklılıklar göstermiştir. Farklılıkların nedeninin çekirdeğin elde edildiği karpuz meyvesinin çeşit özelliklerinden ve yetiştirildiği lokasyon farklılığından olduğu düşünülmektedir.

KÇU'nun renk sonuçlarına bakıldığında L* ve a* değerleri açısından BU'ya göre daha koyu olduğu ancak b* değeri bakımından BU'dan daha fazla sarı olduğu söylenebilir (Çizelge 2). Tahıl tanelerinin temel depo fosfor bileşeni olan fitik asit değeri Çizelge 2 incelendiğinde KÇU'da 5.83 mg/g olarak tespit edilirken, BU'da 2.46 mg/g olarak tespit edilmiştir. Yapılan farklı çalışmalarda karpuz çekirdeğinde fitik asit miktarının 3 mg/g ile 16.40 mg/g arasında değiştiğini bildirilmiştir (Jyothi lakshmi ve Kaul, 2011; Seidu ve Otutu, 2016; Addo vd., 2018).

Bisküvilerin kimyasal ve fiziksel özellikleri

KÇU'nun değişik oranlarda ikame edilmesiyle üretilen bisküvilerin bazı kimyasal ve fiziksel özelliklerine ait değerler Çizelge 3'te verilmiştir. Bisküvilerin kül değerleri KÇU ikame oranı artışına bağlı olarak önemli ölçüde yükselmiştir ($P \leq 0.05$). Bisküvi örneklerinin kül miktarları %1.05 ile %1.68 arasında değişmiştir. En yüksek kül değerine % 1.68 ile %50 KÇU ikameli örnek sahip olurken en düşük kül değerine % 1.05 ile kontrol örneği sahip olmuştur. Kontrol bisküvi örneği ile karşılaştırıldığında kül içeriğinde yaklaşık %60'lık bir artış saptanmıştır. Bu sonuç, KÇU'nun BU'ya göre daha yüksek kül içeriğiyle (yaklaşık 4 kat) açıklanabilir. Bu sonuç, mandalina kabuğu tozunun un ile yer değiştirilmesiyle üretilen bisküvilerin kül içeriğinde artış olduğunu bildiren Ojha ve Thapa'nın (2017) daha önceki bulgularıyla benzerlik göstermiştir.

Çizelge 3. Bisküvilerin kimyasal ve fiziksel özellikleri

Table 3. Chemical and physical properties of cookies

Özellikler Properties	KÇU oranı (% w/w) WSF ratio (% w/w)					
	0	10	20	30	40	50
Kül (%) ¹ Ash (%)	1.05±0.10 ^d	1.36±0.04 ^c	1.40±0.01 ^c	1.46±0.03 ^{bc}	1.55±0.04 ^b	1.68±0.04 ^a
Protein (%) ¹ Protein (%)	6.73±0.45 ^d	7.38±0.25 ^{cd}	7.81±0.37 ^c	8.03±0.13 ^{bc}	8.70±0.49 ^{ab}	8.91±0.23 ^a
Toplam yağ (%) ¹ Total fat (%)	22.09±0.23 ^d	23.50±0.31 ^{cd}	24.70±0.28 ^{cd}	28.06±2.32 ^{bc}	30.98±4.33 ^{ab}	34.79±1.80 ^a
Karbonhidrat (%) Carbohydrates (%)	65.56±0.93 ^a	64.71±1.47 ^a	62.28±0.74 ^{ab}	59.13±2.45 ^{bc}	55.09±3.47 ^{cd}	51.11±2.60 ^d
Çap (Ç)(mm) Diameter (D) (mm)	70.70±0.08 ^b	72.20±0.04 ^b	72.50±0.16 ^b	74.50±0.14 ^{ab}	76.80±0.23 ^a	77.90±0.25 ^a
Kalınlık (K)(mm) Thickness (T) (mm)	0.88±0.08 ^a	0.85±0.01 ^a	0.84±0.02 ^a	0.82±0.00 ^a	0.81±0.01 ^a	0.80±0.00 ^a
Yayıma oranı (Ç/K) Spread ratio (D/T)	8.08±0.88 ^c	8.49±0.09 ^{bc}	8.68±0.03 ^{bc}	9.09±0.17 ^{ab}	9.54±0.37 ^a	9.74±0.32 ^a

Çizelgede, aynı satırda farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir. In the table, differences between values shown with different letters in the same line are significant compared to the 0.05 confidence level; ¹Kuru madde üzerinden hesaplanmıştır, ¹Calculated on dry matter bases

Proteinler vücudun yapı taşlarıdır ve protein açısından zengin gıdaların protein-enerji malnütrisyonunu azalttığı bilinmektedir (Peter-Ikechukwu vd., 2018). Bisküvi formülasyonunda KÇU kullanılmasının protein miktarını önemli derecede artırdığı görülmüştür ($P \leq 0.05$). Protein miktarı kontrol bisküvisinde %6.73 olarak belirlenirken, KÇU ikameli bisküvilerde %7.38 ile %8.91 arasında değişmiştir. Çizelge 3 incelendiğinde KÇU ikameli bisküvi örneklerinin protein değerleri kontrol örneğine göre yüksek bulunmuştur. Protein değerlerinde görülen artışın nedeni, karpuz çekirdeğinin protein miktarının BU'dan daha yüksek olmasından kaynaklanmıştır. Bisküvilerin protein içeriğine ilişkin elde edilen veriler, Ifesan ve Franca (2017) tarafından yapılan çalışmada elde edilen bulgularla uyumlu bulunmuştur. Karpuz çekirdeğindeki yağ içeriği BU'daki yağ içeriğinden daha yüksek olduğundan dolayı KÇU ikame oranı arttıkça bisküvilerdeki yağ oranı önemli derecede artmıştır ($P \leq 0.05$) (Çizelge 3). Kontrol bisküvisinde yağ miktarı %22.09 iken KÇU ikameli bisküvilerde en fazla yağ oranı %34.79 değeri ile %50 KÇU ikameli örnekte görülmüştür. Bulunan sonuçlar Kaur vd. (2019), Demir (2015), Özbaş vd. (2014) ile Uysal vd. (2007) tarafından bildirilen sonuçlarla uyumlu bulunmuştur. Bisküvi örneklerinin karbonhidrat içerikleri %51.11 ile %65.56 arasında değişmiştir (Çizelge 3). Örnekler arasında anlamlı farklılık ($P \leq 0.05$) oluşmuştur. Karbonhidrat içeriği bakımından kontrol örneği en yüksek değere (%65.56) sahip olurken, %50 KÇU ikameli bisküvi örneği en düşük değere (%51.11) sahip olmuştur. Ancak KÇU ikameli bisküvi örneklerinin karbonhidrat içerikleri ikame oranı arttıkça azalmıştır. Sonuçlar Peter-Ikechukwu vd. (2018) tarafından raporlanan sonuçlarla paralellik göstermiştir.

Çap, kalınlık ve yayılma oranı değerleri, bisküvinin teknolojik kalitesinin belirlenmesi açısından önemli parametreler olup, genellikle çapın geniş, yayılma oranının yüksek, kalınlığın ise düşük olması istenir (Demir, 2015). KÇU ikameli bisküvilerin çap değerleri 72.20 mm ile 77.90 mm aralığında değişim göstermiştir. KÇU ikame oranının artışına bağlı olarak bisküvilerin ortalama çap değerlerinde artış meydana gelmiştir ($P \leq 0.05$)

(Çizelge 3). Bu sonuç, KÇU'nun yağ içeriğinin yüksek olması ve un- KÇU karışımlarında glutenin seyrelmesi ile açıklanabilir. Ayçiçeği çekirdeği unu (Grasso vd., 2019) ve mandalina kabuğu tozu (Ojha ve Thapa, 2017) gibi gıda yan ürünlerinin kullanıldığı çalışmalarda da çapta artış olduğu bildirilmiştir. KÇU ikamesinin bisküvilerin ortalama kalınlık değerleri üzerinde etkisinin istatistiksel açıdan önemli olmadığı ($P > 0.05$), yayılma oranı değerleri üzerinde ise önemli derecede etkisinin olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). KÇU ikamesi ile bisküvilerin yayılma oranları artmış, kalınlıklarında ise azalma olmuştur. Bisküvide yayılma oranı, büyük ölçüde hamur viskozitesine bağlıdır (Baumgartner vd., 2018). KÇU ikameli bisküvilerde artan yayılma oranı hamur viskozitesinin azalması ile açıklanabilir. Çaptaki ve yayılma oranındaki artış ile kalınlık değerindeki azalma literatürdeki diğer çalışmalarla da uyumlu bulunmuştur (Baumgartner vd., 2018; Kaur vd., 2019; Yağcı, 2019). Ayrıca, Miller vd. (1996) gluten yapısının hamur karıştırma sırasında oluşmadığını, pişme sırasında görünür bir camı geçişiyle (glass transition) sürekli bir ağ oluşturduğunu belirtmiştir. Bisküvi hamurunun yayılması, bu ağ, bisküvi hamurunun genişlemesini durduracak kadar yeterli olduğunda durmaktadır. Dolayısıyla KÇU, bu olguyu yani gluten yapısını zayıflatarak bisküvilerde yayılma oranının artmasına neden olmuş olabilir.

Bisküvilerin fonksiyonel özellikleri

Bisküvi örneklerinin toplam besinsel lif (TBL), toplam fenolik madde (TFM), antioksidan aktivite (DPHH radikalının inhibisyon yüzdesi) ve fitik asit değerleri Çizelge 4'te gösterilmiştir. Formülasyona KÇU ikame edilmesi bisküvilerde TBL, TFM ve antioksidan değerlerinde önemli bir artışa neden olmuştur ($P \leq 0.05$). Bu artışa sebep olarak, KÇU'nun TBL, TFM ve antioksidan miktarlarının BU'ya göre daha yüksek olması gösterilebilir (Çizelge 2). KÇU ikameli tüm bisküvilerin TBL, TFM, antioksidan ve fitik asit değerleri kontrol bisküvisinde tespit edilen değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Kontrol ile karşılaştırıldığında, %50 KÇU ikamesi ile zenginleştirilmiş bisküvilerin toplam fenolik içeriği yaklaşık %99.56 oranında daha yüksek bulunmuştur. Bisküvilerin toplam fenolik madde

içeriklerindeki önemli farklılıklar, buğday unu yerine farklı seviyelerde mango kabuğu ve çekirdek tozu kullanarak bisküvi üreten Ashoush ve Gadallah (2011) tarafından da gösterilmiştir. Çalışma kapsamında üretilen tüm bisküviler içerisinde en yüksek TBL değeri (%18.58), TFM değeri (768.30 mg/kg) ve antioksidan değeri (%25.42) %50 KÇU ikameli örnekte tespit

edilmiştir. Besinsel lif, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, kabızlık, apandisit, hemoroid ve kolon kanseri gibi çeşitli hastalıklara karşı koruyucu bir etkiye sahiptir (Peter-Ikechukwu vd., 2018). Sonuçlar önceki çalışmalarda bildirilen sonuçlarla da uyumlu bulunmuştur (Kaur vd., 2019; Nakov vd., 2018; Molinari vd., 2017; Gül vd., 2013).

Çizelge 4. Bisküvilerin fonksiyonel özellikleri
Table 4. Functional properties of cookies

Özellikler Properties	KÇU oranı (% w/w) WSF ratio (% w/w)					
	0	10	20	30	40	50
TBL (%) ^{1,2} TDF (%) TFM (mg/kg) ^{1,3} TPC (mg/kg)	5.69±1.22 ^d	6.90±1.16 ^d	9.45±0.87 ^c	13.89±0.16 ^b	15.03±0.06 ^b	18.58±2.33 ^a
Antioksidan aktivite (% inhibisyon) Antioxidant activity (% inhibition)	21.44±1.75 ^d	22.32±1.61 ^{cd}	22.77±1.79 ^{bcd}	23.95±0.78 ^{abc}	24.38±0.28 ^{ab}	25.42±0.37 ^a
Fitik asit (mg/g) ¹ Phytic acid (mg/g)	0.64±0.06 ^e	1.19±0.04 ^d	2.04±0.06 ^c	2.22±0.09 ^c	2.54±0.09 ^b	3.09±0.11 ^a

Çizelgede, aynı satırda farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir, *In the table, differences between values shown with different letters in the same line are significant compared to the 0.05 confidence level*; ¹Kuru madde üzerinden hesaplanmıştır, ¹Calculated on dry matter bases; ²Toplam besinsel lif, ²Total dietary fiber; ³Toplam fenolik madde, ³Total phenolic content

Fitik asitin bitkiler için çok önemli fonksiyonları olmasına karşın insan vücudunda bir takım olumsuzlukları bulunmaktadır. Bunların başında Ca, Fe, Zn, Mn gibi bazı esansiyel minerallerle kompleks oluşturarak bunların absorpsiyonunu engellemesi gelir. Ayrıca fosforun büyük bir kısmını fitat fosforu olarak bünyesinde bağlayarak veya bazı amino asitlerle interaksiyona girerek de etkili olabilmektedir (Egli vd., 2004; Hurrell, 2003). Bu açıdan bakıldığında gıdalarda miktarının düşük olması istenir. Bununla birlikte fitik asidin karsinogenezi önlemede antioksidan olarak diyetle olumlu etkisinin olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Bu nedenle gıdalardaki fitik asit içeriğinin belirlenmesi vazgeçilmezdir (Addo vd., 2018). Ancak, yararlı etkiler ortaya

çıkarmak için insanlar için dozaj bilgisi sınırlıdır (Aktaş ve Levent, 2018). Bisküvi örneklerinin fitik asit içeriği 0.64 ile 3.09 mg/g arasında değişmiştir. KÇU ikamesi fitik asit miktarında önemli bir artışa neden olmuştur (Çizelge 4). Bu sonuçlar Bello vd. (2008), Egbuonu (2015) ve Addo vd. (2018) tarafından rapor edilen sonuçlarla desteklenmiştir.

Bisküvilerin renk ve tekstürel özellikleri

Fiziksel yapı, koku ve renk özellikleri bisküvilerin tüketiciler tarafından kabul edilebilirliğini etkileyen ana özelliklerdendir. Bu nedenle üreticiler için temel hedef, bisküvi üretiminde ürün çeşitliliğini arttırmak için kullanılan bileşenlerin albeniyi bozmamasıdır (Ertaş ve Aslan, 2020). Bisküvilerin rengi temel olarak

Maillard reaksiyonuna atfedilir. Bu reaksiyon pişme sırasında yüksek sıcaklığın etkisiyle indirgen şekerlerin ortamdaki proteinlerin amino

gruplarıyla reaksiyona girmesi ile gerçekleşir (Hadiyanto vd., 2007).

Çizelge 5. Bisküvilerin renk ve tekstürel özellikleri
Table 5. Color and textural properties of cookies

Özellikler Properties	KÇU oranı (% w/w) WSF ratio (% w/w)					
	0	10	20	30	40	50
L*	52.50±6.58 ^a	48.10±4.13 ^{ab}	42.89±1.80 ^{bc}	38.00±0.22 ^{cd}	37.40±1.61 ^{cd}	35.60±2.28 ^d
a*	10.47±1.44 ^a	9.15±0.84 ^{ab}	8.45±0.24 ^{bc}	8.36±0.42 ^{bc}	7.24±0.78 ^c	7.18±0.79 ^c
b*	21.73±2.50 ^a	19.43±1.56 ^b	16.96±1.10 ^c	14.46±0.72 ^d	13.84±1.02 ^d	12.88±0.82 ^d
Sertlik (N) Hardness (N)	31.70±0.49 ^a	27.03±4.65 ^a	26.69±5.95 ^a	24.32±11.88 ^a	23.89±6.92 ^a	22.54±1.27 ^a
Kırılgnalık (mm) Fracturability(mm)	40.16±0.23 ^a	39.95±0.71 ^a	39.44±0.24 ^a	39.98±0.50 ^a	39.51±0.47 ^a	39.21±0.18 ^a

Çizelgede, aynı satırda farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir, *In the table, differences between values shown with different letters in the same line are significant compared to the 0.05 confidence level*

Çizelge 5'te verilen renk değerlerine bakıldığında; KÇU ikamesiyle üretilen bisküvilerin L* (parlaklık), b* (sarılık) ve a* (kırmızılık) değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir ($P \leq 0.05$). En yüksek parlaklık ve sarılık değerleri, kontrol grubu örneklerde tespit edilmiştir. Genel olarak, KÇU ikame oranlarında artışa gidilmesi, son ürün renginde değişimlere sebep olmuş, daha mat, daha kırmızı renkli bir ürün elde edilmiştir. Bisküvilerdeki mat ve koyu rengin karpuz çekirdeğinin doğal renginin koyu olmasına da bağlanabilir (Çizelge 2). Giuberti vd. (2018) yapmış oldukları çalışmalarında, bisküvi üretiminde yonca tohumu unu kullanımının son ürün rengini etkilediğini, daha koyu ve daha az sarı ürünlerin elde edildiğini bildirmişlerdir. Chevallier vd. (2000), parlaklık (L*) değeri ile protein içeriği arasında negatif ilişki olduğunu bildirmişlerdir. KÇU'nun protein içeriğinin yüksek olması nedeniyle formülasyona ikame edildiğinde örneklerin parlaklık değerleri düşmüş olabilir. Ayrıca bu düşüşün Maillard reaksiyonunun KÇU ikameli örneklerde daha fazla gerçekleşmesine bağlanabilir. Çünkü karpuz çekirdeği oldukça yüksek şeker içeriğine sahip olduğundan (Ubbor ve Akobundu, 2009; Ho ve Abdul Latif, 2016), Maillard reaksiyonu için substrat oluşturabilmektedir.

Bisküvinin deformasyona karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanan sertlik ve kırılgnalık gibi

tekstürel özellikler, fırın ürünlerinde oldukça önemli parametrelerdir (Ahlborn vd., 2005). Ayrıca tüketici kabulünü etkileyen ana parametrelerdir. Çalışma kapsamında üretilen bisküvilerde, KÇU ikamesi ile sertlik ölçüm değerleri azalmıştır (Çizelge 5). Bu azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Pareyt vd. (2008) yaptıkları bir çalışmada bisküvi hamurlarında gluten içeriğiyle ilişkili kabarma ve yoğunluk değişimine bağlı olarak sertlik değerlerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Buna göre KÇU ikameli bisküvilerdeki sertlik değerinin düşme nedeni KÇU kamesine bağlı olarak gluten miktarının azalmasına ve yağ miktarının artmasına bağlanabilir. Bisküvilerde KÇU kullanılmasıyla sertlik değerlerinde görülen bu düşüş, ayrıca diyet lifi içeriğinin artmasıyla da ilişkilendirilmiştir. Diyet lifi, yüksek su tutma kapasitesinden dolayı daha yumuşak bir bisküvi dokusu oluşturmaktadır. Aslam vd. (2014)'e göre, bisküvilerin sertliğinin, gluten proteininin su molekülleri ile etkileşimi sonucu oluşan gluten ağının gelişmesinden etkilendiğini ve dolayısıyla gluten miktarının azaltılmasıyla sertlik değerinin düşmesine neden olabileceğini belirtmişlerdir. Kaur vd. (2017) çalışmalarında % 10 ve 20 oranlarında kavrulmuş keten tohumu unu ikame edilmiş bisküvilerin sertlik değerlerini sırasıyla 13.41 N ve 12.01 N olarak belirlemişlerdir. Diğer bir çalışmada, bisküvi formülasyonuna artan oranlarda dulavratotu kökü unu (burdock root

flour) ikamesinin bisküvilerin sertlik değerlerini düşürdüğü rapor edilmiştir (Moro vd., 2018). KÇU ikamesinin bisküvi örneklerinin kırılabilirliği üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır. Bisküvilerin kırılabilirlik değerlerinde istatistiksel olarak benzer sonuçlar ($P > 0.05$) gözlenmiştir.

Bisküvilerin duyu özellikleri

Duyusal değerlendirme, gıdaların çeşitli karakteristiklerine görme, koklama, tatma,

dokunma veya işleme duyularının tepkilerini oluşturan, ölçen, analizleyen ve yorumlayan bir disiplindir (Onoğur ve Elmacı, 2011). Gıda ürünlerinin duyu özellikleri, tüketicilerin kabulünde çok önemli bir rol oynamaktadır.

KÇU ikameli bisküvilerin duyu özelliklerine ait değerler Çizelge 6'da verilmiştir. Değerlendirilen parametrelerde bisküvi örnekleri arasında önemli farklılıklar ($P \leq 0.05$) saptanmıştır.

Çizelge 6. Bisküvilerin duyu özellikleri

Table 6. Sensory properties of cookies

Özellikler Properties	KÇU oranı (% w/w)					
	WSF ratio (% w/w)					
	0	10	20	30	40	50
Renk Color	4.10±0.14 ^a	4.00±0.28 ^a	3.75±0.07 ^a	3.30±0.28 ^b	3.20±0.28 ^b	3.00±0.00 ^b
Görünüş Appearance	4.75±0.07 ^a	4.20±0.14 ^b	3.70±0.14 ^c	3.60±0.14 ^c	3.50±0.28 ^c	3.00±0.14 ^d
Sertlik Hardness	4.25±0.07 ^a	4.35±0.07 ^a	4.05±0.21 ^b	4.00±0.14 ^b	3.60±0.14 ^c	3.42±0.07 ^d
Tat-aroma Taste-aroma	4.00±0.28 ^a	4.05±0.07 ^a	3.95±0.07 ^a	3.70±0.14 ^a	2.90±0.14 ^b	2.70±0.14 ^b
Genel kabul edilebilirlik Overall acceptability	3.85±0.07 ^{ab}	4.00±0.00 ^a	3.80±0.14 ^{ab}	3.65±0.07 ^b	3.15±0.07 ^c	3.05±0.07 ^c

Çizelgede, aynı satırda farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir, *In the table, differences between values shown with different letters in the same line are significant compared to the 0.05 confidence level*

KÇU ikamesi, bisküvi örneklerinin tüm duyu özellik puanlarında genel olarak bir düşüşe neden olmuştur. Bu durumun özellikle örneklerin mat ve koyu renkli olmasından ve karpuz çekirdeğinin aromasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Renk, kabul edilebilirlik üzerindeki etkisi nedeniyle herhangi bir gıda için önemli bir duyu özelliklerdir. Çizelge 6 incelendiğinde üretilen bisküvilerin panel üyelerinden aldıkları renk değerleri 3.00-4.10 arasında değişmiştir. Renk açısından en çok beğeni kontrol bisküvi örneğinde görülmüştür. Görünüş özelliği incelendiğinde örneklerin panel üyeleri tarafından aldıkları puanlar 3.00-4.75 arasında değişmiştir. En yüksek puan (4.75) kontrol bisküvisine verilirken, en düşük puan (3.00) %50 KÇU ikameli bisküvi örneğine verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi tat-aroma ve sertlik açısından en çok tercih edilen

örnek %10KÇU ikameli bisküvi olmuştur. Genel kabul edilebilirlik bakımından en fazla beğeniyi yine %10 KÇU ikameli örnek almıştır. Seker vd. (2010), kayısı çekirdeği unu ikamesi ile ürettikleri bisküvilerde oran artışı ile birlikte bunların genel duyu değerlerinin, kontrol bisküvilerinden çok farklı olmadığını ve bunların kabul edilebilir olduğunu bildirmişlerdir. Yine yapılan başka bir çalışmada, diyet lif ikamesiyle bisküvilerin renk, tat, yapı ve toplam kabul edilebilirlik puanlarının düştüğü bildirilmiştir (Uysal vd., 2007).

SONUÇ

Bu çalışmada, KÇU ikamesinin bisküvi kalitesine etkisi araştırılmıştır. Bisküvi formülasyonuna KÇU ikamesi kül, protein, yağ, besinsel lif, toplam fenolik madde, antioksidan ve fitik asit içeriği bakımından örneklerin fonksiyonel özelliklerini

artırmıştır. Karpuz çekirdeğinin koyu rengi bisküvilerin daha koyu ve daha kırmızı renkte görünmesine neden olmuştur. KÇU ikamesi örneklerin tüm duyuşsal özellik puanlarında genel olarak bir düşüşe neden olmuş ancak duyuşsal formdaki “Bu ürünü tüketir misiniz?” sorusuna tüm panelistler “evet, karpuz çekirdeği unu ikameli bisküviyi tüketebiliriz” cevabını yazmışlardır. Sonuç olarak, KÇU’nun bisküvü formülasyonunda kullanımının özellikle besinsel özellikleri (toplam besinsel lif, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite) arttırdığı ve KÇU’nun bisküvi zenginleştirilmesinde fonksiyonel bir bileşen olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Bulgular KÇU’nun, protein içeriği düşük olan geleneksel unları takviye etmek için kullanılabileceği ve protein bakımından yetersiz beslenmenin azaltılmasına yönelik önemli bir adım olabileceği sonucunu düşündürmüştür. Ayrıca KÇU’nun sergilediği yüksek fonksiyonel özellikler nedeniyle gıda sistemlerinde uygulamalarının arttırılması gerektiği de önerilebilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

KAYNAKLAR

AACCI, (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.

Abdalla, A.E.M., Darwish, S.M., Ayad, E.H.E., El-Hamahmy, R.M. (2007). Egyptian mango by-product 1. Compositional quality of mango seed kernel. *Food Chemistry*, 103(4): 1134–1140. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.01>

Addo, P.W., Agbenorhevi, J.K., Adu-Poku, D. (2018). Antinutrient contents of watermelon seeds. *MOJ Food Processing & Technology*, 6(2): 237–239. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2018.06.00170>

Adeyeye S.A.O., Bolaji Olushola T., Abegunde T.A., Adebayo-Oyetoro A.O., Tihamiyu H.K., Idowu-Adebayo F. (2020). Evaluation of nutritional composition, physico-chemical and

sensory properties of ‘Robo’ (A Nigerian traditional snack) produced from watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) seeds. *Food Research*, 4(1): 216–223. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(1\).230](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(1).230)

Ahlborn, G.J., Pike, O.A., Hendrix, S.B., Hess, W.M., Huber, C.S. (2005). Sensory, mechanical and microscopic evaluation of staling in low-protein and glutenfree breads. *Cereal Chemistry*, 82(3): 328–335. <https://doi.org/10.1094/CC-82-0328>.

Akbaş, M., Ünlü, Y., Kılmanoğlu, H. (2023). Effect of melon seed powder on the quality characteristics of cupcakes. *Food and Health*, 9(4): 304–312. <https://doi.org/10.3153/FH23027>

Aktaş, K., Levent, H. (2018). The effects of chia (*Salvia hispanica* L.) and quinoa flours on the quality of rice flour and starch based-cakes. *GIDA*, 43(4): 644–654. <https://doi.org/10.15237/gida.GD18032>

Anang, D.A., Pobe, R.A., Antwi, E., Obeng, E.M., Atter, A., Ayittey, F.K., Boateng, J.T. (2018). Nutritional, microbial and sensory attributes of bread fortified with defatted watermelon seed flour. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(6): 1468–1475. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13727>

Anonim (2010). Türk Standartları Enstitüsü, Bisküvi standardı (TS 2383), Ankara.

Ashoush, I.S., Gadallah, M.G.E. (2011). Utilization of mango peels and seed kernels powders as sources of phytochemicals in biscuit. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 6(1): 35–42.

Aslam, H.K.W., Raheem, M.I.U., Ramzan, R., Shakeel, A., Shoaib, M., Sakandar, H.A. (2014). Utilization of mango waste material (peel, kernel) to enhance dietary fiber content and antioxidant properties of biscuit. *Journal of Global Innovations in Agricultural and Social Sciences*, 2(2): 76–81. <https://doi.org/10.17957/JGIASS/2.2.533>

Azeez L.A., Adedokun S.O., Elutilo O.O., Alabi A.O. (2021). Quality attributes of cookies produced from the blends of sorghum, unripe plantain and watermelon seed flours. *International Journal of Research –GRANTHAALAYAH*, 9(2):

- 309–319. <https://doi.org/10.29121/granthaalayah.v9.i2.2021.3565>
- Bamidele, T., Sunday, H.G., Mathew, A., Ombugadu, J., Maryam, A.A. (2021). Evaluation of the phytochemicals, nutritional and anti-nutritional compositions of fresh, sprouted and toasted *Citrullus lanatus* (watermelon) seed extracts. *Asian Journal of Biochemistry Genetics and Molecular Biology*, 7(3): 11–19. <https://doi.org/10.9734/AJBGMB/2021/V7I330174>
- Baumgartner, B., Özkaya, B., Saka, I., Özkaya, H. (2018). Functional and physical properties of cookies enriched with dephytinized oat bran. *Journal of Cereal Science*, 80: 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.01.011>.
- Bello, M.O., Falade, O.S., Adewusi, S.R.A., Olawore, N.O. (2008). Studies on the chemical compositions and anti nutrients of some lesser known Nigeria fruits. *African Journal of Biotechnology*, 7(21): 3972–3979. <https://doi.org/10.5897/AJB2008.000-5071>
- Benmeziane, F., Derradji, M. (2023). Composition, bioactive potential and food applications of watermelon (*Citrullus lanatus*) seeds—a review. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17: 5045–5061. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-02012-5>
- Chevallier, S., Colonna, P.A., Della Valle, G., Lourdin, D. (2000). Contribution of major ingredients during baking of biscuit dough systems. *Journal of Cereal Science*, 31(3): 241–252. <https://doi.org/10.1006/jcsc.2000.0308>
- Crizel de Moraes, T., Jablonski, A., Rios de Oliveira, A., Rech, R., Flôres, S.H. (2013). Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer. *LWT - Food Science and Technology*, 53(1): 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.002>
- Demir, M. K. (2015). Utilization of whole wheat flour and its blends in cookies production. *Journal of Agricultural Sciences*, 21(1): 100–107. <https://doi.org/10.15832/tbd.18466>.
- Demirel, H., Demir, M.K. (2018). Farkli turunçgillerden elde edilen albedolarin bisküvi üretiminde kullanımı. *GIDA*, 43(3): 501–511. <https://doi.org/10.15237/gida.GD18021>
- Doğan, H., Meral, R. (2016). Uşkun bitkisinin bisküvi üretiminde fonksiyonel bileşen olarak kullanımı. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(4): 91–99. <https://doi.org/10.21597/jist.2016624159>
- Egbuonu, A.C.C. (2015). Assessment of some antinutrient properties of the watermelon (*Citrullus lanatus*) rind and seed. *Research Journal of Environmental Sciences*, 9(5): 225–232. <https://doi.org/10.3923/rjes.2015.225.232>
- Egli, I., Davidsson, L., Zeder, C., Walczyk, T., Hurrell, R. (2004). Dephytinization of a complementary food based on wheat and soy increases zinc, but not copper, apparent absorption in adults. *The Journal of Nutrition*, 134(5): 1077–1080. <http://dx.doi.org/10.1093/jn/134.5.1077>. PMID:15113948.
- Ertaş, N., Aslan, M. (2020). A Study on the potential of using melon wastes in biscuit production. *KSU Agriculture and Nature Journal*, 23(5): 1216–1224. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogu.vi.681812>
- Falade, O.S., Otemuyiwa, I.O., Adekunle, A.S., Adewusi, S.A., Oluwasefunmi, O. (2020). Nutrient composition of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum.&Nakai) and egusi melon (*Citrullus colocynthis* (L.) Schrad.) seeds. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 85(1): 43–49.
- FAO, (2021). <http://www.faostat.com> (Erişim tarihi: 9 Ağustos 2023)
- Giuberti, G., Rocchetti, G., Sigolo, S., Fortunati, P., Lucini, L., Gallo, A. (2018). Exploitation of alfalfa seed (*Medicago sativa* L.) flour into gluten-free rice cookies: nutritional, antioxidant and quality characteristics. *Food Chemistry*, 239: 679–687. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.004>. PMID:28873621.
- Grasso, S., Omoarukhe, E., Wen, X., Papoutsis, K., Methven, L. (2019). The use of upcycled defatted sunflower seed flour as a functional ingredient in biscuits. *Foods*, 8(8): 305. <https://doi.org/10.3390/foods8080305>

- Gül, H., Yanik, A., Acun, S. (2013). Effects of white cabbage powder on cookie quality. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 11(1): 68–72.
- Hadiyanto, Asselman, A., Straten, G. van, Boom, R.M., Esveld, D.C., Bostel, A.J.B. van. (2007). Quality prediction of bakery products in the initial phase of process design. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(2): 285–298. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.01.006>
- Henríquez, C., Speisky, H., Chiffelle, I., Valenzuela, T., Araya, M., Simpson, R., Almonacid, S. (2010). Development of an ingredient containing apple peel, as a source of polyphenols and dietary fiber. *Journal of Food Science*, 75(6): H172–H181. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01700.x>
- Ho, L.H., Abdul Latif, W. (2016). Nutritional composition, physical properties, and sensory evaluation of cookies prepared from wheat flour and pitaya (*Hylocereus undatus*) peel flour blends. *Cogent Food & Agriculture*, 2: 1136369. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1136369>
- Hooda, S., Jood, S. (2005). Organoleptic and nutritional evaluation of manufacture wheat biscuits supplemented with untreated and treated fenugreek flour. *Food Chemistry*, 90(3): 427–435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.006>
- Huber, G.M., Rupasinghe, H.P.V. (2009). Phenolic profiles and antioxidant properties of apple skin extracts. *Journal of Food Science*, 74(9): C693–C700. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01356.x>
- Hurrell, R.F. (2003). Influence of vegetable protein sources on trace element and mineral bioavailability. *The Journal of Nutrition*, 133(9): 2973–2977. <https://doi.org/10.1093/jn/133.9.2973>. PMID:12949395.
- Ifesan, B.O.T., Franca, E. (2017). Chemical properties of watermelon seed and the utilization of dehulled seed in cookies production. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 9: 126–135.
- Jaroszewska, A., Jedrejek, D., Sobolewska, M., Kowalska, I. (2023). Mineral, nutritional, and phytochemical composition and baking properties of teff and watermelon seed flours. *Molecules*, 28: 3255. <https://doi.org/10.3390/molecules28073255>
- Jyothi lakshmi, A., Kaul, P. (2011). Nutritional potential, bioaccessibility of minerals and functionality of watermelon (*Citrullus vulgaris*) seeds. *LWT-Food Science and Technology*, 44: 1821–1826. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.04.001>
- Kaur, M., Sharma, S. (2017). Formulation and nutritional evaluation of cookies supplemented with pumpkin seed (*Curcubita Moschata*) flour. *Chemical Science Review and Letters*, 6(24): 2236–2241.
- Kaur, P., Sharma, P., Kumar, V., Panghal, A., Kaur, J., Gat, Y. (2019). Effect of addition of flaxseed flour on phytochemical, physicochemical, nutritional, and textural properties of cookies. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(4): 372–377. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.12.004>.
- Kolawole, F.L., Akinwande, B.A., Ade-Omowaye, B.I.O. (2018). Physicochemical properties of novel cookies produced from orange-fleshed sweet potato cookies enriched with sclerotium of edible mushroom (*Pleurotus tuberregium*). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 19(2): 174–178. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.09.001>
- Köten, M. (2021). Influence of roasted and unroasted terebinth (*Pistacia terebinthus*) on the functional, chemical and textural properties of wire-cut cookies. *Food Science and Technology (Campinas)*, 41(1): 245–253. <https://doi.org/10.1590/fst.17020>
- Miller, R., Mathew, R., Hosney, R. (1996). Use of a thermomechanical analyzer: study of an apparent glass transition in cookie dough. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 47(5): 1329–1338. <https://doi.org/10.1007/BF01992831>.
- Mirabella, N., Castellani, V.A., Sala, S. (2013). Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review. *Journal of Cleaner Production*, 65: 28–41. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.10.051>

- Molinari, R., Costantini, L., Timperio, A.M., Lelli, V., Bonafaccia, F., Bonafaccia, G., Merendino, N. (2017). Tartary buckwheat malt as ingredient of gluten-free cookies. *Journal of Cereal Science*, 80: 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.11.011>.
- Moro, T.M.A., Celegatti, C.M., Pereira, A.P.A., Lopes, A.S., Barbin, D.F., Pastore, G.M., Clerici, M.T.P.S. (2018). Use of burdock root flour as a prebiotic ingredient in cookies. *LWT-Food Science and Technology*, 90: 540–546. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.059>
- Nakov, G., Brandolini, A., Ivanova, N., Dimov, I., Stamatovska, V. (2018). The effect of einkorn (*Triticum monococcum* L.) whole meal flour addition on physicochemical characteristics, biological active compounds and in vitro starch digestion of cookies. *Journal of Cereal Science*, 83: 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.08.004>.
- Neglo, D., Tettey, C.O., Essuman, E.K., Kortei, N.K., Boakye, A.A., Hunkpe, G., Amah, F., Kwashie, P., Devi, W.S. (2021). Comparative antioxidant and antimicrobial activities of the peels, rind, pulp and seeds of watermelon (*Citrullus lanatus*) fruit. *Scientific African*, 11: e00582. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00582>
- Ojha, P., Thapa, S. (2017). Quality evaluation of biscuit incorporated with mandarin peel powder. *Scientific Study & Research. Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 18(1): 19–30.
- Onoğur, T.A., Elmacı, Y. (2011). *Dünyusal Değerlendirme Nedir? Gıdada Dünyusal Değerlendirme*. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir. p: 9–14.
- Özbaş, Ö.Ö., Şeker, İ.T., Gökbulut, İ. (2014). Effects of apricot kernel flour and fiber-rich fruit powders on low-fat cookie quality. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 1: 1326–1332. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/turkjans/issue/13310/160907>
- Pareyt, B., Wilderjans, E., Goesaert, H., Brijs, K., Delcour, J.A. (2008). The rol of gluten in sugar-snap cookie system: A model approach based on gluten-starch blends. *Journal of Cereal Science*, 48(3): 863–869. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.06.011>.
- Peter-Ikechukwu, A.I., Omeire, G.C., Kabuo, N.O., Eluchie, C.N., Amandikwa, C., Odoemenam, G.I. (2018). Production and evaluation of biscuits made from wheat flour and toasted watermelon seed meal as fat substitute. *Journal of Food Research*, 7(5): 112–123. <https://doi.org/10.5539/jfr.v7n5p112>
- Qayyum, A., Huma, N., Sameen, A., Siddiq, A., Munir, M. (2017). Impact of watermelon seed flour on the physico-chemical and sensory characteristics of ice cream. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6), e13297. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13297>
- Seidu, K.T., Otutu, O.L. (2016). Phytochemical composition and radical scavenging activities of watermelon (*Citrullus lanatus*) seed constituents. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 8(2): 83–89. <https://doi.org/10.17508/cjfst.2016.8.2.07>
- Seker, I.T., Ozboy-Ozbas, O., Gokbulut, I., Ozturk, S., Koxsel, H. (2010). Utilization of apricot kernel flour as fat replacer in cookies. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34(1): 15–26. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00258.x>
- Silva, L.M.R. da, Figueiredo, E.A.T. de, Ricardo, N.M.P.S., Vieira, I.G.P., Figueiredo, R.W. de, Brasil, I.M., Gomes, C.L. (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 143, 398–404. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.00>
- Qayyum, A., Huma, N., Sameen, A., Siddiq, A., Munir, M. (2017). Impact of watermelon seed flour on the physico-chemical and sensory characteristics of ice cream. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6): e13297. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13297>
- Tabiri, B., Agbenorhevi, J.K., Wireko-Manu, F.D., Ompouma, E.I. (2016). Watermelon seeds as food: nutrient composition, pytochchemicals and antioxidand activity. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 5(2): 139–144. <https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20160502.18>
- Ubbor, S.C., Akabundo, E.N.T. (2009). Quality characteristics of cookies from composite flours

of watermelon seed, cassava and wheat. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(7): 1097–1102. <https://doi.org/10.3923/pjn.2009.1097.1102>

Uysal, H., Bilgiçli, N., Elgün, A., İbanoğlu, Ş., Herken, E.N., Kürşat Demir, M. (2007). Effect of dietary fibre and xylanase enzyme addition on the selected properties of wire-cut cookies. *Journal of Food Engineering*, 78(3): 1074–1078. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.12.019>.

Wani, A.A., Sogi, D.S., Singh, P., Khatkar, B.S. (2015). Influence of watermelon seed protein

concentrates on dough handling, textural and sensory properties of cookies. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4): 2139–2147. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1224-3>

Yağcı, S. (2019). Rheological properties and biscuit production from flour blends prepared from cereal based by-products. *Harran Journal of Agricultural and Food Science*, 23(2): 142–149. <https://doi.org/10.29050/harranziraat.410059>.



**CHARACTERIZATION AND APPLICATION OF WHEY PROTEIN ISOLATE
BASED EDIBLE FILMS CONTAINING CLOVE AND APRICOT ESSENTIAL OILS**

Yeşil Işık Erdem, Sevim Kaya*, Burcu Gökkaya Erdem

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Gaziantep University, Gaziantep, Turkey

Received /Geliş: 08.12.2023; Accepted /Kabul: 15.03.2024; Published online/Online baskı: 20.03.2024

Erdem, Y. I., Kaya, S., Gökkaya Erdem, B. (2024). Characterization and application of whey protein isolate based edible films containing clove and apricot essential oils. *GIDA* (2024) 49 (2) 299-311 doi: 10.15237/ gida.GD23137

Erdem, Y. I., Kaya, S., Gökkaya Erdem, B. (2024). Karanfil ve kayısı esansiyel yağları ile aktif hale getirilmiş peynir altı suyu proteini izolat bazlı yenilebilir filmler. *GIDA* (2024) 49 (2) 299-311 doi: 10.15237/ gida.GD23137

ABSTRACT

The aim of this research is to investigate the effects of essential oils on the mechanical and antimicrobial properties of protein-based edible films. Clove and apricot oils were added to whey protein isolate (WPI) solutions and were named C-WPI and A-WPI, respectively. Kaşar cheese was chosen as a food sample to investigate the behavior of modified films on a food product. It was observed that the oil-protein interaction increased the elasticity but decreased the strength of the emulsified films. The incorporation of oil into the film matrix resulted in a more opaque appearance but also increased thermal stability. It was detected that both types of essential oils impart antimicrobial properties of the films, but clove oil is more effective than apricot oil. In conclusion, the successful antimicrobial properties of the modified WPI film make it a potential packaging material, especially for food products prone to microbiological spoilage.

Keywords: Whey protein isolate, clove essential oil, apricot essential oil, active film, texture profile analysis, Kaşar cheese

**KARANFİL VE KAYISI ESANSİYEL YAĞLARI İLE AKTİF HALE GETİRİLMİŞ
PEYNİR ALTI SUYU PROTEİNİ İZOLAT BAZLI YENİLEBİLİR FİLMLE**

ÖZ

Bu araştırmanın amacı, uçucu yağların protein bazlı yenilebilir filmlerin mekanik ve antimikrobiyal özelliklerine etkilerini araştırmaktır. Peynir altı suyu protein izolatı (WPI) solüsyonlarına karanfil ve kayısı yağları eklenerek sırasıyla C-WPI ve A-WPI olarak adlandırıldı. Modifiye filmlerin bir gıda ürünü üzerindeki davranışını araştırmak amacıyla gıda örneği olarak Kaşar peyniri seçilmiştir. Yağ-protein etkileşiminin emülsifiye filmlerin elastikiyetini arttırdığı ancak mukavemetini azalttığı gözlemlendi. Yağın film matrisine dahil edilmesi, daha opak bir görünüme neden oldu, fakat aynı zamanda termal stabiliteyi de arttırdı. Her iki uçucu yağ türünün de filmlere antimikrobiyal özellikler kazandırdığı ancak karanfil yağının kayısı yağından daha etkili olduğu belirlendi. Sonuç olarak, değiştirilmiş WPI filminin başarılı antimikrobiyal özellikleri, onu özellikle mikrobiyolojik bozulmaya yatkın gıda ürünleri için potansiyel bir ambalaj malzemesi haline getirmektedir.

Anahtar kelimeler: Peynir altı suyu proteini izolatı, karanfil esansiyel yağı, kayısı esansiyel yağı, aktif film, mekanik özellik, tekstür profil analizi, Kaşar peyniri

*Corresponding author/ Sorumlu yazar

✉: skaya@gantep.edu.tr

☎: (+90) 342 317 2312

☎: (+90) 342 317 2362

Yeşil Işık Erdem; ORCID no: 0009-0002-3312-7334

Sevim Kaya; ORCID no: 0000-0003-4790-7630

Burcu Gökkaya Erdem; ORCID no: 0000-0002-4112-5729

INTRODUCTION

Kaşar cheese, pasta-filata type of cheese, is one of the most preferred cheese type in Turkey (Sefa et al., 2020). The fresh Kaşar cheese is produced from pasteurized milk (sheep or cow's milk) and it is sold as un-ripened (Eroglu et al., 2016). Although mold growth is not so expected in fermented milk products, it has been the main problem in Kaşar cheese. The having color, structural and aroma defects caused by mold growth lead to economic loss (Erdoğan et al., 2001). There have been different techniques to prevent losing cheese due to especially microbial growth, however some needs direct incorporation of antimicrobials into cheese or dipping cheese into antimicrobials solutions, etc. In order to ensure microbial food control, it is essential to use preservatives in the industry. Essential oils are natural, non-synthetic bioactive substances. The antimicrobial and antioxidant activities of these environmentally friendly substances are pretty high. Hence, essential oils can be utilized to save perishable foods from microbial spoilage (Feyzioglu and Tornuk, 2016). The most essential oils are classified as food flavorings, however, they have antimicrobial properties also (Bączek et al., 2017). The researches in food packaging mainly focus on developing packaging materials safe to contact to foods itself and including some natural agents like essential oils especially with anti-microbial properties which enhance food safety in terms of human health and to extend their shelf life (Mahcene et al., 2020; Mahcene et al., 2021). Essential oils obtained from plants and spices are widely used in the development of antimicrobial biodegradable films and coatings (Lee et al., 2019). They contain active antimicrobial compounds such as phenols and terpenes (G. Al-Hashimi et al., 2020). Eugenol, carvacrol, and thymol are phenol compounds found naturally in cinnamon, cloves, sage, and thyme (G. Al-Hashimi et al., 2020). They can be utilized safely as food additives, since these compounds are classified as GRAS by the FDA (Food and Drug Administration) (Haro-González et al., 2021). In this study, oil of clove -an herb based extract- which is very rich in especially eugenol was utilized as an antimicrobial agent. In some previous studies, clove essential oil was

tested on different medias and proved to have a very good inhibitory effect on *L. monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* (Radünz et al., 2019). Eugenol is used as a food additive and classified to be a safe substance according to the United States (FDA) (Haro-González et al., 2021). It was reported that according to chemical composition analysis, clove has different 36 components. The highest component is eugenyl with the value of 88.58%; eugenyl acetate (5.62%) and β -caryophyllene (1.39%) are the other two highest ones, respectively. Some of the other components, which are less than one percent in proportion, are 2-heptanone, ethyl hexanoate, humulenol (0.27%) and calacorene (0.11%). The other type of essential oil preferred in this research is apricot oil. Apricot (*Prunus Armeniaca L. (Rosaceae)*) is a valuable fruit plant also used in the pharmaceutical/medicine industry. *Prunus Armeniaca L. (Rosaceae)* is a good source of natural sugar. The plant is a good source of polyphenols, fatty acids, sterols, carotenoids and volatile substances. Apricot has been the subject of many studies due to its important active properties such as anti-microbial, anti-oxidant, anti-mutagenic, anti-inflammatory and reducing effect on several enzymes (Wang et al., 2020). Active and green packaging approach can be a good alternative for food industry. Since it is possible to release the antimicrobial compound from the packaging material over a long period of time, as in the active packaging system, this activity can also continue throughout the transportation and storage period of the food system. Packaging material supplemented with antimicrobial agents can prevent microbial contamination of food by minimizing both the growth rate and the maximum growth population. Additionally, prolonging the lag-phase of the main (target) microorganism or inactivating it by contact are other possible pathways that active films provide for food preservations (Yemiş et al., 2017). It is a fact that active packaging technology is a rapidly developing system, but more research is needed on the rheological and microbiological effects of these approaches on packaged foods, especially considering nutritional quality and human safety (Firouz et al., 2021).

This work attempts to investigate the effect of incorporating two different essential oils (clove oil and apricot oil) into whey protein isolate films. Mechanical, physical and structural properties of the modified films were evaluated and the films were applied to fresh Kaşar cheese samples by dipping methods to test their success on a food material. Microbial and structural changes of uncoated (control) and coated cheese samples stored at 4°C were monitored periodically for up to one month. Although there have been some studies in the literature on the characterization of edible films, there has been very limited research on food applications. This study will contribute to the literature by adding apricot and clove oils to the whey protein isolate film system for the first time and providing a solution for Kaşar cheese, where mold growth is a problem.

MATERIAL AND METHOD

Whey protein isolate (98% protein content) was purchased from Davisco International Inc. (Le Sueur, MN). Water was double distilled and the plasticizer glycerol (88% purity) was from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Essential oils of clove and apricot were obtained from a local market in Gaziantep. Fresh Kaşar cheese samples were kindly provided from a local firm immediately after its production. All cheeses had the same production date and composition.

Experimental Studies

The study was performed within two sections. In the first section, WPI based edible films with essential oils (active films) and without essential oils (control and pure WPI films) were prepared, after that their physical properties were detected. The amount to be used was determined according to our preliminary studies, and since the use of extra emulsifying agents was not preferred, it was decided to use the minimum percentage of essential oil that gives good antimicrobial results. In the second section, the application of WPI films on a model system; Kaşar cheese was investigated.

Whey Protein isolate-based film preparation

Aqueous solution of 4% (w/w) WPI was produced by blending WPI powder in distilled

water. Prepared mixtures were put in a 90°C water bath and kept for 30 minutes. Then, the mixtures were cooled to 24°C (room temperature), after that 7% (v/v) amount of glycerol was added. Clove and apricot essential oils were added with 4% (v/v) ratios as essential oil concentration per film solution (100 mL of solution contains 4 gr WPI, 7 mL glycerol and 4 mL essential oil). It was homogenized vigorously for 2 min at 20,000 rpm using a homogenizer (IKA T18 Ultra Turrax, Staufen, Germany). 15 mL of solutions were spread on 15 cm² glass plates and waited to dry under ambient conditions (23 ± 2°C and 40 ± 5% relative humidity) for 24 hours then dried film samples were peeled. Conditioning for the samples was done at 23 ± 2°C and 40 ± 5% relative humidity (Kaya and Kaya, 2000).

Film characterization

Texture Analyzer (Stable Microsystems, TA-XT2i model, Godalming, UK) was utilized to measure the strength and elasticity characterization of edible films (Erdem, 2023). Brightness were tested with the device of BYK Gardner Microgloss 45 and opacity was determined by Diffusion Systems (M57D) (Kaya and Kaya, 2000). Transmission infrared spectra of the films were evaluated by Perkin Elmer Spectrum 100 (Perkin Elmer Ltd, Beaconsfield, UK) (Rai and Poonia, 2019). Thermogravimetric analysis (TGA) was made with Perkin Elmer Precisely, TGA 4000. Samples for TGA measurements were prepared from several pieces cut from the films to a mass of about 6 mg and placed in capsules of the analyzer. Data were taken at temperatures between 20°C and 800°C. The heating rate was set at 10°C/min (Sukyai et al., 2018).

Application of WPI edible film on Kaşar cheese

To provide full covering of cheese samples with the edible films, dipping techniques were performed using WPI edible coating solutions which have the same composition of the films (Reyes-Avalos et al., 2016). WPI based coating solutions were used to coat Kaşar cheese samples. Fresh Kaşar cheese samples were sliced to the same width and length (2.5 cm x 2.5 cm) but 1.3 cm in height. The prepared cheeses were stuck on toothpicks and then coated by dipping method

(Figure 1). They are dipped into film solutions two times, each lasting 1 min. Ten set of samples were prepared, each set was formed with five uncoated, five WPI film coated, five A- WPI (WPI based film containing apricot essential oil) coated, five C-WPI (WPI based film containing clove essential oil) coated cheese samples were placed on each set. Then two sets were used for

microbiological analysis for first day and last day as initial and final measurements. Weight loss of uncoated and coated samples was determined using one set of samples. Others even sets used for texture and rheological analysis after 1, 2, 3, 7, 14, 21 and 28 days of storage. The samples stored at 4°C during experiment.

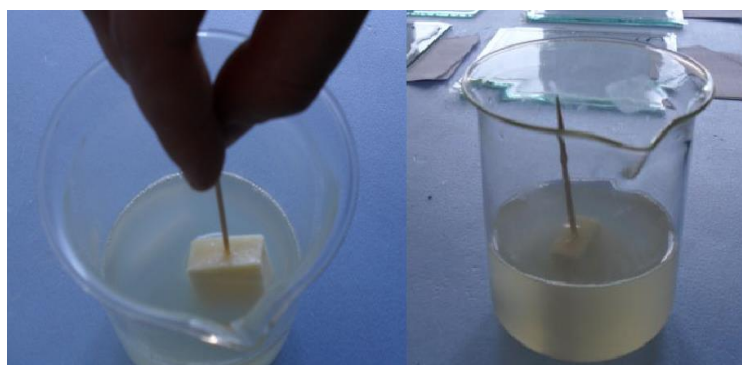


Figure 1. Application of dipping method for coating of cheese samples.

Microbiological analysis of uncoated and coated Kaşar cheese samples

The total microbial count of cheeses was tested by the way of standard plate count using spread technique (Nazim et al., 2013). PC agar was prepared for 20 petri dishes for four sample groups; uncoated cheeses, WPI coated cheeses, A-WPI and C-WPI coated cheeses. 25 g of each kind of cheese samples were mixed with 250 ml sterilized ($120 \pm 1^\circ\text{C}$ for 20 min) 0.1% peptone water and homogenized for 20 minutes. 10^{-1} dilutions of samples were used during experiment. Petri dishes were incubated at 37°C during 2 days and observations were given as colony forming unit per gram of sample (cfu/g sample). This procedure was applied for initial and final measurements. Coated samples were waited one day to make them stable and initial measurement was made. Final measurement was made at 28th day.

Texture profile analysis (TPA) of Kaşar cheese samples

A texture analyzer model TA-XT2i (Stable Microsystems, UK) was used for measuring texture profiles of all of the cheese samples,

uncoated (control) and coated (Erdem and Kaya, 2022). Measurements of coated samples were made on days 1, 2, 3, 7, 14, 21 and 28 of storage. Measurement conditions were adjusted as test speed 1 mm/s and 10% strain. Rectangular shaped probe was used with dimension 4 x 5cm. Temperature of texture analyzer was adjusted as 10°C . Temperature control was made by using Peltier apparatus XT/PP. This apparatus provides acceptable surface temperature to measure small and weak products like adhesive which sensitive to compression.

Determination of weight loss of uncoated and coated Kaşar cheese samples

After film solution dried on cheese samples the initial weights were obtained. Five samples of each C-WPI, A-WPI, and WPI coated and uncoated cheese were numbered and placed on refrigerator (4°C). Cheese samples were weighted periodically using a sensitive scale with a sensitivity of 0.0001g (XB220A, Precisa) (Reyes-Avalos et al., 2016).

Statistical Analysis

Statistical analysis were performed using analysis of variance (ANOVA) to examine the effect of essential oils on edible films and effect of these film types on cheese structure and microbial growth by using SPSS software (v.16.0.0). One way ANOVA was used to compare means of parameters and Duncan test was applied as post-Hoc test. The results were tabulated as the mean \pm standard deviation ($n = 5$).

RESULTS AND DISCUSSION

Mechanical Properties

The maximum stress in an edible film can be determined by mechanical tensile strength testing. Tensile strength (TS) refers to the extent of film integration as well as the potential for heavy-duty-use. The percentage of elongation at break (EB) is an indicator of the stretching ability of the film (Erdem and Kaya, 2022). Mechanical property observations of the studied samples are given in Table 1. Neat WPI film showed the highest (1.87 MPa) and A-WPI had the lowest (1.01 MPa) TS values. The observation of lower TS for modified films could be attributed to reduced protein-protein interactions between polymer molecules due to the presence of the essential oils. It was determined that addition of both clove and

apricot essential oils into the edible film matrix was found to increase EB (Table 1). The elastic modulus values of C-WPI and A-WPI films were significantly lower than neat WPI, so it is a fact that oil incorporation into film matrix had a more pronounced effect on this property than the tensile strength. McHugh and Krochta (1994) have investigated the properties of whey protein based films made of high glycerol content and reported statistically low tensile strength and high elongation at break (McHugh and Krochta, 1994). In a similar way, higher elasticity was observed in some previous studies with lipid incorporation into film matrix system (Erdem et al., 2019; Rai and Poonia, 2019). Essential oil addition may have resulted in development of a heterogeneous film structure due to non-uniform oil dispersion on the film surface and offering some discontinuities of the film structure. Therefore, this may have changed stretching ability of the film. Also, since clove and apricot essential oils used in the study are liquids at room conditions, they might be placed in the matrix in the form of easily deformable oil droplets and this might increase the extensibility of the film (Galus, 2018). This means used essential oils were bound with WPI and this provided increase in percent elongation of the films.

Table 1. Mechanical and optical properties of edible films.

Film Type	Tensile Strength (MPa)	Elongation at Break (%)	Elongation Modulus (MPa)	Brightness	Opacity
WPI	1.87 \pm 0.12 ^a	84.85 \pm 7.21 ^a	30.94 \pm 2.20 ^a	90.67 \pm 2.18 ^a	15.67 \pm 2.90 ^a
A-WPI	1.01 \pm 0.07 ^b	99.73 \pm 13.43 ^c	1.17 \pm 0.39 ^c	51.67 \pm 1.31 ^c	34.67 \pm 7.21 ^c
C-WPI	1.15 \pm 0.07 ^b	164.34 \pm 24.84 ^b	7.17 \pm 1.05 ^b	71.00 \pm 1.21 ^b	26.50 \pm 1.50 ^b

Values were given as mean \pm standard deviations. Different superscript letters in the same column indicates statistical differences (Duncan's test, $\alpha \leq 0.05$), (WPI: whey protein isolate based edible films, C-WPI: clove essential oil incorporated whey protein isolate based edible films, A-WPI: apricot essential oil incorporated whey protein isolate based edible films.)

Optical Properties

Optical properties of samples were tabulated in Table 1. According to the results, it was understood that there was an inverse relation between brightness and opacity. WPI film had the highest brightness and transparent structure; however opacity increased with essential oil

addition. Table 1 presented that A-WPI was found to be more opaque (34.67) than C-WPI (26.50). It has been reported that the heterogeneity and/or accumulation of oil particles promoted poor transparency, resulting in reduced UV light transmission in the film matrix (Erdem, 2023). It is important to note here that

the WPI films contain two types of plasticizers, glycerol and water, as well as the addition of essential oils, making these systems quite complex from a structural and physicochemical perspective. Additionally, some incompatibility between the different film forming resources such as polysaccharide-lipid or protein-lipid could affect the amount of light passing through the film specimen and decreases the transparency. Actually, higher opacity could be a desired property for emulsion based edible films to lessen the oxidative degradation reactions and preserve the packed food (Galus, 2018).

Fourier Transforms Infrared Spectroscopy (FTIR)

FTIR spectroscopy was used to study the interaction between WPI film matrix and essential oils. The spectra of the WPI films with two different essential oils (clove and apricot) are presented in Figure 2. The absorption peak at around 3300 cm^{-1} showed $-\text{OH}$ stretching

vibration and the $\text{C}-\text{H}$ stretching band at around 2950 cm^{-1} for film specimens. In the present study, the bend of amide I, amide II and amide III were determined at about 1630 cm^{-1} , 1530 cm^{-1} and 1240 cm^{-1} , respectively. The main components of the clove oil is eugenol, which contains phenolic hydroxyl and benzene ring. Besides, it contains tartaric acid and other substances. The bigger obtained peak at around 1380 cm^{-1} for C-WPI and A-WPI in the FTIR spectrum might correspond with the presence of deformation vibration of eugenol methyl. That indicated the existence of hydrophilic and hydrophobic interactions between the polymers in the film matrix after essential oil incorporation into protein matrix. It was understood that the addition of essential oil did not cause a significant change in natural protein characteristics, but slightly increased the hydrophobic property.

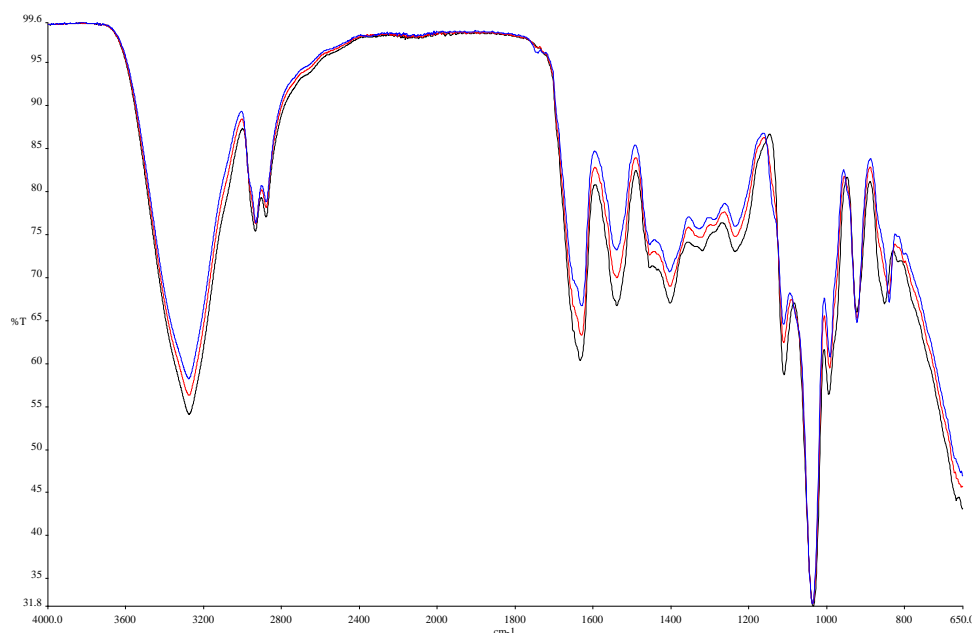


Figure 2. Fourier Transform Infrared (FTIR) spectra of films: WPI (black line), C-WPI (red line), A-WPI (blue line).

Thermogravimetric Analysis (TGA)

Thermogravimetric curves of the WPI, C-WPI and A-WPI films tested at a rate of $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ were represented in Figure 3. All film types showed similar mass loss results, with two main

phases. The 1st stage was observed up to 200°C and probably occurred due to loss of adsorbed and/or bound type water. The 2nd stage, which was related with degradation of protein, was investigated to observe behavior of the edible

films with and without the presence of essential oils. Thermograms showed that the degradation temperature for all film types was between 150 and 200°C (Figure 3). According to results it was understood that essential oil addition slightly enhances the thermal stability of the films. According to the curve, while C-WPI had the

highest decomposition onset temperature, A-WPI was found to be the second most thermally stable film. These thermogram results means that WPI polymer chain interaction positively affected from oil addition (Erdem and Kaya, 2021; Tavares and Noreña, 2019).

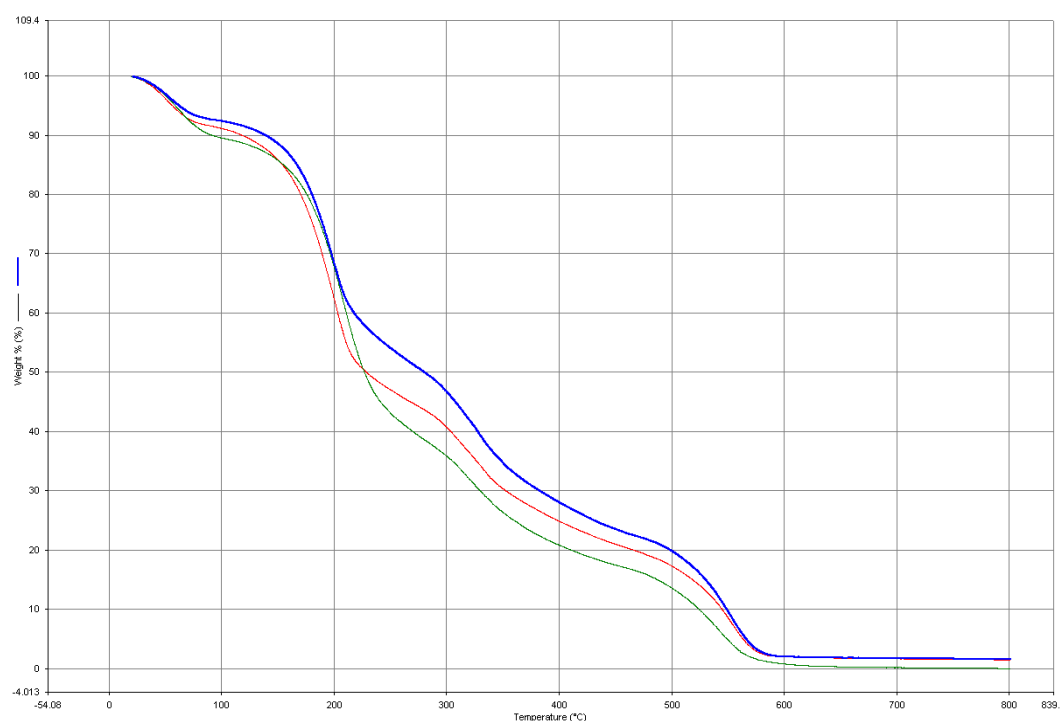


Figure 3. Thermogravimetric thermograms for WPI (red line), C-WPI (blue line) and A-WPI (green line) films.

Microbiological Analysis

The number of colonies of A-WPI, C-WPI, and WPI coated and control (uncoated) cheese specimens were counted and represented in Figure 4. The some of the treated and untreated samples were used to measure the initial microbial loads and the rest of the films were stored at refrigerator temperature (4°C) for five weeks to determine the effect of possible antimicrobial activity of the essential oils on total microorganisms. It is possible to state that using clove oil was very effective on eliminating microbial growth of the cheese samples. With the comparison of uncoated cheese microbial growth counts, C-WPI and A-WPI coating caused 98% and 37% reduction in growth of microorganisms. By the way, it is possible to say that each of the

essential oils of apricot and clove oil can be used as an antimicrobial agent because it was determined that films containing clove and apricot essential oils has a significant effect to prevent growth of microorganisms ($p < 0.05$). It was understood that the best in preventing microbial growth in cheese was clove oil. There was smaller increasing in colony count of C-WPI and A-WPI coated cheese samples with respect to their initial count. However microbial growth rate of uncoated and WPI film coated cheese were closer to each other. The effectiveness of clove essential oil against microbial growth when in direct contact with the inoculated culture had already been reported by Goñi (2009) (Goñi et al., 2009). This inhibition ability of clove was due to high amount of euganol (G. Al-Hashimi et al.,

2020). Erdoğan Orhan and Kartal (2011) were stated that the plant of *P. armeniaca* was a valuable inhibitory effect on tested microorganisms which was proved with the MIC values (31.25 and 500 $\mu\text{g/mL}$). In their study, the extracted material from the plant was butanol and Gram (+) bacteria

(especially *Micrococcus luteus* (MIC 31.25 $\mu\text{g/mL}$) were more affected and inhibited from butanol extract (MIC values 31.25–250 $\mu\text{g/mL}$) (Erdoğan Orhan and Kartal, 2011).

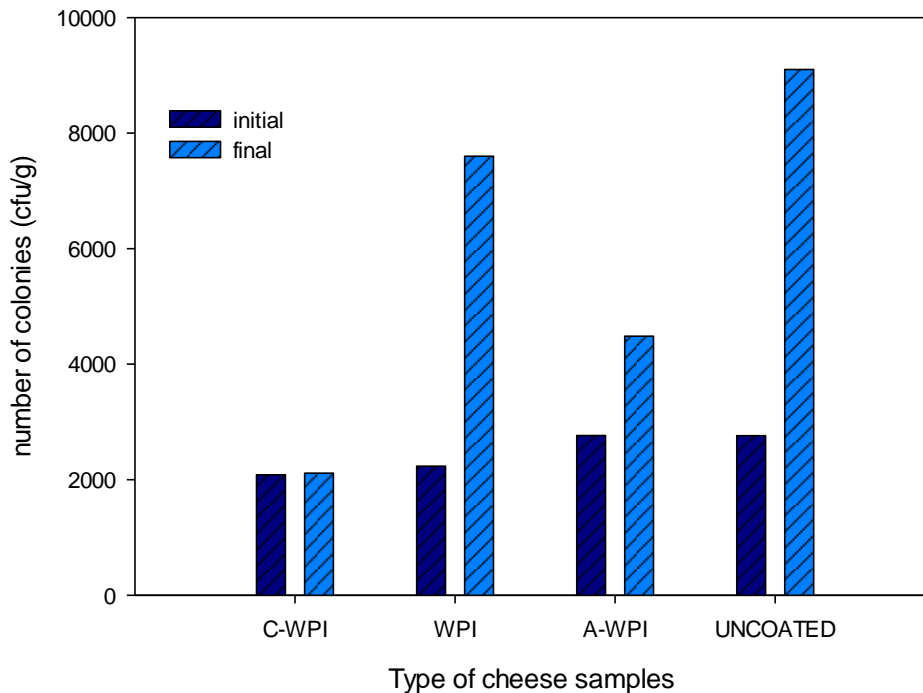


Figure 4. Comparison of colony count between initial and final measurements for all type of cheese samples.

Texture Profile Analysis

Texture Profile Analysis (TPA) test consists of compressing bite size pieces of food two times in a motion that simulates the action of jaw, and extracting from the resulting force time curve a number of textural parameters. The primary TPA parameters are hardness, cohesiveness, springiness, adhesiveness and gumminess of were tabulated in Tables 2-7. For all cheese samples studied, hardness values obtained from texture profile analysis were increased (Table 2). It has been known that hardness value of a cheese is increased with decreasing moisture contents (Demirhan and Cihangir, 2021). Moisture in the cheeses acts as a plasticizer and is another important factor determining the texture. Due to

the hydrophilic nature of whey protein based edible films, they lost moisture and became harder than initial they are less effective moisture barriers. The adhesiveness or 'adhesive force' is defined as the work necessary to overcome the attractive forces between the surface of the food and the surface of other materials. It is measured as the negative area of work between the two compressions. The adhesiveness of the coated and uncoated Kaşar cheese samples were given in Table 3. As it can be seen, C-WPI and A-WPI film coated cheese samples show similar change. This result dedicates that addition of essential oils make film different from WPI film. Springiness can be measured using several ways, but most typically, by the distance of the detected height of

the product on the second compression as divided by the original compression distance. There was an increasing trend in springiness for coated cheese samples (Table 4) containing especially essential oil of clove oil at the beginning of storage period, however after 14 days springiness declined. Uncoated sample did not show an important change during storage period. This result was in agreement with the texture profile analysis data as all the cheeses exhibited similar springiness values WPI and A-WPI coated cheese samples. Cohesiveness was evaluated by

placing a sample between the molar teeth and estimating the amount of deformation before rupture. Cohesiveness, chewiness and gumminess values of all cheese samples at all studying time period were closer to each other (Table 5-7). Changes in cohesiveness, anything that changes the ability of the proteins to interact with water or other proteins can also influence cheese adhesiveness. According to the results obtained, it was understood that the texture parameters were affected by time, not the film types.

Table 2. Change in hardness (N) values for uncoated and WPI, C-WPI, and A-WPI coated cheese samples during different storage days.

Film Type	1st day	2nd day	3rd day	7th day	14th day	21th day	28th day
Uncoated	35.80±6.69 ^a	70.36±6.52 ^a	59.62±2.72 ^a	92.65±4.47 ^a	197.86±20.60 ^a	177.47±2.94 ^a	204.42±7.34 ^a
WPI	49.96±17.55 ^b	82.71±4.87 ^b	89.01±3.98 ^b	153.27±9.71 ^b	225.28±10.12 ^b	203.30±7.03 ^{ab}	182.72±8.74 ^{ab}
A-WPI	30.25±7.82 ^a	78.93±2.55 ^{ab}	95.44±3.96 ^b	134.97±6.78 ^c	221.44±21.13 ^b	214.91±19.27 ^b	169.35±9.07 ^b
C-WPI	57.26±12.65 ^c	77.98±4.42 ^{ab}	62.09±7.96 ^a	127.66±2.04 ^c	223.66±23.19 ^b	228.25±21.85 ^b	247.08±8.45 ^c

Different superscript letters in the same column indicates statistical differences (Duncan's test, $\alpha \leq 0.05$), (WPI: whey protein isolate based edible films, C-WPI: clove essential oil incorporated whey protein isolate based edible films, A-WPI: apricot essential oil incorporated whey protein isolate based edible films.)

Table 3. Change in adhesiveness values for uncoated and WPI, C-WPI, and A-WPI coated cheese samples during different storage days.

Film Type	1st day	2nd day	3rd day	7th day	14th day	21th day	28th day
Uncoated	-3.48±0.14 ^a	-0.58±0.09 ^a	-0.56±0.09 ^a	-1.86±0.41 ^a	-3.38±0.16 ^a	-1.04±0.25 ^a	-3.39±0.63 ^a
WPI	-0.98±0.06 ^b	-0.24±0.07 ^b	-0.25±0.11 ^b	-2.27±0.29 ^b	-3.28±0.45 ^a	-3.69±0.11 ^b	-1.04±0.17 ^b
A-WPI	-2.12±0.09 ^c	-0.12±0.01 ^c	-0.17±0.01 ^c	-1.04±0.28 ^c	-1.55±0.07 ^b	-2.28±0.37 ^c	-1.67±0.24 ^c
C-WPI	-2.43±0.18 ^c	-0.31±0.07 ^d	-0.34±0.05 ^d	-0.99±0.15 ^c	-3.74±0.27 ^c	-3.27±0.83 ^d	-4.13±0.54 ^d

Different superscript letters in the same column indicates statistical differences (Duncan's test, $\alpha \leq 0.05$), SE: Standard error, (WPI: whey protein isolate based edible films, C-WPI: clove essential oil incorporated whey protein isolate based edible films, A-WPI: apricot essential oil incorporated whey protein isolate based edible films.)

Table 4. Change in springiness values for uncoated and WPI, C-WPI, and A-WPI coated cheese samples during different storage days.

Film Type	1st day	2nd day	3rd day	7th day	14th day	21th day	28th day
Uncoated	0.90±0.02 ^a	0.92±0.01 ^a	0.88±0.02 ^a	0.84±0.02 ^a	0.91±0.09 ^a	0.84±0.03 ^a	0.89±0.02 ^a
WPI	0.90±0.01 ^a	0.92±0.01 ^a	0.88±0.02 ^a	0.90±0.01 ^b	1.09±0.06 ^b	0.89±0.02 ^a	0.89±0.03 ^a
A-WPI	0.92±0.02 ^a	0.91±0.02 ^a	0.91±0.01 ^a	0.89±0.05 ^b	1.05±0.03 ^b	0.93±0.02 ^{ab}	0.87±0.02 ^a
C-WPI	1.26±0.04 ^b	0.93±0.02 ^a	0.92±0.01 ^a	0.90±0.02 ^b	1.14±0.01 ^b	1.04±0.02 ^b	0.95±0.01 ^b

Different superscript letters in the same column indicates statistical differences (Duncan's test, $\alpha \leq 0.05$), SE: Standard error, (WPI: whey protein isolate based edible films, C-WPI: clove essential oil incorporated whey protein isolate based edible films, A-WPI: apricot essential oil incorporated whey protein isolate based edible films.)

Table 5. Change in cohesiveness values for uncoated and WPI, C-WPI, and A-WPI coated cheese samples during different storage days.

Film Type	1st day	2nd day	3rd day	7th day	14th day	21th day	28th day
Uncoated	0.85±0.02 ^a	0.84±0.01 ^a	0.83±0.01 ^a	0.82±0.01 ^a	0.89±0.02 ^a	0.88±0.01 ^a	0.89±0.02 ^a
WPI	0.85±0.01 ^a	0.82±0.03 ^a	0.85±0.01 ^a	0.87±0.01 ^a	0.94±0.02 ^a	0.90±0.01 ^a	0.91±0.01 ^a
A-WPI	0.85±0.01 ^a	0.82±0.01 ^a	0.84±0.01 ^a	0.86±0.01 ^a	0.92±0.03 ^a	0.90±0.02 ^a	0.88±0.01 ^a
C-WPI	0.86±0.02 ^a	0.83±0.25 ^a	0.84±0.01 ^a	0.86±0.01 ^a	0.91±0.04 ^a	0.90±0.02 ^a	0.94±0.29 ^a

Different superscript letters in the same column indicates statistical differences (Duncan's test, $\alpha \leq 0.05$), SE: Standard error, (WPI: whey protein isolate based edible films, C-WPI: clove essential oil incorporated whey protein isolate based edible films, A-WPI: apricot essential oil incorporated whey protein isolate based edible films.)

Table 6. Change in chewiness (N) values for uncoated and WPI, C-WPI, and A-WPI coated cheese samples during different storage days.

Film Type	1st day	2nd day	3rd day	7th day	14th day	21th day	28th day
Uncoated	31.51±5.75 ^a	53.93±5.01 ^a	45.70±2.16 ^a	61.69±4.42 ^a	174.64±21.17 ^a	135.06±5.24 ^a	161.61±9.46 ^a
WPI	38.78±13.30 ^b	62.63±4.03 ^b	67.13±4.47 ^{bc}	120.80±10.18 ^b	265.21±44.01 ^b	156.16±8.04 ^{ab}	147.79±11.29 ^b
A-WPI	24.75±7.05 ^c	58.91±2.48 ^{ab}	71.89±3.06 ^b	122.62±10.16 ^b	431.33±98.11 ^c	166.50±8.42 ^b	129.17±6.27 ^c
C-WPI	68.59±26.11 ^d	60.26±2.31 ^{ab}	60.19±6.55 ^c	102.81±3.41 ^c	256.28±37.91 ^b	283.80±91.02 ^c	221.32±10.83 ^d

Different superscript letters in the same column indicates statistical differences (Duncan's test, $\alpha \leq 0.05$), SE: Standard error, (WPI: whey protein isolate based edible films, C-WPI: clove essential oil incorporated whey protein isolate based edible films, A-WPI: apricot essential oil incorporated whey protein isolate based edible films.)

Table 7. Change in gumminess (N) values for uncoated and WPI, C-WPI, and A-WPI coated cheese samples during different storage days.

Film Type	1st day	2nd day	3rd day	7th day	14th day	21th day	28th day
Uncoated	30.09±6.03 ^a	58.79±5.47 ^a	49.96±2.32 ^a	75.38±4.85 ^a	179.40±22.55 ^a	152.24±5.45 ^a	181.52±9.07 ^a
WPI	42.43±14.50 ^b	68.19±4.29 ^b	75.95±4.08 ^b	133.97±9.75 ^b	221.82±11.86 ^b	176.97±5.66 ^b	165.96±9.49 ^b
A-WPI	26.23±7.07 ^a	64.86±2.69 ^{ab}	79.33±3.36 ^b	102.94±7.79 ^c	211.37±23.04 ^b	207.90±21.76 ^c	148.75±7.89 ^c
C-WPI	49.61±10.56 ^c	64.86±3.54 ^{ab}	66.23±7.76 ^c	114.50±4.16 ^{bc}	234.57±11.48 ^b	177.27±19.19 ^b	232.45±8.69 ^d

Different superscript letters in the same column indicates statistical differences (Duncan's test, $\alpha \leq 0.05$), SE: Standard error, (WPI: whey protein isolate based edible films, C-WPI: clove essential oil incorporated whey protein isolate based edible films, A-WPI: apricot essential oil incorporated whey protein isolate based edible films.)

Weight Change

Figure 5 shows the weight loss of coated and uncoated cheese samples measured during the storage periods of samples stored at 4°C. Weight of samples was decreased sharply within a week no matter they were uncoated or coated with WPI, C-WPI and A-WPI films. Then, losing moisture of the samples was continuous slowly up to 28 days storage without any important difference by applying coating types to the cheese samples. Similar results were found by Perez-Gago et al. (2005) who coated fresh apple pieces with the emulsion coatings from whey protein isolate, whey protein concentrate or hydroxypropyl methylcellulose as the hydrophilic phase, and beeswax or carnauba wax as the lipid phase, and weight loss were measured during

storage. Their results showed that coating application did not reduce weight loss in fresh-cut apples (Perez-Gago et al., 2005). In another study, protein-sunflower oil based coating application showed that effective protection on textural structure of cake by high moisture preservation ability. The authors reported that after three day storage while uncoated cake sample had the highest firmness value (115.02 N), the cake coated with SPI-oil had the lowest (41.15 N) and this value was the closest one to the control cake (21.57 N) (Erdem and Kaya, 2021). The results obtained in this previous study proved that the coating application, especially with the increase of sunflower oil in the coating formulation, helped prevent moisture loss in the cake samples.

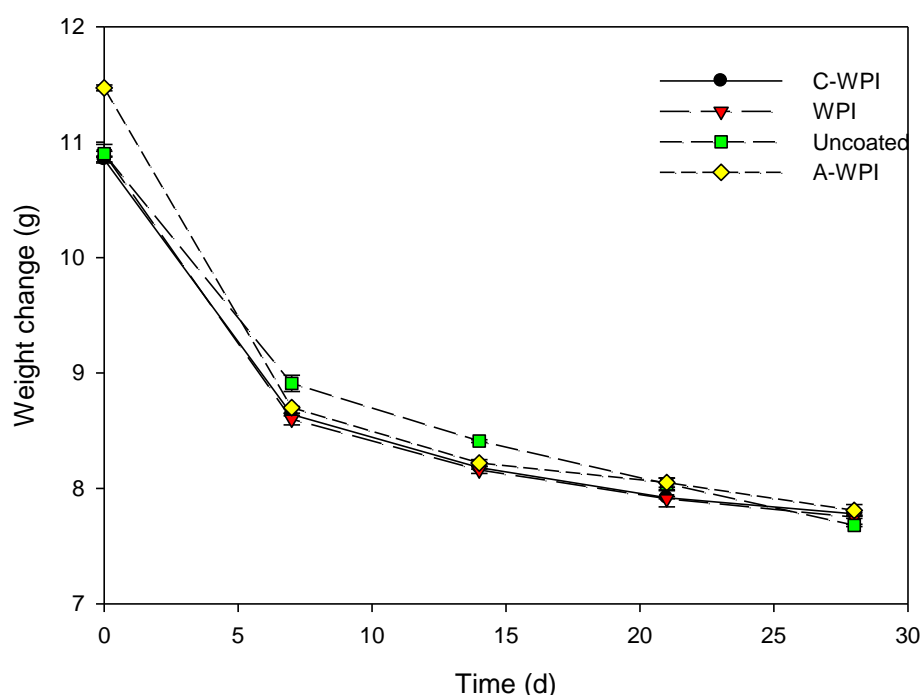


Figure 5. Weight change of WPI, C-WPI, A-WPI and uncoated cheese samples during storage.

CONCLUSION

In the present study, the WPI film solutions were enriched with different essential oils was used to produce bioactive edible films and its application on Kaşar cheese was investigated. Film textural properties revealed that more elastic films were obtained with the oils addition and FTIR spectrum and optical results showed that hydroscopicity of the WPI film was increased. With the incorporation of clove oil thermal stability was improved but a negligible change occurred in the TPA of the Kaşar specimens. In this study, good antimicrobial activities were detected for both essential oils in the WPI film matrix system, but clove oil had by far higher microbial count reduction results than apricot. Weight change and/or moisture loss showed the same trend in all coated and uncoated cheese samples. In conclusion, both of the C-WPI and A-WPI film samples produced in this study can be used as active packaging systems to delay the antimicrobial reactions in the food products. However, future studies were needed to ensure

that the packaged cheese also had better textural properties.

DECLARATION OF INTEREST

The authors declared that there is no conflict of interest.

AUTHORSHIP CONTRIBUTIONS

Yeşil Işık ERDEM: Formal analysis, Investigation, Validation. Sevim KAYA (Corresponding author): Project administration, Conceptualization, Writing-Reviewing and Editing. Burcu GÖKKAYA ERDEM: Writing-Original draft preparation, Writing-Reviewing and Editing, Statistical Analysis.

REFERENCES

Bączek, K. B., Kosakowska, O., Przybył, J. L., Pióro-Jabrucka, E., Costa, R., Mondello, L., Gniewosz, M., Synowiec, A., Węglarz, Z. (2017). Antibacterial and antioxidant activity of essential oils and extracts from costmary (*Tanacetum balsamita* L.) and tansy (*Tanacetum vulgare* L.).

- Industrial Crops and products*, 102, 154-163. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.009>.
- Demirhan, Ö., Cihangir, E. (2021). Van Otlu Peynirinin Geleneksel Üretim Hikayesi (The Story of Van-Herby Cheese Traditional Production). *Journal of Tourism & Gastronomy Studies*, 9(3), 2286-2319. <https://doi.org/10.21325/jotags.2021.893>.
- Erdem, B. G., Dıblan, S., Kaya, S. (2019). Development and structural assessment of whey protein isolate/sunflower seed oil biocomposite film. *Food and Bioproducts Processing*, 118, 270-280. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.09.015>.
- Erdem, B. G. (2023). Use of Microwave Drying for Production of Protein-Oil Based Edible Films. *Akademik Gıda*, 21(3), 274-283. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.1382932>.
- Erdem, B. G., Kaya, S. (2021). Production and application of freeze dried biocomposite coating powders from sunflower oil and soy protein or whey protein isolates. *Food chemistry*, 339, 127976. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127976>.
- Erdem, B. G., Kaya, S. (2022). Characterization and application of novel composite films based on soy protein isolate and sunflower oil produced using freeze drying method. *Food chemistry*, 366, 130709. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130709>.
- Erdogan-Orhan, I., Kartal, M. (2011). Insights into research on phytochemistry and biological activities of *Prunus armeniaca* L.(apricot). *Food research international*, 44(5), 1238-1243. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.014>.
- Erdoğan, A., Gurses, M., Turkoğlu, H., Sert, S. (2001). The Determination of Mould Flora of Some Turkish Cheese Types (Kasar, Civil, Lor, Tulum). Atatürk Üni. Gıda Mühendisliği Fakültesi Erzurum. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4(7), 884-885.
- Eroglu, A., Toker, O. S., Dogan, M. (2016). Changes in the texture, physicochemical properties and volatile compound profiles of fresh K ashar cheese (< 90 days) during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 69(2), 243-253. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12250>
- Feyzioglu, G. C., Tornuk, F. (2016). Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant delivery applications. *LWT*, 70, 104-110. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.037>.
- Firouz, M. S., Mohi-Alden, K., Omid, M. (2021). A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: Research and development. *Food research international*, 141, 110113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110113>.
- Galus, S. (2018). Functional properties of soy protein isolate edible films as affected by rapeseed oil concentration. *Food Hydrocolloids*, 85, 233-241. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.026>.
- G. Al-Hashimi, A., Ammar, A. B., Cacciola, F., Lakhssassi, N. (2020). Development of a millet starch edible film containing clove essential oil. *Foods*, 9(2), 184. <https://doi.org/10.3390/foods9020184>.
- Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food chemistry*, 116(4), 982-989. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.058>.
- Haro-González, J. N., Castillo-Herrera, G. A., Martínez-Velázquez, M., Espinosa-Andrews, H. (2021). Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. *Molecules*, 26(21), 6387. <https://doi.org/10.3390/molecules26216387>.
- Kaya, S., Kaya, A. (2000). Microwave drying effects on properties of whey protein isolate edible films. *Journal of Food Engineering*, 43(2), 91-96. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(99\)00136-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00136-3).
- Lee, J. Y., Garcia, C. V., Shin, G. H., Kim, J. T. (2019). Antibacterial and antioxidant properties of hydroxypropyl methylcellulose-based active composite films incorporating oregano essential

- oil nanoemulsions. *LWT*, 106, 164-171. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.061>.
- Mahcene, Z., Khelil, A., Hasni, S., Akman, P. K., Bozkurt, F., Birech, K., Goudjil, M. B., Tornuk, F. (2020). Development and characterization of sodium alginate based active edible films incorporated with essential oils of some medicinal plants. *International Journal of Biological Macromolecules*, 145, 124-132. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.093>.
- Mahcene, Z., Khelil, A., Hasni, S., Bozkurt, F., Goudjil, M. B., Tornuk, F. (2021). Home-made cheese preservation using sodium alginate based on edible film incorporating essential oils. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 2406-2419. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04753-3>.
- McHugh, T. H., Krochta, J. M. (1994). Sorbitol- vs glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(4), 841-845. <https://doi.org/10.1021/jf00040a001>.
- Nazim, M., Mitra, K., Rahman, M., Abdullah, A., Parveen, S. (2013). Evaluation of the nutritional quality and microbiological analysis of newly developed soya cheese. *International food research journal*, 20(6).
- Perez-Gago, M., Serra, M., Alonso, M., Mateos, M., Del Río, M. (2005). Effect of whey protein- and hydroxypropyl methylcellulose-based edible composite coatings on color change of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 36(1), 77-85. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.10.009>.
- Radünz, M., da Trindade, M. L. M., Camargo, T. M., Radünz, A. L., Borges, C. D., Gandra, E. A., Helbig, E. (2019). Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. *Food chemistry*, 276, 180-186. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.173>.
- Rai, S., Poonia, A. (2019). Formulation and characterization of edible films from pea starch and casein. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(2), 317-321. Reyes-Avalos, M., Femenia, A., Minjares-Fuentes, R., Contreras-Esquivel, J., Aguilar-González, C., Esparza-Rivera, J., Meza-Velázquez, J. (2016). Improvement of the quality and the shelf life of figs (*Ficus carica*) using an alginate-chitosan edible film. *Food and bioprocess technology*, 9, 2114-2124. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1796-9>.
- Sefa, I., Bozkurt, F., Güner, S., Sümeýra, I., Topalcengiz, Z. (2020). Microbiological, physicochemical, textural and volatile characteristics of traditional kashar cheese produced in Muş. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 24(4), 409-419. <https://doi.org/10.29050/harranziraat.703063>.
- Sukyai, P., Anongjanya, P., Bunyahwuthakul, N., Kongsin, K., Harnkarnsujarit, N., Sukatta, U., Sothornvit, R., Chollakup, R. (2018). Effect of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse on whey protein isolate-based films. *Food research international*, 107, 528-535. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.052>.
- Tavares, L., Noreña, C. P. Z. (2019). Encapsulation of garlic extract using complex coacervation with whey protein isolate and chitosan as wall materials followed by spray drying. *Food Hydrocolloids*, 89, 360-369. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.052>.
- Wang, D., Dong, Y., Chen, X., Liu, Y., Wang, J., Wang, X., Wang, C., Song, H. (2020). Incorporation of apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil into chitosan films displaying antimicrobial effect against *Listeria monocytogenes* and improving quality indices of spiced beef. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 838-844. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.220>.
- Yemiş, G. P., Emiroğlu, Z. K., Candoğan, K. (2017). Mercanköşk (*Oreganum Heracleoticum* L.) Ve Bahçe Kekığı (*Thymus Vulgaris* L.) Uçucu Yağı İçeren Soya Bazlı Yenilebilir Filmlerin Patojen Bakterilere Karşı Antimikrobiyel Etkileri. *GIDA*, 42(3), 268-276. doi: 10.15237/gida.GD16106.



**ACID-RESISTANT *LIMOSILACTOBACILLUS FERMENTUM* ISOLATES
RECOVERED FROM FERMENTED TURKISH SUCUK: SCREENING OF
PROBIOTIC CHARACTERIZATION AND PHYLOGENY**

Adalet Dışhan^{1*}, Zafer Gönülalan²

¹Yozgat Bozok University, Faculty of Veterinary Medicine, Dept. of Food Hygiene and Technology, Yozgat, Türkiye

²Erciyes University, Faculty of Veterinary Medicine, Dept. of Veterinary Public Health, Kayseri, Türkiye

Received / Geliş: 13.12.2023; Accepted / Kabul: 18.03.2024; Published online / Online baskı: 28.03.2024

Dışhan, A., Gönülalan, Z. (2024). Acid-resistant *Limosilactobacillus fermentum* isolates recovered from fermented Turkish Sucuk: Screening of probiotic characterization and phylogeny. *GIDA* (2024) 49 (2) 312-325 doi: 10.15237/gida.GD23139

Dışhan, A., Gönülalan, Z. (2024). Fermente Türk Sucuklarından elde edilen aside dirençli *Limosilactobacillus fermentum*: Probiyotik karakterizasyonu ve filogeninin taranması. *GIDA* (2024) 49 (2) 312-325 doi: 10.15237/gida.GD23139

ABSTRACT

The present study was conducted to identify acid-resistant lactic acid bacteria from fermented Turkish sucuk, detect phylogenetic affinities, and probiotic/biotechnological profiles. Samples were collected from popular fermented meat retail stores in Kayseri (n:20). The selected lactobacilli were exposed to different pH. Isolates resistant to pH2 were identified by sequencing following the 16s rRNA gene amplification and recorded in GenBank. The pH2 is distinctive for lactobacilli, as most (61.9%) of lactobacilli were inhibited ($P < 0.05$). Isolates surviving at pH2 were determined to be *Limosilactobacillus fermentum*. The survival rates in bile salt, simulated gastrointestinal juices (between 97.13-106.60%), and autoaggregation, hydrophobicity, and coaggregation of isolates were statistically significant ($P < 0.05$). *L. fermentum* S19 was the only isolate capable of producing exopolysaccharide; S19 had a high autoaggregation and hydrophobicity over 70%. Traditional Turkish fermented sucuk is a product with enormous potential, containing the newly isolated wild-type *L. fermentum*, which stands out for biotechnological/probiotic properties.

Keywords: Acid-resistant, *Limosilactobacillus fermentum*, sucuk, probiotic

**FERMENTE TÜRK SUCUKLARINDAN ELDE EDİLEN ASİDE DİRENÇLİ
LİMOSİLACTOBACİLLUS FERMENTUM: PROBİYOTİK
KARAKTERİZASYONU VE FİLOGENİNİN TARANMASI**

ÖZ

Bu çalışmada, geleneksel fermente Türk sucuğundaki aside dirençli laktik asit bakterilerini tanımlamak, filogenetik afinitelerini ve probiyotik/biyoteknolojik profillerini tespit etmek amaçlanmaktadır. Örnekler (n:20) Kayseri'deki popüler fermente et perakende satış yerlerinden toplanmıştır. Seçilen laktobasiller farklı pH ortamlarına maruz bırakılmıştır. pH2'ye dirençli izolatlar, 16s rRNA gen amplifikasyonunu takiben dizileme yapılarak tanımlanmış ve GenBank'a kaydedilmiştir. Laktobasillerin çoğu (%61.9) inhibe edildiği için pH2, laktobasiller için ayırt edici bir

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: adalet.dishan@bozok.edu.tr

☎: (+90) 531 473 6338

Adalet Dışhan; ORCID no: 0000-0001-8097-1648

Zafer Gönülalan; ORCID no: 0000-0002-3935-6296

ortamdır ($P < 0.05$). pH2'de hayatta kalan izolatların *Limosilactobacillus fermentum* olduğu belirlenmiştir. *L. fermentum* izolatları arasında safra tuzu, simüle edilmiş gastrointestinal ortamlarında hayatta kalma oranları (%97.13-106.60) ve otoagregasyon, hidrofobiklik ve koagregasyon düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). *L. fermentum* S19, ekzopolisakkarit üretme yeteneğine sahip tek izolat olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, S19 yüksek otoagregasyona sahip olup %70'in üzerinde hidrofobisite göstermiştir. Geleneksel Türk fermente sucuğu, biyoteknolojik/probiyotik özellikleriyle öne çıkan, yeni izole edilen yabancı tip *L. fermentum*'u içeren, önemli potansiyele sahip bir üründür.

Anahtar kelimeler: Asit direnç, *Limosilactobacillus fermentum*, sucuk, probiyotik

INTRODUCTION

Recently, there has been an increasing interest in consuming traditional fermented products produced using various raw materials, special microbiota, and production methods (Negrete-Romero et al., 2021). Kayseri province, located in Central Anatolia, is the production center of processed, fermented meat products such as sucuk and pastırma (Cevher, 2023). Sucuk is a typical dry-fermented meat product produced in Türkiye and consists of a mixture of beef and/or buffalo meat, beef fat, sheep tail fat, salt, sugar, nitrite/nitrate, and various spices such as garlic, red pepper, black pepper, cumin, and all spice (Kaban, 2010). Lactic acid bacteria (LAB) are essential in the ripening process of fermented meat products (Dincer and Kivanc, 2018). LAB, which plays a vital role in the fermentation of meat, reduces pH and produces bacteriocins that prevent the growth of pathogenic and spoilage microorganisms, thus improving the safety, stability, and shelf life of fermented meat products (Dincer and Kivanc, 2012). Some strains of the genus *Lactobacillus* are good candidates for probiotic cultures because they are natural agents of the gut microbiota and positively affect health *in vivo* (Dempsey and Corr, 2022). Using probiotics in fermented foods is a strategy that develops the functional food category from the traditional way of producing foods (Bis-Souza et al., 2019). LAB is also one of the most studied microorganism groups in developing functional foods due to its potential to prevent the formation of toxic compounds and its Generally Recognized as Safe status (GRAS) (Lorenzo et al., 2017; FDA, 2023). Although these microorganisms are associated with various health benefits, isolating new probiotic strains, characterizing them, and conducting safety assessments is necessary (Zommiti et al., 2020). Probiotic cells must resist antimicrobial factors in the stomach (low pH,

gastric juice, and pepsin) and intestines (pancreatin and bile salts) (De Melo Pereira et al., 2018). To qualify as a probiotic, the potential candidate must possess certain functional and safety properties, including acid and bile salt tolerance, adhesion capacity, hemolytic activity, and antibiotic sensitivity (Xu et al., 2019). According to FAO/WHO (2006) guidelines, acid resistance is one of the commonly used *in vitro* tests for probiotic screening, along with tolerance to bile components. The aciduric or acidophilic properties of lactobacilli allow them to tolerate acid stress in the environment, food, and the gastrointestinal tract, including various physiological activities (Montoro et al., 2018). Highly acid-tolerant probiotic lactobacilli possess proton pumps for intracellular pH homeostasis, repair proteins for DNA damage, changes in the cellular membrane, and altered metabolism (De Angelis and Gobbetti, 2004). The present study was conducted to identify acid-resistant lactic acid bacteria isolated from fermented Turkish sucuk, determine phylogenetic affinities, and examine probiotic and biotechnological profiles.

METHOD

Sampling

Sucuk samples were obtained from 10 popular retail stores in Kayseri (n:20). The retail companies are grouped from RT1 to RT10. Samples from each fermented sucuk selling company were collected in June and November 2022 by visiting twice.

pH Tolerance Profile

Resistance of selected lactic acid bacteria to pH2, pH3, and pH7 environments was determined by Yadav et al. (2016) with minor modifications. Overnight cultures were inoculated with serial dilutions into MRS broth adjusted to pH2, pH3, and pH7 with 1N HCl. The inoculums were

spread onto MRS agar for 0 and 3 hours and then incubated at 37°C for 48 hours. Plate counting evaluated cell viability, and the results were expressed as log cfu/mL.

Identification of Acid Resistant Lactobacilli Isolates by 16S rRNA Sequencing and The Phylogenetic Relatedness

For acid-resistant lactobacilli isolates, the 16S rRNA gene was amplified by PCR using universal target primers (27F:5'-AGAGTTTGGATCCTGGCTCAG-3', 1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') (Suzuki and Giovannoni, 1996). The amplicons were sent to Macrogen (South Korea) and subjected to Sanger sequencing analysis. Paired nucleotide sequences were assembled with Geneious Prime 2020.1 (<https://www.geneious.com>). Paired nucleotide sequences were assembled with Geneious Prime 2020.1.1 (<https://www.geneious.com>). (BLAST: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). The multiple sequences were performed using the default parameters of the ClustalW multiple alignment tool in MEGA 11. The phylogenetic analysis was performed using the neighbor-joining based on Kimura two-parameter modeling. Bootstrap values were estimated for 1000 replicates (Tavaré, 1986; Han et al, 2017).

Bile Salt Tolerance

For bile salt tolerance, overnight active cultures were inoculated as a serial dilution into MRS broth medium with 0.3% and 0.6% bile of bovine origin and incubated at 37°C. Inoculums at 0 and 3 hours were spread on MRS agar and incubated at 37°C for 48 hours. Plate counting evaluated cell viability, and the results were expressed as log cfu/mL. MRS broth without bile was used as a control. The survival rate indicating resistance to pH and bile salt was calculated, as stated by Yadav et al. (2016).

Resistance to Simulated Gastric Juice (SGJ) and Simulated Intestinal Juice (SIJ)

The in vitro model Zheng et al. (2021) mentioned was used to simulate gastric juice (SGJ) with minor modifications. Artificial gastric juice was prepared by adding 3 g/L pepsin (Sigma Aldrich, USA) into MRS broth, adjusted to pH 2.5, and

sterilized with a 0.22 µm filter membrane. Plate counting evaluated cell viability, and the results were expressed as log cfu/mL. Simulated intestinal juice (SIJ) was sterilized by passing it through a 0.22 µm filter into MRS broth containing 1 mg/L pancreatin (Sigma Aldrich, USA), NaCl solution (0.5%) adjusted to pH 8.0 with 1 N NaOH (de Oliveira Coelho et al., 2019). Overnight cells were inoculated into the prepared simulated gastric juice and simulated intestinal juice by adjusting serial dilution and incubated at 37°C. The survival rate indicating resistance to SGJ and SIJ was calculated as stated by Yadav et al. (2016).

Salt Tolerance

For salt tolerance, overnight culture was inoculated into a sterile Brain Heart Infusion (BHI) liquid medium containing 4%, 8% and 12% NaCl for 24 hours (Bozdemir, 2021). Turbidity formation was evaluated by measuring at OD600 nm (OD:0.10-0.30 slightly turbid, positive poor development; OD:0.30-0.50 medium turbidity, good development; OD>0.60 very turbid, excellent development; OD<0.10, negative).

Autoaggregation, Cell Surface Hydrophobicity and Coaggregation

Autoaggregation testing was performed following the method described by Yasmin et al. (2020) with minor modifications. Overnight cells were centrifugated (4000xg, 10 min at 4°C) and washed twice with phosphate-buffered saline (PBS). Then, 2 ml of each bacterial suspension, adjusted to 0.5 ± 0.02 at 600 nm (A0) with PBS, was vortexed and incubated. Absorbance (A2) was measured at 600 nm at the third and 24th hour of incubation. It was calculated from the equation below.

$$\text{Autoaggregation (\%)} = [(1 - A2/(A0)) \times 100]$$

The overnight culture was centrifugated (4000xg, 10 min at 4°C) and washed twice with PBS for cell surface hydrophobicity testing. It was resuspended in PBS at 0 h (A0), adjusting the absorbance to 0.5 ± 0.02 at 600 nm. Then, 1 mL of hydrocarbon (xylene) was mixed with 3 mL cell suspension and pre-incubated at 37°C for 10 min.

The cell suspension and hydrocarbon mixture were vortexed for two minutes and kept at 37°C for 20 minutes for phase separation (water and hydrocarbon phase). After collecting the aqueous phase, the absorbance was measured at 600 nm (A1). Hydrophobicity was calculated from the following equation (Yasmin et al., 2020):

$$\text{Hydrophobicity (\%)} = [(1 - A1/(A0)) \times 100]$$

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Listeria monocytogenes* N7144 were used as pathogenic strains for the coaggregation test. Suspensions of acid-resistant isolates and pathogenic strains made with PBS were adjusted to OD₆₀₀ 0.5 ± 0.02. Equal volumes (2 mL) of strains and pathogenic strains were mixed and the absorbance value (A0) of the mixture was measured and then incubated at 37°C for 24 hours. Cell suspensions of each strain were used as controls. The coaggregation percentage was calculated by the absorbance value (A2) of the mixture at the third, and 24th hours as follows (Liu et al., 2022):

$$\text{Coaggregation (\%)} = [(1 - A2/(A0)) \times 100]$$

Agar Well Diffusion

The antibacterial activity of the isolates against the pathogens *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Listeria monocytogenes* N7144 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was determined by the agar well diffusion method. Each indicator pathogen was spread on Muller Hinton agar plates with a swab adjusted to 0.5 McFarland. Culture filtrate (80 µL; cell-free supernatant, CFS) was added to the wells (6 mm) opened in the medium. The plates were incubated at 37°C for 24 hours and the inhibition zone diameter of the isolate against each indicator pathogen was measured (Liu et al., 2022). After incubation, the results were expressed in mm by the arithmetic mean of the diameter of the inhibition halos around each well.

Security Assesment

Antibiotic Sensitivity and Hemolytic Activity

Antibiotic susceptibilities of acid-resistant isolates to selected antibiotics [vancomycin (VA, 30 µg;

Oxoid, England), trimethoprim and sulfamethoxazole (SXT, 25 µg; Bioanalyse, Türkiye), ciprofloxacin (CIP, 5 µg; Bioanalyse, Türkiye), clindamycin (DA, 2 µg; Bioanalyse, Türkiye), tetracycline (TE, 30 µg; Bioanalyse, Türkiye), streptomycin (S, 10 mcg; Bioanalyse, Türkiye), meropenem (MEM, 10 µg; Oxoid, UK), erythromycin (E, 15 µg; Oxoid, UK) was tested. The overnight culture of the tested isolate was adjusted to 0.5 McFarland turbidity with sterile physiological saline and inoculated onto MRS agar with a swab. Antibiotic disks were placed on agar plates and incubated (at 37°C for 48 hours). After incubation, the inhibition zone was measured for each antibiotic disc. The results showed that according to the limit values recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015) guidelines, isolates with an inhibition zone less than or equal to 14 mm were resistant, those with a diameter greater than 20 mm were susceptible, and isolates with a diameter of 15 and 19 mm were moderately sensitive.

Hemolytic activity was determined using blood agar containing 5% (w/v) sheep blood, and the plates were incubated at 37°C for 48 h. Hemolysis status was classified according to the lysis of red blood cells in the medium around the colonies. Green regions around the colonies on blood agar plates (α-hemolysis), transparent regions around the colonies (β-hemolysis) and no region around the colonies (γ-hemolysis) were evaluated. *S. aureus* ATCC 25923 strain was used as a positive control.

Technological Feature Tests

Proteolytic Activity

The selected isolate was assessed for proteolytic activity on skimmed milk powder agar medium. Each well was inoculated with 80 µL of bacterial culture. The plates were then incubated at 30°C for 24 hours. A transparent or opaque zone surrounding the wells indicated positive protease activity (Raveschot et al., 2020).

Exopolysaccharide (EPS) Production

The ruthenium red staining method was used to determine whether the strain produced EPS. It was stated whether the solid medium containing

skim milk powder, sucrose, yeast extract, and ruthenium red produced EPS based on the observation of pink and white colony formation on the plate surface. After 48 h of incubation at 30°C in an anaerobic jar, ruthenium red stains the bacterial cell wall, and the formation of pink colonies for non-ropy strains and white colonies for ropy strains was observed (Stingele et al., 1996; Dishan and Gönülalan, 2024).

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed by R software for significant relationships (www.r-project.org/). Statistical significance of in vitro probiotic tests among *L. fermentum* isolates was conducted by applying variance analysis and Tukey HSD multiple comparison test. The correlation among specific properties was examined. Statistical significance was accepted when $P < 0.05$.

RESULTS

From 20 different sucuk samples analyzed, 21 lactobacilli isolates were obtained by examining their morphology with gram staining. The pH tolerance of lactobacilli isolates obtained from sucuk is given in Table 1. The number of pH2-tolerant lactobacilli was 8 (38%). The difference between the survival rates of lactobacilli isolates obtained at different pH2, pH3, and pH7 values was statistically significant ($P < 0.05$). When the sequence of the 16s rRNA gene region identified the eight isolates obtained, it was revealed that all isolates belonged to the *Limosilactobacillus fermentum* species. The *L. fermentum* isolates 16s rRNA partial sequencing has been deposited in GenBank under the accession numbers between OR768472 and OR768479.

Table 1. pH tolerance profile of lactobacilli obtained from sucuk

Isolate Codes	pH2	pH3	pH7	RT Grouping
S1	0 ^f	95.1±0.50 ^{def}	98.9±1.42 ^{fgh}	RT1
S5	0 ^f	97.3±2.18 ^{cde}	103.9±0.86 ^{cde}	RT2
S6	0 ^f	101.1±1.04 ^{abc}	104.6±0.33 ^{cd}	RT2
S7	0 ^f	86.7±1.93 ^g	103.1±0.60 ^{cdef}	RT3
S12	92.43±0.75 ^a	105.5±0.21 ^a	97.43±1.20 ^{gh}	RT4
S13	0 ^f	99.9±0.94 ^{abcd}	95.9±0.23 ^h	RT5
S14	73.68±0.07 ^d	96.3±0.06 ^{cdef}	114.7±0.09 ^a	RT5
S16	75.77±1.16 ^e	103.9±0.54 ^{ab}	100.9±0.29 ^{defg}	RT6
S18	0 ^f	99.3±2.35 ^{bcd}	99.2±2.74 ^{fgh}	RT7
S19	77.86±0.38 ^b	92.0±1.02 ^{efg}	98.5±0.86 ^{gh}	RT7
S21	0 ^f	100.2±1.71 ^{abcd}	104.3±2.22 ^{cde}	RT8
S22	78.69±0.83 ^b	96.9±0.70 ^{cde}	100.3±0.44 ^{efg}	RT9
S25	0 ^f	98.9±0.69 ^{bcd}	86.6±0.54 ⁱ	RT10
S26	77.22±0.38 ^{bc}	93.9±3.52 ^{ef}	87.6±0.53 ⁱ	RT1
S34	0 ^f	0 ⁱ	96.98±0.09 ^{gh}	RT4
S37	0 ^f	72.1±0.04 ^h	109.2±1.61 ^b	RT5
S41	0 ^f	100.3±0.63 ^{abcd}	95.8±1.15 ^h	RT7
S45	0 ^f	93.5±0.65 ^{ef}	100.7±0.14 ^{defg}	RT8
S47	73.96±1.04 ^d	97.2±1.83 ^{cde}	96.89±0.22 ^{gh}	RT9
S49	57.90±0.47 ^e	103.4±1.95 ^{ab}	94.9±0.09 ^h	RT10
S51	0 ^f	90.5±0.10 ^{fg}	106.6±0.88 ^{bc}	RT10

RT: Retail Stores

Means shown with different exponential letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

Phylogenetic tree of Acid-tolerant *Limosilactobacillus fermentum*

The phylogenetic tree showed the genetic resemblance of eight *Limosilactobacillus fermentum* isolates based on their partial 16S rRNA gene sequence. Branches indicate the bootstrap

percentage after 1000 replications. The constructed tree was divided into two main clusters: Cluster I is a large cluster including five isolates, and Cluster II consists of three isolates (Figure 1).

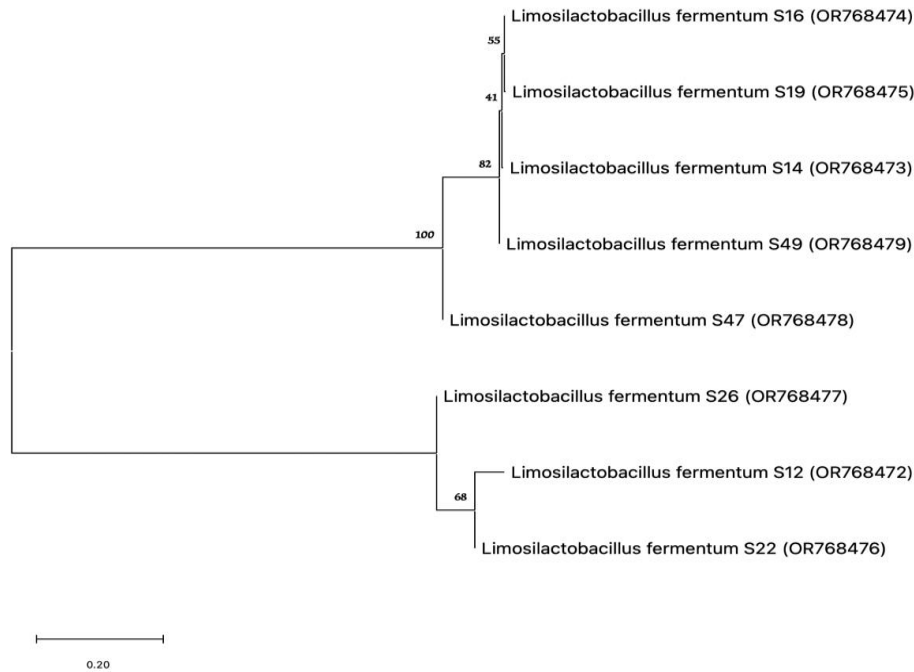


Figure 1. A phylogenetic tree was constructed by using the neighbor joining method

Probiotic Characteristics Assessment

Bile salt tolerance profile and viability in simulated gastric juice and simulated intestinal juice of *L. fermentum* isolates are given in Table 2. It was observed that the isolates examined were highly resistant to bile salts and simulated gastric and intestinal juice. While the effect of 0.6% bile salt concentration on the survival rate of *L. fermentum* isolates was not significant ($P > 0.05$), the effect of 0.3% bile salt concentration on the survival rate was significant ($P < 0.05$). In addition, no correlation was found between the survival values of the isolates at 0.3% and 0.6% bile salt concentrations ($P > 0.05$). The survival rates of the isolates in the simulated gastric and intestinal environment were also statistically different ($P < 0.05$).

The development of the isolate was evaluated in media containing 4%, 8%, and 12% NaCl for salt tolerance, as shown in Table 3. Poor growth was observed as the isolates formed slight turbidity in the environment containing 8% and 12% NaCl. Except for the S49 coded isolate, medium turbidity was formed in the medium without NaCl and with 4% NaCl added, and it showed good growth. *L. fermentum* S49 showed robust growth in two media and S14 in salt-free media. There is no statistical difference between the survival rates of *L. fermentum* isolates in environments with 8%, 12% NaCl, and no salt added ($P > 0.05$). However, the survival rate of the isolates in the environment with 4% salt was statistically significant ($P < 0.05$). Among the isolates, CFSs of S14, S19, S22, S47, and S49 showed antagonistic activity against all examined pathogens (Figure 2).

Table 2. Tolerance profiles of *L. fermentum* isolates

Isolate Codes	0.3% BS	0.6% BS	SGJ	SIJ
S12	104.94±1.49 ^{ab}	98.44±0.35	99.23±1.25 ^{ab}	98.41±0.30 ^{bc}
S14	104.00±1.17 ^{abc}	101.08±0.29	97.53±0.32 ^b	100.32±1.18 ^{ab}
S16	101.17±0.97 ^{cd}	102.18±0.18	100.92±0.64 ^a	99.13±0.91 ^{abc}
S19	101.08±0.16 ^{cd}	102.77±0.71	99.71±0.98 ^{ab}	100.01±0.58 ^{ab}
S22	97.13±0.82 ^e	100.14±3.13	97.99±0.15 ^{ab}	101.05±0.11 ^a
S26	106.60±0.19 ^a	100.03±1.18	100.56±0.37 ^{ab}	97.49±0.08 ^c
S47	100.44±0.68 ^{de}	98.92±0.66	98.45±1.10 ^{ab}	98.11±0.55 ^{bc}
S49	102.96±0.012 ^{bcd}	99.40±0.42	100.03±0.66 ^{ab}	99.67±0.07 ^{abc}

Table 3. Salt resistance profile of *L. fermentum* isolates

Isolate Codes	0%	4%	8%	12%
S12	0.44±0.02	0.47±0.08 ^{ab}	0.26±0.01	0.21±0.02
S14	0.57±0.06	0.47±0.02 ^{ab}	0.22±0.01	0.23±0.01
S16	0.45±0.00	0.43±0.01 ^{ab}	0.22±0.03	0.22±0.01
S19	0.40±0.08	0.41±0.03 ^{ab}	0.24±0.01	0.19±0.01
S22	0.49±0.01	0.41±0.03 ^b	0.26±0.01	0.22±0.02
S26	0.43±0.01	0.45±0.02 ^{ab}	0.23±0.00	0.20±0.04
S47	0.41±0.04	0.40±0.00 ^b	0.24±0.09	0.19±0.05
S49	0.56±0.20	0.60±0.09 ^a	0.26±0.01	0.21±0.06

Means shown with different exponential letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

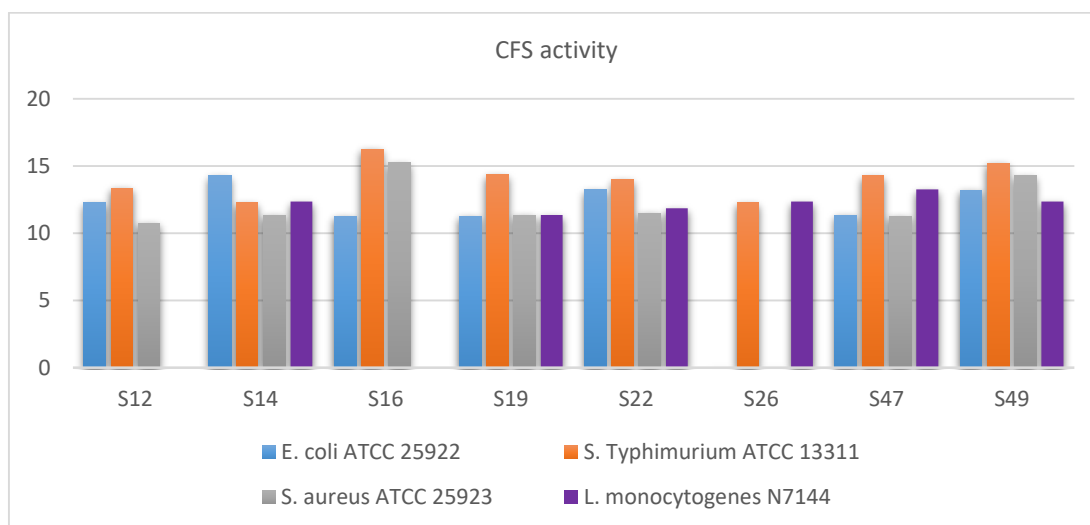


Figure 2. The average zone diameters (mm) of *L. fermentum* isolates against standard pathogens

Autoaggregation and hydrophobicity values (%) of *L. fermentum* isolates are given in Table 4. Three isolates (S12, S19, S26) showed hydrophobicity over 70%. S19 also showed high autoaggregation values. Autoaggregation values of the isolates measured at the 3rd and 24th hours contain a

statistically significant difference ($P < 0.05$). Cell surface hydrophobicity percentages were statistically significant among the isolates ($P < 0.05$). However, no correlation was found between autoaggregation and hydrophobicity values ($P < 0.05$).

Table 4. Autoaggregation and hydrophobicity level of *L. fermentum* isolates

Isolate Codes	A3	A24	Hydrophobicity
S12	3.75±0.02 ^c	28.12±0.13 ^b	75.83±0.12 ^a
S14	22.67±0.34 ^b	33.37±0.35 ^f	36.46±0.28 ^f
S16	18.05±0.55 ^b	29.38±0.07 ^g	47.04±0.25 ^d
S19	46.89±3.95 ^a	79.06±0.26 ^a	73.90±0.11 ^b
S22	19.67±0.17 ^b	37.30±0.03 ^d	17.86±0.02 ^h
S26	3.16±0.18 ^c	39.70±0.07 ^c	72.61±0.21 ^c
S47	44.75±0.43 ^a	56.61±0.15 ^b	37.49±0.04 ^e
S49	18.18±0.63 ^b	35.00±0.03 ^e	29.47±0.03 ^g

A3 and A24: Autoaggregation value in the third hour and 24th hour

Means shown with different exponential letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

Coaggregation values of *L. fermentum* isolates against the examined pathogens are given in Table 5. Coaggregation values against each pathogen

were statistically different in the 3rd and 24th-hour measurements ($P < 0.05$).

Table 5. Coaggregation level of *L. fermentum* isolates against standard pathogens

Isolate Codes	EC3	EC24	SA3	SA24	ST3	ST24	LM3	LM24
S12	1.23±0.22 ^e	39.63±0.04 ^f	27.32±0.10 ^b	58.89±0.03 ^b	24.87±0.10 ^e	54.70±0.02 ^b	30.78±0.09 ^c	64.46±0.07 ^b
S14	8.20±0.35 ^c	46.12±0.01 ^d	14.86±0.02 ^f	40.45±0.06 ^e	16.15±0.11 ^f	40.33±0.03 ^c	16.55±0.10 ^f	46.76±0.08 ^d
S16	18.17±0.08 ^a	43.53±0.02 ^e	42.29±0.07 ^a	66.82±0.11 ^a	41.30±0.07 ^a	65.96±0.29 ^a	50.07±0.10 ^a	76.89±0.37 ^a
S19	5.49±0.49 ^d	10.26±0.05 ^g	14.15±0.03 ^f	22.30±0.15 ^b	29.77±0.07 ^b	55.81±0.12 ^b	35.33±0.27 ^b	61.97±0.27 ^c
S22	10.04±0.36 ^c	47.29±0.01 ^c	16.56±0.29 ^e	42.90±0.48 ^d	15.18±0.02 ^g	36.77±1.10 ^d	17.88±0.57 ^e	42.13±0.57 ^e
S26	5.60±1.63 ^d	46.09±0.14 ^d	20.29±0.32 ^c	28.50±0.03 ^g	20.22±0.03 ^d	30.57±0.05 ^c	20.15±0.11 ^d	24.90±0.13 ^g
S47	8.13±0.01 ^c	48.79±0.45 ^b	18.99±0.05 ^d	45.38±0.11 ^c	16.52±0.02 ^e	39.87±0.18 ^c	19.67±0.05 ^d	47.51±0.07 ^d
S49	14.33±0.02 ^b	83.13±0.44 ^a	14.83±0.27 ^f	33.89±0.04 ^f	14.70±0.14 ^b	31.27±0.04 ^e	16.68±0.28 ^f	34.27±0.04 ^f

EC3 and EC24: Coaggregation against *E. coli* ATCC 25922 in the third and 24th hour

SA3 and SA24: Coaggregation against *S. aureus* ATCC 25923 in the third and 24th hour

ST3 and ST24: Coaggregation against *S. Typhimurium* ATCC 13311 in the third and 24th hour

LM3 and LM24: Coaggregation against *L. monocytogenes* N7144 in the third and 24th hour

Means shown with different exponential letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

Biotechnological Assessment

The zone diameter formed as a result of the protease activity of the isolates is given in Figure 3. It was determined that all isolates had protease activity. The EPS-forming ability of *L. fermentum* isolates was determined according to the color of the colony formed in the medium containing

ruthenium red, and isolate S19 gave white colonies, indicating EPS formation. No EPS-producing feature was found phenotypically in other isolates.

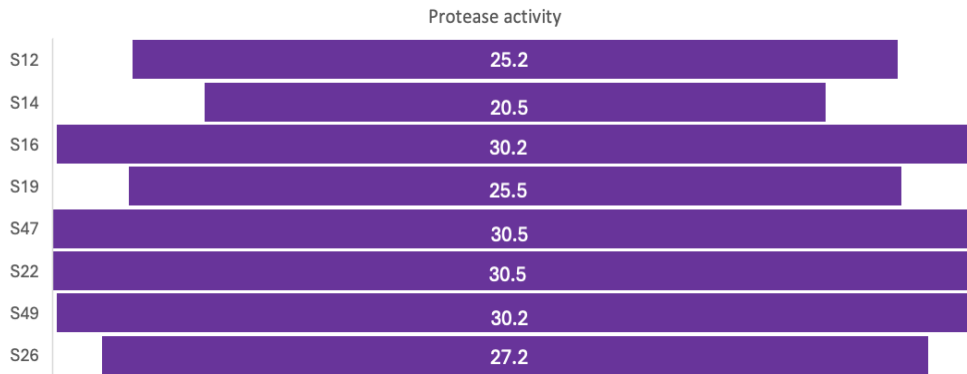


Figure 3. The average protease activity (mm) of *L. fermentum* isolate isolates

Safety Assessment

L. fermentum isolates showed different antibiotic resistance profiles. While all the isolates were

resistant to VA, they were sensitive to DA, MEM, and E (Table 6, Figure 4). Also, none of the isolates showed hemolytic activity.

Table 6. Antibiotic resistance profiles of *L. fermentum* isolates

Isolate Codes	S	DA	MEM	CIP	E	VA	TE	SXT
S12	S	S	S	R	S	R	S	S
S14	S	S	S	I	S	R	S	I
S16	S	S	S	R	S	R	S	R
S19	S	S	S	R	S	R	I	R
S22	R	S	S	R	S	R	I	R
S26	I	S	S	R	S	R	S	R
S47	R	S	S	R	S	R	S	R
S49	R	S	S	R	S	R	I	R

(S: Susceptible, R: Resistant, I: Intermediate)

(S: Streptomycin, DA: Clindamycin, MEM: Meropenem, CIP: Ciprofloxacin, E: Erythromycin, VA: Vancomycin, TE: Tetracycline, SXT: Trimethoprim/Sulfamethoxazole)

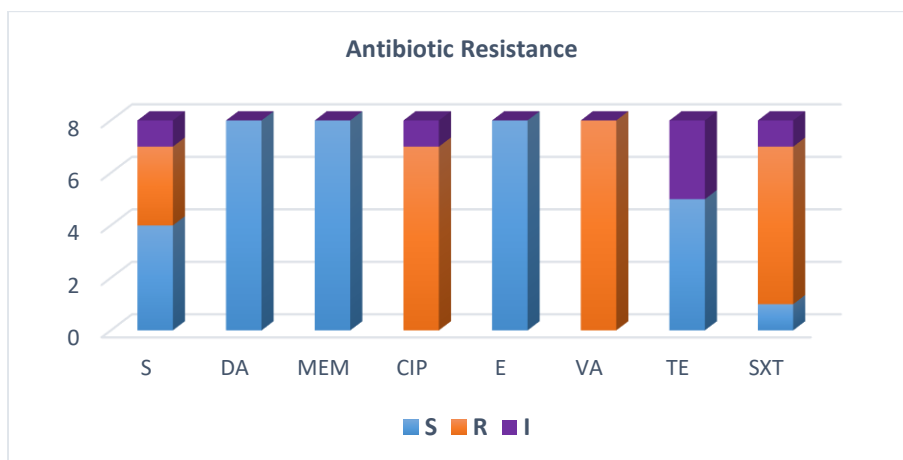


Figure 4. Distribution rate of antibiotic susceptibilities among isolates

(S: Susceptible, R: Resistant, I: Intermediate)

(S: Streptomycin, DA: Clindamycin, MEM: Meropenem, CIP: Ciprofloxacin, E: Erythromycin, VA: Vancomycin, TE: Tetracycline, SXT: Trimethoprim/Sulfamethoxazole)

Discussion

It was concluded that most of the lactobacilli (61.9%) did not survive in the pH2 environment, and it is noteworthy that pH2 is distinctive for lactobacilli ($P < 0.05$). It is generally accepted that there is a decrease in the total number of probiotics when exposed to pH1.5 and pH3 environments (Sahadeva et al., 2011). Although these bacteria were expected to survive and reach the intestines due to the buffer effect at the pH of the stomach environment when taken via food (Soares et al., 2019), high acid tolerance may be vital for various gastric diseases (Lambert and Hull, 1996). D'ambrosio et al. (2022) reported that *L. fermentum* from buffalo milk replaced *Helicobacter pylori* in the gastric epithelial cell model. The acid tolerance of bacteria is desirable for withstanding gastric stress and its use as a dietary supplement, allowing strains to survive longer on high acid carrier foods without further inhibition (Shehata et al., 2016). Similarly, Bozdemir et al. (2022) and Asan-Ozusaglam and Gunyaktı (2019) reported that *L. fermentum* isolates survived at pH2. Kesmen et al. (2012) reported that the majority of the lactic acid biota of sucuk belongs to *Lactobacillus sakei*, *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. brevis*, *L. farciminis*, *L. alimentarius*, and minorly contains *Leuconostoc* and *Weisella*. No specific study has been conducted for acid-tolerant sucuk isolates. Hitherto, there have been many studies on the health-beneficial effects of *L. fermentum* (Rodríguez-Sojo et al., 2021; Paulino do Nascimento et al., 2022; Phujumpa et al., 2022). This study revealed that traditional fermented Turkish sucuk contains acid-tolerant *L. fermentum*, and probiotic properties characterize those.

Bile salt tolerance is essential for bacteria colonization and metabolic activity in the host's small intestine (Shehata et al., 2016). Suwannaphan (2021) considered lactobacilli's 75% survival rate after two hours of incubation in simulated gastric juice and bile salt as the cut-off level. *L. fermentum* isolates with high acid tolerance have high bile salt tolerance in gastric and intestinal juice ($P < 0.05$). Masco et al. (2007) reported that it was associated with gastric transit ability in isolates with enhanced acid tolerance. It is crucial to identify how well the cells in a

probiotic product can survive in the gastrointestinal tract (GIT) and thus be able to mediate the desired health benefit while passing through the human body (Wendel, 2022). Collado and Sanz (2007) reported that acid-resistant strains showed better growth ability in the presence of bile salt and NaCl (6-10%).

Similarly, all *L. fermentum* isolates could grow in 12% salt. The resistance and survival to extreme osmotic resistance is one of the specific requirements of beneficial bacteria after the technological processes for their inclusion in probiotic formulas (Silva et al., 2019). Hydrophobicity is one of the critical properties improving the first contact between bacteria and host cells (Krausova et al., 2019). Autoaggregation indicates lactobacilli's capacity to bind to intestinal epithelial cells' surface, protecting the host from invading pathogens. Coaggregation of lactobacilli with pathogens also demonstrates their ability to bind to pathogens *in vivo* and create a microenvironment where their antimicrobial metabolites can inhibit pathogens (An et al., 2000; Potočnjak et al., 2017). Similar to the current study, Krausova et al. (2019) found no correlation between autoaggregation and hydrophobicity ($P > 0.05$). Strikingly, our results showed that the S19-coded isolate, demonstrated to produce EPS, had an elevated level of autoaggregation and hydrophobicity. QingWu et al. (2022) reported that EPS and EPS proteins' hydrophobic interaction contributes to aggregation and hydrophobicity. The coaggregation spectrum shown by the isolates was also broad (1.23-83.13%). Compared to measurements at the third hour, the fastest coaggregation increase was shown against *E. coli*, especially in the isolate coded S49. However, high coaggregation generally belongs to the isolate S16 from the first measurement. Considering the antimicrobial activity of CFSs, S16 is not effective against *L. monocytogenes*. Likewise, Thayalan et al. (2021) did not observe zone formation in the antagonistic activity of *L. salivarius*, which has coaggregation properties against some pathogens. In addition, the antagonistic activities of *L. fermentum* isolate from cheese by Tulumoglu et al. (2014) against *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 29213 are

compatible with the current study. Owusu-Kwarteng et al. (2015) reported that *L. fermentum* isolates did not have an antagonistic effect against *E. coli* O157 882364 and *S. Enteritidis* ATCC 13076, but they observed an effect on 25% of the isolates against *L. monocytogenes* NCTC 10527.

Proteases synthesized by bacteria have a significant industrial potential due to the biochemical diversity of bacteria and their genetic manipulability (Zhang et al., 2019). Beganović et al. (2013) reported the protease activity of *L. helveticus* M92 as 18 mm. Raveschot et al. (2020) found the average protease activity values in *L. delbrueckii* isolates to be 32 mm, emphasizing the importance of a fermentation starter for initiating proteolysis in yogurt production. In meat products, hydrolysis products from proteins are important flavor precursors in fermented sausage, producing a variety of oxidized volatile and non-volatile flavor compounds that contribute to the final flavor profile of the product (Candogan and Acton, 2004). The current study emphasizes that *L. fermentum* isolates, with their high proteolytic activity, will contribute to final products with ideal biotechnological properties in traditional fermented meat products. *Lactobacillus* species have been reported to be intrinsically resistant to vancomycin, streptomycin, ciprofloxacin, and sulfamethoxazole-trimethoprim (Ammor et al., 2007; Gueimonde et al., 2013; Campedelli et al., 2019). However, acquired resistance can be transferred from one bacterium to another, contributing to a greater and more widespread risk than intrinsic resistance (Li et al., 2020). Among the antibiotics examined, *L. fermentum* isolates from sucuk are not characterized by acquired resistance.

In conclusion, this study showed that traditional fermented Turkish sucuk harbors the newly isolated wild-type *L. fermentum*, regarding biotechnological, safety, and probiotic properties with exciting potential. Further confirmation of efficiency in experimental animal models is remarkable in elucidating its potential health benefits. Additionally, examining these isolates more comprehensively within the framework of

omics approaches will allow them to be evaluated in all health-promoting studies.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no competing financial interest.

ETHICAL APPROVAL

No ethical approval was required as no live animals were used in this study.

ACKNOWLEDGEMENT

We want to thank Erciyes University Scientific Text Support Office (Proofreading & Editing Office) for their contributions in checking and editing the English language of the manuscript.

DATA AVAILABILITY

The datasets used and analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

REFERENCES

- Ammor, M. S., Flórez, A. B., Mayo, B. (2007). Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food microbiology*, 24(6), 559-570.
- An, Y. H., Dickinson, R. B., Doyle, R. J. (2000). Mechanisms of bacterial adhesion and pathogenesis of implant and tissue infections. In *Handbook of bacterial adhesion: principles, methods, and applications* (pp. 1-27). Totowa, NJ: Humana Press.
- Asan-Ozusaglam, M., Gunyakti, A. (2019). *Lactobacillus fermentum* strains from human breast milk with probiotic properties and cholesterol-lowering effects. *Food science and biotechnology*, 28, 501-509.
- Beganović, J., Kos, B., Pavunc, A. L., Uroić, K., Džidara, P., Šušković, J. (2013). Proteolytic activity of probiotic strain *Lactobacillus helveticus* M92. *Anaerobe*, 20, 58-64.
- Bis-Souza, C. V., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Penna, A. B., Barretto, A. C. S. (2019). New strategies for the development of innovative fermented meat products: a review regarding the

- incorporation of probiotics and dietary fibers. *Food Reviews International*, 35(5), 467-484.
- Bozdemir, M. (2021). Bozadan izole edilmiş laktik asit bakterilerinin bazı teknolojik ve fonksiyonel özellikleri (Master's thesis, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi).
- Bozdemir, M., Gümüş, T., Altan Kamer, D. D. (2022). Technological and beneficial features of lactic acid bacteria isolated from Boza A cereal-based fermented beverage. *Food Biotechnology*, 36(3), 209-233.
- Campedelli, I., Mathur, H., Salvetti, E., Clarke, S., Rea, M. C., Torriani, S., Ross, P. R., Hill, C., O'Toole, P. W. (2019). Genus-wide assessment of antibiotic resistance in *Lactobacillus* spp. *Applied and environmental microbiology*, 85(1), e01738-18.
- Candogan, K. Acton, J. C. (2004). Proteolytic activity of bacterial starter cultures for meat fermentation. *Journal of Muscle Foods*, 15(1), 23-34.
- Cevher, C. (2023). Socioeconomic Factors Affecting Sustainable Management of Improved Rangelands in Kayseri, Turkey. *Rangeland Ecology & Management*, 87, 44-54.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2015) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. In: CLSI document M100-S22. Clinical Laboratory Standard Institute, Wayne
- Collado, M. C., Sanz, Y. (2007). Induction of acid resistance in *Bifidobacterium*: a mechanism for improving desirable traits of potentially probiotic strains. *Journal of applied microbiology*, 103(4), 1147-1157.
- D'ambrosio, S., Ventrone, M., Fusco, A., Casillo, A., Dabous, A., Cammarota, M., Corsaro, M. M., Donnarumma, G., Schiraldi, C., Cimini, D. (2022). *Limosilactobacillus fermentum* from buffalo milk is suitable for potential biotechnological process development and inhibits *Helicobacter pylori* in a gastric epithelial cell model. *Biotechnology Reports*, 34, e00732.
- De Angelis, M., Gobbetti, M. (2004). Environmental stress responses in *Lactobacillus*: a review. *Proteomics*, 4(1), 106-122.
- de Melo Pereira, G. V., de Oliveira Coelho, B., Júnior, A. I. M., Thomaz-Soccol, V., Soccol, C. R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology advances*, 36(8), 2060-2076.
- de Oliveira Coelho, B., Fiorda-Mello, F., de Melo Pereira, G. V., Thomaz-Soccol, V., Rakshit, S. K., de Carvalho, J. C., Soccol, C. R. (2019). In vitro probiotic properties and DNA protection activity of yeast and lactic acid bacteria isolated from a honey-based kefir beverage. *Foods*, 8(10), 485.
- Dempsey, E., Corr, S. C. (2022). *Lactobacillus* spp. for gastrointestinal health: Current and future perspectives. *Frontiers in immunology*, 13, 840245.
- Dincer, E., Kivanc, M. (2012). Characterization of lactic acid bacteria from Turkish Pastirma. *Annals of microbiology*, 62, 1155-1163.
- Dincer, E., Kivanc, M. (2018). Lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Turkish pastirma. *Anadolu University Journal of Science and Technology C-Life Sciences and Biotechnology*, 7(1), 12-19.
- Dishan, A., Gönülalan, Z. (2024). *Lacticaseibacillus paracasei* AD22 Stress Response in Brined White Cheese Matrix: In Vitro Probiotic Profiles and Molecular Characterization. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-14.
- Food and Drug Administration. Microorganisms & Microbial-Derived Ingredients Used in Food (Partial List). Available online: <https://www.fda.gov/food/generally-recognized-safe-gras/microorganisms-microbial-derived-ingredients-used-food-partial-list>
- Gueimonde, M., Sánchez, B., G. de los Reyes-Gavilán, C., Margolles, A. (2013). Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in microbiology*, 4, 202.
- Han, Q., Kong, B., Chen, Q., Sun, F., Zhang, H. (2017). In vitro comparison of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Harbin dry sausages and selected probiotics. *Journal of Functional Foods*, 32, 391-400.

- Kaban, G. (2010). Volatile compounds of traditional Turkish dry fermented sausage (sucuk). *International Journal of Food Properties*, 13(3), 525-534.
- Krausova, G., Hyrslova, I., Hynstova, I. (2019). In vitro evaluation of adhesion capacity, hydrophobicity, and auto-aggregation of newly isolated potential probiotic strains. *Fermentation*, 5 (4), 100.
- Lambert, J., Hull, R. (1996). Upper gastrointestinal tract disease and probiotics. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 5, 31-35.
- Li, T., Teng, D., Mao, R., Hao, Y., Wang, X., Wang, J. (2020). A critical review of antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Food Research International*, 136, 109571.
- Liu, C., Xue, W. J., Ding, H., An, C., Ma, S. J., Liu, Y. (2022). Probiotic potential of Lactobacillus strains isolated from fermented vegetables in shaanxi, China. *Frontiers in Microbiology*, 12, 774903.
- Lorenzo, J. M., Munekata, P., Domínguez, R. (2017). Role of autochthonous starter cultures in the reduction of biogenic amines in traditional meat products. *Current Opinion in Food Science*, 14, 61-65.
- Masco, L., Crockaert, C., Van Hoorde, K., Swings, J., Huys, G. (2007). In vitro assessment of the gastrointestinal transit tolerance of taxonomic reference strains from human origin and probiotic product isolates of Bifidobacterium. *Journal of dairy science*, 90(8), 3572-3578.
- Montoro, B. P., Benomar, N., Gómez, N. C., Ennahar, S., Horvatovich, P., Knapp, C. W., Galvez, A., Abriouel, H. (2018). Proteomic analysis of Lactobacillus pentosus for the identification of potential markers involved in acid resistance and their influence on other probiotic features. *Food microbiology*, 72, 31-38.
- Negrete-Romero, B., Valencia-Olivares, C., Baños-Dossetti, G. A., Pérez-Armendáriz, B., Cardoso-Ugarte, G. A. (2021). Nutritional contributions and health associations of traditional fermented foods. *Fermentation*, 7(4), 289.
- Owusu-Kwarteng, J., Tano-Debrah, K., Akabanda, F., Jespersen, L. (2015). Technological properties and probiotic potential of Lactobacillus fermentum strains isolated from West African fermented millet dough. *BMC microbiology*, 15(1), 1-10.
- Paulino do Nascimento, L. C., Lacerda, D. C., Ferreira, D. J. S., de Souza, E. L., de Brito Alves, J. L. (2022). Limosilactobacillus fermentum, current evidence on the antioxidant properties and opportunities to be exploited as a probiotic microorganism. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(5), 960-979.
- Phujumpa, P., Muangham, S., Jatuponwiphat, T., Koffas, M., Nakphaichit, M., Vongsangnak, W. (2022). Comparative genomics-based probiotic relevance of Limosilactobacillus fermentum KUB-D18. *Gene*, 840, 146747.
- Potočnjak, M., Pušić, P., Frece, J., Abram, M., Janković, T., Gobin, I. (2017). Three new Lactobacillus plantarum strains in the probiotic toolbox against gut pathogen Salmonella enterica serotype Typhimurium. *Food Technology and Biotechnology*, 55(1), 48.
- QingWu, D., Ding, X. S., Zhao, B., An, Q., Guo, J. S. (2022). The essential role of hydrophobic interaction within extracellular polymeric substances in auto-aggregation of P. stutzeri strain XL-2. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 171, 105404.
- Raveschot, C., Cudennec, B., Deracinois, B., Frémont, M., Vaeremans, M., Dugersuren, J., Demberel, S., Drider, D., Dhulster, P., Coutte, F., Flahaut, C. (2020). Proteolytic activity of Lactobacillus strains isolated from Mongolian traditional dairy products: A multiparametric analysis. *Food chemistry*, 304, 125415.
- Rodríguez-Sojo, M. J., Ruiz-Malagón, A. J., Rodríguez-Cabezas, M. E., Gálvez, J., Rodríguez-Nogales, A. (2021). Limosilactobacillus fermentum CECT5716: mechanisms and therapeutic insights. *Nutrients*, 13(3), 1016.
- Sahadeva, R. P. K., Leong, S. F., Chua, K. H., Tan, C. H., Chan, H. Y., Tong, E. V., Wong, S.Y.W., Chan, H. K. (2011). Survival of commercial

- probiotic strains to pH and bile. *International Food Research Journal*, 18(4), 1515-1522.
- Shehata, M. G., El Sohaimy, S. A., El-Sahn, M. A., Youssef, M. M. (2016). Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(1), 65-75.
- Silva, J. A., Marchesi, A., Wiese, B., Nader-Macias, M. E. F. (2019). Technological characterization of vaginal probiotic lactobacilli: resistance to osmotic stress and strains compatibility. *Journal of applied microbiology*, 127(6), 1835-1847.
- Soares, M. B., Martinez, R. C., Pereira, E. P., Balthazar, C. F., Cruz, A. G., Ranadheera, C. S., Sant'Ana, A. S. (2019). The resistance of Bacillus, Bifidobacterium, and Lactobacillus strains with claimed probiotic properties in different food matrices exposed to simulated gastrointestinal tract conditions. *Food research international*, 125, 108542.
- Stingle, F., Neeser, J. R., Mollet, B. (1996). Identification and characterization of the eps (exopolysaccharide) gene cluster from Streptococcus thermophilus Sfi6. *Journal of bacteriology*, 178(6), 1680-1690.
- Suwannaphan, S. (2021). Isolation, identification and potential probiotic characterization of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented food. *AIMS microbiology*, 7(4), 431.
- Suzuki, M. T., Giovannoni, S. J. (1996). Bias caused by template annealing in the amplification of mixtures of 16S rRNA genes by PCR. *Applied and environmental microbiology*, 62(2), 625-630.
- Tavaré, S. (1986). Some probabilistic and statistical problems on the analysis of DNA sequence. *Lecture of Mathematics for Life Science*, 17, 57
- Thayalan, D. T., Abdullah, R., Md Noor, S. S., Mohamad, S. (2021). In Vitro Antimicrobial Activity and Aggregation Abilities of Probiotic Lactobacillus casei and Lactobacillus salivarius Against Oral Pathogens. *Archives of Orofacial Science*, 16(2).
- Tulumoglu, Ş., Kaya, H. İ., Şimşek, Ö. (2014). Probiotic characteristics of Lactobacillus fermentum strains isolated from tulum cheese. *Anaerobe*, 30, 120-125.
- Wendel, U. (2022). Assessing viability and stress tolerance of probiotics—a review. *Frontiers in Microbiology*, 12, 818468.
- Xu, Y., Tian, Y., Cao, Y., Li, J., Guo, H., Su, Y., Tian, Y., Wang, C., Wang, T., Zhang, L. (2019). Probiotic properties of Lactobacillus paracasei subsp. paracasei L1 and its growth performance-promotion in chicken by improving the intestinal microflora. *Frontiers in physiology*, 10, 937.
- Yadav, R., Puniya, A. K., Shukla, P. (2016). Probiotic properties of Lactobacillus plantarum RYPR1 from an indigenous fermented beverage Raabadi. *Frontiers in microbiology*, 7, 1683.
- Yasmin, I., Saeed, M., Khan, W. A., Khaliq, A., Chughtai, M. F. J., Iqbal, R., Tehseen, S., Naz, S., Liaqat, A., Mehmood, T., Ahsan, S., Tanweer, S. (2020). In vitro probiotic potential and safety evaluation (hemolytic, cytotoxic activity) of Bifidobacterium strains isolated from raw camel milk. *Microorganisms*, 8(3), 354.
- Zhang, Y., Xia, Y., Ding, Z., Lai, P. F., Wang, G., Xiong, Z., Liu, X., Ai, L. (2019). Purification and characteristics of a new milk-clotting enzyme from Bacillus licheniformis BL312. *LWT*, 113, 108276.
- Zheng, J., Du, M., Jiang, W., Zhang, J., Shen, W., Ma, X., Liang, Z., Shen, J., Wu, X., Ding, X. (2021). In vitro probiotic characteristics and whole genome sequence analysis of lactobacillus strains isolated from cattle-yak milk. *Biology*, 11(1), 44.
- Zommiti, M., Chikindas, M. L., Ferchichi, M. (2020). Probiotics—live biotherapeutics: a story of success, limitations, and future prospects—not only for humans. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12, 1266-1289.



**ULTRASOND-ASSISTED EXTRACTION OF NATURAL ANTIOXIDANTS
FROM THE HAZELNUT SKIN: OPTIMIZATION AND COMPARISON WITH
CONVENTIONAL METHOD**

Merve Özdemir^{1,2}, Mehmet Torun^{1*}

¹Akdeniz University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Antalya, Türkiye

² Adana Alparslan Türkeş Science and Technology University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Adana, Türkiye

Received /Geliş: 09.02.2024; Accepted /Kabul: 27.03.2024; Published online /Online baskı: 28.03.2024

Özdemir, M., Torun, M. (2024). Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the hazelnut skin: Optimization and comparison with conventional method. *GIDA* (2024) 49 (2) 326-341 doi: 10.15237/gida.GD24025

Özdemir, M., Torun, M. (2024). Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle fındık zarından doğal antioksidanların ekstraksiyonu: Optimizasyon ve geleneksel yöntemle karşılaştırma. *GIDA* (2024) 49 (2) 326-341 doi: 10.15237/gida.GD24025

ABSTRACT

This study focused on extracting antioxidants from hazelnut skin, an industrial food waste, using two different methods: conventional extraction (CE) and ultrasound-assisted extraction (UAE). The Response Surface Methodology (RSM) has been utilized using the total phenolic content (TPC) and antioxidant capacity (AC) results as responses in optimizing both method conditions. The independent variables and their levels for the optimal experimental design were adjusted as follows: temperature (50-90°C), time (2-62 min), and loading capacity (5-15%) for CE; and temperature (25-50°C), time (1-30 min), loading capacity (5-15%), and ultrasonic amplitude (20-50%) for UAE. The optimum conditions were determined to be 90°C for 35 min with a 5% loading capacity for CE, and 50°C for 27 min with a 5% loading capacity and 50% amplitude for UAE. The TPC of the extracts were found to be 142.62 mg GAE/g and 129.69 mg GAE/g, while the AC values were 127.02 µmol TE/g and 116.00 µmol TE/g for CE and UAE methods, respectively. In conclusion, it has been demonstrated that hazelnut skin extracts obtained by optimizing CE and UAE methods can serve as natural antioxidant alternatives in food products and may hold significant potential for further applications.

Keywords: Hazelnut skin, conventional extraction, ultrasound-assisted extraction, phenolic, antioxidant capacity

**ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYON YÖNTEMİYLE FINDIK ZARINDAN
DOĞAL ANTIÖKSİDANLARIN EKSTRAKSİYONU: OPTİMİZASYON VE
GELENEKSEL YÖNTEMLE KARŞILAŞTIRMA**

ÖZ

Bu çalışmada, endüstriyel bir gıda atığı olan fındık zarının ekstraksiyonu geleneksel ekstraksiyon (GE) ve ultrases destekli ekstraksiyon (UDE) olmak üzere iki farklı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Her iki yöntem koşullarının optimize edilmesinde cevap olarak toplam fenolik madde miktarı (TFM) ve

* Corresponding author / Sorumlu yazar

✉: torun@akdeniz.edu.tr

☎: (+90) 242 310 6520

Merve Özdemir; ORCID no: 0000-0002-1962-4118

Mehmet Torun; ORCID no: 0000-0002-6287-2993

antioksidan kapasite (AK) sonuçları kullanılarak Yanıt Yüzeysel Metodu (YYM)'ndan yararlanılmıştır. Optimal deneysel tasarım için bağımsız değişkenler ve seviyeleri: GE için sıcaklık (50-90°C), süre (2-62 dakika) ve besleme oranı (%5-15); UDE için ise sıcaklık (25°C-50°C), süre (1-30 dakika), besleme oranı (%5-15) ve ultrasonik genlik (20-50%) seçilmiştir. Optimal koşullar GE için %5 besleme oranı ile 35 dakika boyunca 90°C sıcaklık ve UDE için ise %5 besleme oranı, %50 genlik ile 27 dakika boyunca 50°C sıcaklık olarak belirlenmiştir. Ekstraktların toplam fenolik madde miktarı değerleri GE ve UDE yöntemleri için sırasıyla 142.62 mg GAE/g ve 129.69 mg GAE/g olarak; antioksidan kapasiteleri ise GE ve UDE yöntemleri için sırasıyla 127.02 µmol TE/g ve 116.00 µmol TE/g olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, GE ve UDE yöntemlerinin optimize edilmesiyle elde edilen fındık zarı ekstraktlarının gıdalarda alternatif doğal antioksidan olarak kullanılabileceği ve ileri uygulamalar için önemli bir kaynak olabileceği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Fındık zarı, geleneksel ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon, fenolik, antioksidan kapasite

INTRODUCTION

Food processing wastes or by-products are generated on a large scale in the food industries worldwide annually. This poses one of the biggest challenges for the food industry, potentially leading to negative ecological effects. Recycling of by-products is a critical measure for the sustainability of food production, playing a significant role in society, the environment, and the economy. Recently, there has been increased attention to the composition of by-products in studies, with researchers suggesting that many of these can be recycled as valuable bioactive components (Yılmaz et al., 2019; Tezel and Yıldız, 2020; Kandemir et al., 2022).

The nut industry has the potential to generate a significant amount of by-products due to the interesting layered structure of nuts. These by-products (such as shells, green leafy covers, leaves, and skins) are rich in phenolic compounds and antioxidants, which are naturally present in plant-based foods (Wijeratne et al., 2006; Göncüoğlu-Taş and Gökmen, 2017). Like other nuts, hazelnuts (*Corylus avellana* L.), of which Türkiye is the largest producer, also have by-products containing phenolic compounds (Shahidi et al., 2007; Contini et al., 2008; FAO, 2021). Some researchers have shown that hazelnut skins have a higher TPC than other hazelnut by-products (Shahidi et al., 2007). Additionally, researchers have reported that most of the phenolic compounds in hazelnuts are located in the skin, and the AC of unroasted hazelnut skin could be approximately 100 times higher than that of unroasted hazelnut kernels

without the skins, proportionally (Shahidi et al., 2007; Göncüoğlu-Taş and Gökmen, 2015). Compared to foods rich in antioxidants, hazelnut skin has shown a higher AC according to various antioxidant assays. It has been reported that 1 g of unroasted hazelnut skin could be equivalent to 1.4 g of cinnamon, 10 g of dark chocolate, and 16.7 g of blueberries (Blomhoff et al., 2006; Göncüoğlu-Taş and Gökmen, 2015). In addition to this comparison, it has been reported that unroasted hazelnut skin (309-1375.00 µmol Trolox equivalent (TE)/g) has a greater AC than other foods such as walnuts (224 µmol TE/g), buckwheat (118 µmol TE/g), coffee silverskin (82.24 µmol TE/g), almonds (27.8 µmol TE/g), and peanuts (14.3 µmol TE/g) according to the QUENCHER (QUick, Easy, New, CHEap, and Reproducible) method, which allows for comparison of AC without any extraction procedure (Serpen et al., 2007; Serpen et al., 2008; Gökmen et al., 2009; Açar et al., 2009; Göncüoğlu-Taş and Gökmen, 2015; Doğan-Cömert and Gökmen, 2017). These previous studies have shown that hazelnut skin is an excellent source of natural antioxidants. The skin of hazelnuts is generally removed during the roasting process because the pectic polysaccharides within the layered structure of the skin are partially denatured by the heat (Saklar et al., 2003). Roasting can also affect antioxidant activity, and the overall impact of roasting depends on the balance between the thermal degradation of natural antioxidant compounds such as polyphenols and the formation of antioxidative Maillard reaction products like melanoidins (Açar et al., 2009). For this reason,

the recycling of hazelnut skin is gaining increasing interest, similar to other food wastes (Bertolino et al., 2015; Longato et al., 2019; Dinkçi et al., 2021).

Synthetic antioxidants such as tert-butylhydroquinone (TBHQ), butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA), and ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) have been extensively used in the food industry to delay or prevent lipid oxidation, which leads to the formation of potentially harmful reaction products, off-flavors, and an decrease in shelf life. However, due to consumer concerns regarding the potential health risks associated with synthetic antioxidants in food products, there is a growing demand for natural alternatives (Frankel, 1984; Xu et al., 2021). For this purpose, hazelnut skin, with its high AC, can be used as a natural alternative to synthetic antioxidants in food products.

Extraction is the initial and crucial step in recovering phenolic compounds from plant-based food wastes. Various extraction techniques can be employed for extracting plant materials. Alongside conventional solid-liquid extraction methods, ultrasonic-assisted extraction (UAE), one of the "green extraction methods," has gained significant attention recently due to its advantages of short extraction time and lower energy consumption. The primary mechanism of ultrasonic-assisted extraction is based on a phenomenon called cavitation, which involves the formation and collapse of bubbles generated by the compression and expansion of ultrasonic waves. This cavitation facilitates the release of target compounds by disrupting cell walls and enhancing the penetration of the solvent into the sample matrix (Knorr et al., 2004; Chemat et al., 2017).

Extraction process parameters such as temperature, time, and loading capacity are crucial in the recovery of phenolic compounds from materials in both conventional solid-liquid extraction and ultrasonic-assisted extraction. Additionally, amplitude, which refers to the characteristics of the ultrasonic wave that can affect cavitation, is also an important parameter for ultrasonic-assisted extraction. Optimizing

extraction parameters is essential to obtain extracts rich in antioxidants and phenolic compounds (Chemat et al., 2017). Response Surface Methodology (RSM) is a statistical and mathematical methodology that enables the evaluation of the effects of process parameters and their interactions. It can also determine the optimum process conditions through the design of experimental runs (Myers et al., 2002).

Numerous conventional extraction studies have been conducted to recover antioxidant phenolic compounds from hazelnut skin using various solvents (Shahidi et al., 2007; Contini et al., 2008; Alasalvar et al., 2009; Monagas et al., 2009; Locatelli et al., 2010; Del Rio et al., 2011; Göncüoğlu-Taş and Gökmen, 2015; Pelvan et al., 2018). Furthermore, the maceration method, one of the traditional extraction methods, has been compared with novel extraction methods and optimized, including ultrasonic-assisted extraction. In this study, ethyl alcohol is used in different concentrations as a solvent in both maceration and ultrasonic-assisted extraction methods (Odabaş and Koca, 2016). Additionally, there is an optimization study for the recovery of phenolic compounds from hazelnut skin using deep eutectic solvents (Fanali et al., 2021).

In future studies, there is a consideration to transform the extracts obtained with high AC into different forms that can be used as antioxidants in food products through further processing. It has been noted that the use of water as a solvent might be more suitable for the "clean label" trend, which has been a consumer expectation in recent years. For this reason, in this study, water was preferred instead of ethanol or deep eutectic solvents as a solvent for both extraction processes (Chemat et al., 2012; Asioli et al., 2017). In the literature, phenolic compounds from hazelnut skin has been extracted in a closed loop using a continuous set-up using water as solvent (Bertino et al., 2023). However, a study comparing and optimizing ultrasonic-assisted extraction and conventional solid-liquid extraction processes for the recovery of phenolic compounds from hazelnut skin using water as a solvent has not been encountered.

In this study, temperature, time, and loading capacity were determined as process parameters for the aqueous extraction of antioxidants and phenolic compounds from hazelnut skin, both for CE and UAE. Additionally, amplitude was added as a process factor for UAE. The TPC and AC of the extracts were examined as responses for both extraction methods. Optimization was performed to maximize the TPC and AC of hazelnut skin extract using RSM.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Hazelnut (*Corylus avellana* L.) skins, obtained as by-products from different hazelnut varieties (Palaz, Tombul, Kara, and Çakıldak) under different roasting conditions (115°C for 30 min and 140°C for 15 min), were collected from a hazelnut processing plant located in Ordu, Türkiye. The hazelnut skins were ground using a laboratory-type grinding device and sieved through the range of 500 µm and 1 mm sieves. Distilled water (Millipore, USA) was used as the solvent in the extraction processes, and in preparation of the necessary solutions for TPC analysis. All chemicals used in the analyses, including 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, and methanol, were of analytical grade and purchased from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) and Merck (Darmstadt, Germany).

Methods

Conventional extraction

The RSM approach was employed to optimize the process factors (independent variables) to obtain the desired extract. For conventional extraction, the independent variables were determined as temperature (ranging from 50°C to 90°C), time (ranging from 2 to 62 min), and loading capacity (ranging from 5% to 15%). These ranges were based on preliminary extraction studies and literature to maximize the TPC and AC values. An Optimal (custom) Design consisting of 20 trials was performed and the amount of hazelnut skin was determined by using a constant volume of solvent (50 mL) according to the experimental design. After mixing hazelnut skin and distilled

water in a 100 mL jar, the mixture was placed into a water bath and shaken using a constant speed (150 rpm) according to the extraction conditions specified in the experimental design. At the end of the process, the extract was filtered through a filter paper followed by subsequent filtration through a Whatman filter paper (110 mm diameter). The filtered extract was then cooled to room temperature and stored at -18°C until analysis.

Ultrasonic-assisted extraction

The independent variables for the extraction process were determined as temperature (ranging from 25°C to 50°C), time (ranging from 1 to 30 min), loading capacity (ranging from 5% to 15%), and ultrasonic amplitude (ranging from 20% to 50%). These ranges were based on preliminary extraction studies and literature to maximize the TPC and AC values. An Optimal (custom) Design consisting of 25 trials was performed according to the RSM approach and the amount of hazelnut skin was determined by using a constant volume of solvent (50 mL) according to the experimental design. After mixing hazelnut skin and distilled water in a jacketed beaker (250 mL volume) coupled to a thermostatic water bath (RW-3025 Lab Companion, Korea), the probe depth was set up as 1 cm. Extraction was carried out using an ultrasonicator (VC750, Sonics and Materials, Inc., Newtown, CT, USA; 20 kHz, 750 W) equipped with a probe (13 mm diameter) according to the determined extraction conditions specified in the experimental design. The temperature of the mixture in the jacketed beaker was monitored using a digital thermometer throughout the process. At the end of the extraction process, the extract was filtered through a filter paper followed by subsequent filtration through a Whatman filter paper (110 mm diameter). The filtered extract was then cooled to room temperature and stored at -18°C until analysis.

Analysis

Total Phenolic Content (TPC)

To determine the TPC, 0.5 mL of the sample (diluted), 2.5 mL of Folin–Ciocalteu reagent (diluted 10 times with water), and 2 mL of sodium carbonate solution (7.5%, w/v) were added into a

test tube. The mixture was then vortexed (DragonLab, MX-S) to ensure thorough mixing. Water was used as a control sample, and all mixtures were incubated at 50°C for 5 min and then cooled to room temperature in a dark place for 10 min. After incubation, the absorbance of the mixtures was measured against the control sample at a wavelength of 760 nm using a spectrophotometer (Shimadzu UV-vis 160A, Japan). The total phenolic components were calculated based on the calibration curve of gallic acid and expressed as milligrams of gallic acid equivalent (GAE) per gram of material (Škerget et al., 2005).

Antioxidant capacity (AC)

The AC of the extracts was analyzed using a free radical scavenging capacity assay with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Initially, 50 μ L of the sample (diluted) was transferred into a test tube (Eppendorf, 1.25 mL), followed by the addition of 950 μ L of a 6×10^{-5} M DPPH radical solution. The mixture was then vortexed (DragonLab, MX-S) to ensure thorough mixing. Water was used as a control sample, and all mixtures were kept in the dark for 30 min at room temperature. After incubation, the absorbance of the mixtures was measured at a wavelength of 516 nm using a spectrophotometer (Shimadzu UV-vis 160A, Japan). The results of the samples were calculated as $(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}})$. The AC was determined based on the calibration curve of Trolox, and the results were expressed as μ mol Trolox equivalent per gram of material (Fernández-León et al., 2013).

Statistical Analysis

The statistical analysis was conducted using Design-Expert software (Stat-Ease Inc., Version 10, Minneapolis, USA) based on Response Surface Methodology (RSM). This software includes functions such as experimental design, modeling, and optimization studies. Model adequacies were evaluated using various metrics including the regression coefficient (R^2), adjusted regression coefficient ($\text{adj-}R^2$), predicted regression coefficient ($\text{pre-}R^2$), lack of fit value, coefficient of variance (C.V.), and adequate precision (Adeq.Precision). Additionally,

insignificant terms ($P > 0.1$) were removed to improve the model without compromising its hierarchy, and the statistical analysis was repeated. Furthermore, SPSS version 22.0 (IBM, USA) was utilized to verify the optimization by comparing the predicted and experimental responses. A one-sample t-test was conducted for this purpose. This statistical approach helps to assess the accuracy of the predicted values obtained from the optimization process.

RESULTS AND DISCUSSION

Effects of conventional extraction factors, model analysis, and optimization

The results of all trials for conventional extraction are presented in Table 1. The TPC varied from 75.27 to 155.06 mg GAE/g, while the AC, measured by DPPH free radical scavenging activity, ranged from 72.44 to 127.21 μ mol TE/g. The optimal extraction condition, yielding the highest AC, involved extraction at 90°C for 24 min with a loading capacity of 15%. Conversely, the least favorable condition, resulting in the lowest AC, was extraction at 50°C for 6 min with a loading capacity of 15%.

The highest TPC and AC values were observed under the same condition (Run 19). Overall, there was a positive correlation between the TPC and AC values of the samples, as expected. However, some results suggested that the TPC and AC results could not be directly correlated with each other. This discrepancy may be due to the presence of other antioxidant components in hazelnut skin, such as tocopherols, carotenoids, and melanoidins, in addition to phenolic compounds (Shahidi et al., 2007; Açar et al., 2009; Göncüoğlu-Taş and Gökmen, 2015).

The regression coefficients of the proposed and reduced models, along with the effects of independent variables statistically on both responses (TPC and AC), are presented in Table 2. The lack of fit values of the models was found to be insignificant ($P > 0.05$) for both TPC and AC values. For the TPC response, the R^2 , $\text{adj-}R^2$, and $\text{pre-}R^2$ were determined as 0.8554, 0.8283, and 0.7733, respectively. Similarly, for the AC response, these coefficients were determined as

Extraction of natural antioxidants from the hazelnut skin

0.9174, 0.8879, and 0.7566, respectively. The difference between the pre-R² and the adj-R² was less than 0.2 for both TPC and AC, indicating that there are statistically insignificant terms in the model. Additionally, the low difference suggests

that the model is effective. Moreover, the Adeq.Precision, which is desired to be greater than 4 for the model to be considered reasonable and to have adequate signals, was calculated as 14.579 and 17.066 for TPC and AC, respectively.

Table 1. Optimal (custom) design and responses for conventional extraction of hazelnut skin

Run	A: Temperature (°C)	B: Time (min)	C: Loading capacity(%)	Antioxidant capacity (μmol TE/g)	Total phenolic content (mg GAE/g)
1	90	48	5	118.07±3.29	126.72±1.36
2	70	48	10	106.09±0.38	124.18±0.14
3	70	48	10	107.31±0.45	123.75±0.57
4	50	48	15	81.94±1.38	91.19±1.28
5	70	48	10	104.58±1.06	130.01±0.00
6	50	12	10	80.28±2.12	75.27±1.07
7	50	48	10	85.41±0.46	103.95±0.59
8	50	6	15	72.44±0.65	91.80±1.00
9	50	62	5	83.90±0,00	93.69±0.54
10	90	2	10	106.25±0.61	130.58±2.84
11	90	48	5	117.82±4.05	150.48±0.23
12	70	12	5	106.43±1.27	124.69±0.68
13	70	48	10	97.81±2.12	111.94±1.00
14	90	24	15	122.75±5.41	136.87±0.93
15	90	6	5	123.13±4.81	138.27±1.13
16	50	24	5	89.72±0.76	99.39±0.54
17	70	48	15	95.79±0.93	118.02±1.73
18	90	62	15	120.84±2.55	152.81±2.52
19	90	24	15	127.21±0.95	155.06±2.66
20	70	2	15	72.50±1.27	108.15±0.12

The temperature of the extraction (ranging from 50 to 90°C) played a significant role ($P < 0.01$) in both the TPC and AC for CE, with the results showing an increasing trend as the temperature increased. This can be attributed to the temperature's effect, which triggers a higher diffusion rate and solubility of the extracted compounds. Additionally, it is considered that phenolic compounds are more easily recovered due to the softening or disruption of the cell wall and the decrease in the viscosity and surface tension of water used as the solvent (Hemwimol et al., 2006; Torun et al., 2015). Similarly, Amirabbasi et al. (2021) and Jesus et al. (2019) reported that temperature had a significant (P

< 0.01) and positive effect on both the TPC and AC in CE. On the other hand, the extraction time (ranging from 2 to 62 min) and the loading capacity (ranging from 5% to 15%) demonstrated an insignificant effect on both responses ($P > 0.05$). However, the independent parameters and their interactions were found to significantly affect the AC ($P < 0.05$). The response surface graph illustrating this interaction effect is presented in Figure 1, and according to the graph, it was observed that the process conditions can be maximized if a longer extraction time (up to 35 min) and a lower loading capacity are applied.

Table 2. ANOVA results for antioxidant capacity and total phenolic content of extracts from conventional extraction (after removing the insignificant factors ($P > 0.1$) from the models)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	Coefficient Estimate	<i>p</i> value
<i>Antioxidant capacity</i>						
Model	5388.79	5	1077.76	31.09		< 0.0001**
A-Temperature	4246.07	1	4246.07	122.48	18.38	< 0.0001**
B-Time	87.30	1	87.30	2.52	3.20	0.1349
C- Loading capacity	131.81	1	131.81	3.80	-3.20	0.0715
BC	171.09	1	171.09	4.94	5.34	0.0433*
B ²	280.28	1	280.28	8.08	-12.05	0.0130*
Residual	485.36	14	34.67			
Lack of Fit	421.43	9	46.83	3.66		0.0833
Pure Error	63.92	5	12.78			
Cor Total	5874.14	19				
C.V.: 5.83						
Adeq.Precision: 17.066						
R ² =0.9174						
Adj-R ² =0.8879						
Pre-R ² =0.7566						
Final Equation in Terms of Coded Factors:						
R1=+105.79+18.38*A+3.20*B-3.20*C+5.34*BC-12.05*B ²						
Final Equation in Terms of Actual Factors:						
R1=+42.109+0.919*Temperature+0.608*Time-1.778*Loading capacity+0.036*Time*Loading capacity-0.013*Time ²						
<i>Total phenolic content</i>						
Model	8010.89	3	2670.30	31.54		<0.0001**
A-Temperature	7871.85	1	7871.85	92.99	24.70	<0.0001**
B-Time	291.52	1	291.52	3.44	5.67	0.0820
C- Loading capacity	2.99	1	2.99	0.035	0.48	0.8533
Residual	1354.44	16	84.65			
Lack of Fit	734.57	11	66.78	0.54		0.8177
Pure Error	619.87	5	123.97			
Cor Total	9365.33	19				
C.V.: 7.71						
Adeq.Precision: 14.579						
R ² =0.8554						
Adj-R ² =0.8283						
Pre-R ² =0.7733						
Final Equation in Terms of Coded Factors:						
R2=+117.82+24.70*A+5.67*B+0.4812*C						
Final Equation in Terms of Actual Factors:						
R2=+24.355+1.235*Temperature+0.189*Time+0.096*Loading capacity						

*Statistically significant at a significance level of 0.05 **Statistically significant at a significance level of 0.01.

The temperature of the extraction (ranging from 50 to 90°C) played a significant role ($P < 0.01$) in both the TPC and AC for CE, with the results showing an increasing trend as the temperature increased. This can be attributed to the temperature's effect, which triggers a higher diffusion rate and solubility of the extracted compounds. Additionally, it is considered that phenolic compounds are more easily recovered due to the softening or disruption of the cell wall and the decrease in the viscosity and surface tension of water used as the solvent (Hemwimol et al., 2006; Torun et al., 2015). Similarly, Amirabbasi et al. (2021) and Jesus et al. (2019)

reported that temperature had a significant ($P < 0.01$) and positive effect on both the TPC and AC in CE. On the other hand, the extraction time (ranging from 2 to 62 min) and the loading capacity (ranging from 5% to 15%) demonstrated an insignificant effect on both responses ($P > 0.05$). However, the independent parameters and their interactions were found to significantly affect the AC ($P < 0.05$). The response surface graph illustrating this interaction effect is presented in Figure 1, and according to the graph, it was observed that the process conditions can be maximized if a longer extraction time (up to 35 min) and a lower loading capacity are applied.

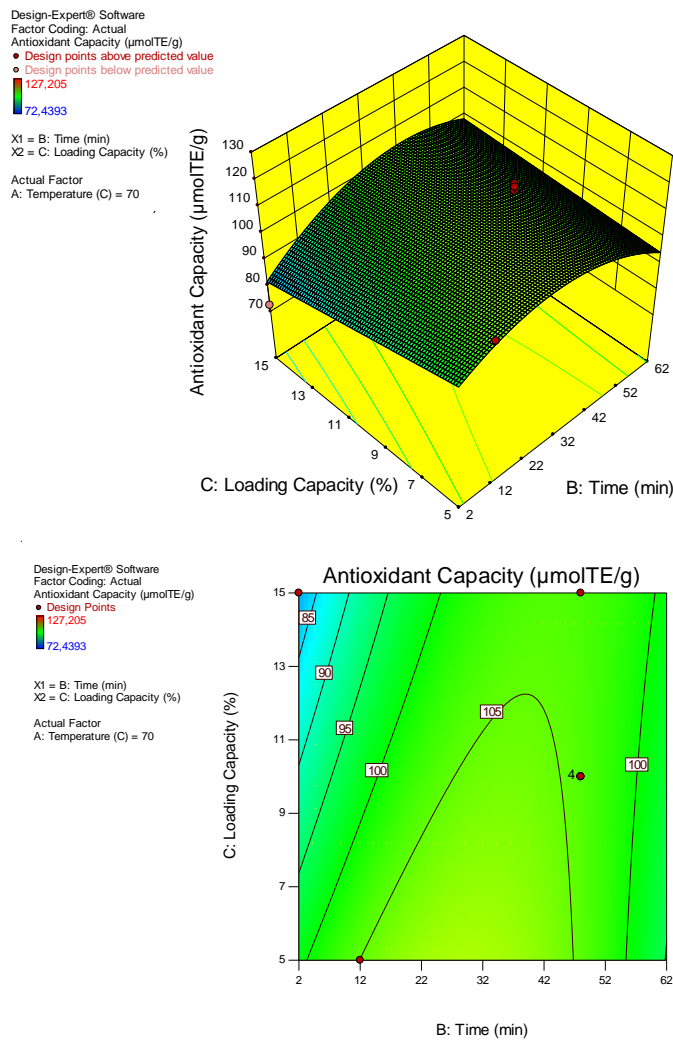


Figure 1. Effects of time (min) and loading capacity (%) on the antioxidant capacity of the hazelnut skin extract in CE

In conclusion, the optimum process conditions for CE of hazelnut skin were determined to be 90°C for 35 min with a loading capacity of 5%, resulting in a desirability function of 0.92. While the predicted TPC and AC were 142.62 mg GAE/g and 127.02 $\mu\text{mol TE/g}$, respectively, in the optimum conditions, experimental results were 136.52 mg GAE/g and 126.03 $\mu\text{mol TE/g}$, respectively. Statistical analysis using a t-test revealed no significant difference between the predicted and experimental TPC and AC values. Therefore, it can be concluded that the response surface methodology (RSM) model effectively predicts these responses in the CE of hazelnut skin.

Effects of ultrasonic-assisted extraction factors, model analysis, and optimization

The results of all trials for ultrasonic-assisted extraction were presented in Table 3. The TPC ranged from 54.76 to 134.51 mg GAE/g, while the AC (DPPH free radical scavenging activity) ranged from 47.93 to 117 $\mu\text{mol TE/g}$. Although the TPC results were consistent with those reported by Odabaş and Koca (2016) (ranging from 40.38 to 127.88 mg GAE/g), variations may occur due to factors such as climatic conditions during hazelnut growth, harvesting methods, storage conditions, and the parameters of hazelnut skin extraction.

Table 3. Optimal (custom) design and responses for ultrasonic-assisted extraction of hazelnut skin

Run	A:Temperature (°C)	B:Time (min)	C:Loading capacity (%)	D:Amplitude (%)	Antioxidant capacity ($\mu\text{mol TE/g}$)	Total phenolic content (mg GAE/g)
1	25	1	5	20	57.78±0.72	58.20±2.81
2	25	1	5	50	70.51±1.30	70.20±0.95
3	25	10	5	35	78.03±2.17	84.72±3.26
4	50	15	15	35	86.78±1.46	105.88±0.33
5	50	30	10	50	102.94±7.96	112.37±0.47
6	40	30	15	20	77.86±3.21	105.41±2.12
7	40	1	10	35	79.72±1.36	87.12±0.59
8	40	1	10	35	79.84±1.25	81.20±0.12
9	50	1	15	20	77.86±2.27	92.47±0.93
10	25	30	5	35	93.94±0.87	95.86±1.09
11	50	15	15	35	86.25±2.78	116.33±0.50
12	25	15	10	20	58.01±0.06	72.83±0.95
13	25	15	15	35	93.08±0.85	108.26±0.23
14	40	1	10	35	76.77±1.14	82.86±0.12
15	50	1	15	50	69.98±3.94	99.97±0.66
16	40	1	10	35	83.25±1.93	82.26±0.47
17	50	1	5	20	64.71±1.08	92.46±0.75
18	50	1	5	50	111.28±1.45	103.91±1.09
19	25	1	15	20	47.93±1.59	54.76±0.33
20	40	15	15	50	93.97±3.10	107.14±3.32
21	25	15	10	20	73.58±5.23	85.16±0.38
22	40	15	5	50	117.00	134.51±0.18
23	25	30	15	50	89.30±1.86	107.70±1.49
24	40	15	5	20	92.35±4.77	91.92±1.22
25	50	30	5	20	94.69±0.87	112.78±0.18

The highest TPC and AC values were achieved under the same extraction conditions, with a temperature of 40°C, extraction time of 15 min, loading capacity of 5%, and ultrasonic amplitude of 50% (Run 22). Similarly, the lowest values for both responses were obtained at identical extraction conditions, with a temperature of 25°C, extraction time of 1 min, loading capacity of 15%, and ultrasonic amplitude of 20% (Run 19). This high concordance between the AC and TPC values could be attributed to the presence of phenolic compounds in hazelnut skin, known for its high AC. Similar findings have been reported in previous studies on the composition of hazelnut skin in the literature (Shahidi et al., 2007; Contini et al., 2008; Pelvan et al., 2012; Göncüoğlu-Taş and Gökmen, 2015; Pelvan et al., 2018). Furthermore, it can be inferred that there exists a strong correlation between the antioxidant mechanism of phenolic compounds and the AC assay, particularly the DPPH free radical scavenging capacity (Bibi-Saader et al., 2020).

The regression coefficients of the proposed and then reduced models, along with the effects of independent variables statistically on both responses (TPC and AC), are presented in Table 4. The lack of fit values of the models was insignificant ($P > 0.05$) for both of them. The R^2 , adj- R^2 , and pre- R^2 were determined as 0.6719, 0.6063, and 0.4602 for AC, respectively, indicating a lower correlation between experimental and predicted values. However, for TPC, these coefficients were determined as 0.8216, 0.7747, and 0.6706, respectively, suggesting a relatively higher correlation. The difference between the pre- R^2 and the adj- R^2 was less than 0.2 for both TPC and AC, indicating statistically insignificant terms in the model, thus showing the model's effectiveness. Additionally, the Adeq.Precision, which is desired to be greater than 4 for the model to have adequate signals, was 15.410 and 13.050 for TPC and AC, respectively, in the present results.

From the process conditions, temperature (25-50 °C), time (1-30 min), and amplitude (20-50%) had a significant effect ($P < 0.01$) individually on the

TPC and AC values. An increase in extraction temperature led to an increase in both TPC and AC in both responses. This effect of the temperature parameter in ultrasonic-assisted extraction is similar to the effect of increasing temperature in CE, such as increasing the diffusion rate, mass transfer, and solubility (Hemwimol et al., 2006). Consistent with our findings, Hefied et al. (2023) reported a significant increase in TPC with increasing temperature from 20 °C to 50 °C, with the highest TPC value observed at 50 °C in preliminary experiments of the optimization study. Additionally, it was noted that increasing the extraction temperature from 25 to 50 °C resulted in higher TPC and AC in extracts, while exceeding 50 °C led to a decrease in TPC due to the heat-sensitive compounds (Bouafia et al., 2021). The effect of the temperature factor aligns with many studies reported in the literature (Chakraborty et al., 2020; Dinçel-Kasapoğlu et al., 2021; Sirichan et al., 2022).

According to our findings, extraction time (1-30 min) has shown a significant ($P < 0.01$) and positive effect on the TPC and AC values. Similarly, it has been reported that a higher extraction time leads to an increase in TPC and AC values in the recovery study from hazelnut skin by Odabaş and Koca (2016). Additionally, Wani and Uppaluri (2022) reported that extraction time had a significant and positive effect ($P < 0.01$) on the TPC and AC values. These studies are consistent with our results regarding the effect of extraction time.

Concerning the extraction time, it is stated that ultrasonic-assisted extraction occurs in two main stages: "washing" and "slow extraction," respectively. Initially, soluble components on the surface of the plant matrix are rapidly dissolved by the solvent penetrating the matrix, leading to the release of bioactive compounds at maximum levels. Then, in the second stage of "slow extraction," solute compounds are transferred from the plant matrix into the solvent via a diffusion mechanism. Although this stage has disadvantages such as longer time, higher energy consumption, and potential degradation of polyphenols, increasing the extraction time could

result in higher TPC until a certain value of time (Vinatoru, 2001; Şahin and Şamlı, 2013). Furthermore, the limiting effect of time is related to the cessation of mass transfer when the solute

and extraction solution reach equilibrium (Çiğeroğlu et al., 2018). These findings underscore the importance of optimizing the time parameter.

Table 4. ANOVA results for antioxidant capacity and total phenolic content of extracts from ultrasonic-assisted extraction (after removing the insignificant factors ($P > 0.1$) from the models)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	Coefficient Estimate	<i>p</i> value
<i>Antioxidant capacity</i>						
Model	4265.20	4	1066.30	10.24		0.0001**
A-Temperature	848.63	1	848.63	8.15	7.12	0.0098**
B-Time	1388.47	1	1388.47	13.33	9.89	0.0016**
C- Loading capacity	486.22	1	486.22	4.67	-5.26	0.0430*
D-Amplitude	1595.73	1	1595.73	15.32	10.13	0.0009**
Residual	2082.59	20	104.13			
Lack of Fit	1940.17	15	129.34	4.54		0.0518
Pure Error	142.42	5	28.48			
Cor Total	6347.79	24				
C.V.: 12.40						
Adeq.Precision: 13.050						
R ² =0.6719						
Adj-R ² =0.6063						
Pre R ² =0.4602						
Final Equation in Terms of Coded Factors:						
R1=+85.57+7.12*A+9.89*B-5.26*C+10.13*D						
Final Equation in Terms of Actual Factors:						
R1=+40.502+0.570*Temperature+0.682*Time-1.0514*Loading capacity+0.676*Amplitude						
<i>Total phenolic content</i>						
Model	6806.32	5	1361.26	17.50		< 0.0001**
A-Temperature	2417.51	1	2417.51	31.08	12.15	< 0.0001**
B-Time	2213.22	1	2213.22	28.46	12.70	< 0.0001**
C- Loading capacity	3.81	1	3.81	0.049	-0.47	0.8271
D-Amplitude	1044.95	1	1044.95	13.44	8.20	0.0016**
B ²	635.33	1	635.33	8.17	-11.07	0.0101*
Residual	1477.73	19	77.78			
Lack of Fit	1326.80	14	94.77	3.14		0.1064
Pure Error	150.93	5	30.19			
Cor Total	8284.05	24				
C.V.:9.40						
Adeq.Precision:15.410						
R ² =0.8216						
Adj-R ² =0.7747						
Pre-R ² =0.6706						
Final Equation in Terms of Coded Factors:						
R2=+104.75+12.15*A+12.70*B-0.47*C+8.20*D-11.07*B ²						
Final Equation in Terms of Actual Factors:						
R2=+23.863+0.972*Temperature+2.508*Time-0.094*Loading capacity+0.547*Amplitude-0.053*Time ²						

*Statistically significant at a significance level of 0.05 **Statistically significant at a significance level of 0.01.

The ultrasonic amplitude parameter is crucial for ultrasonic-assisted extraction as it can influence the cavitation phenomenon, which facilitates the release of target compounds by disrupting cell walls and enhancing solvent penetration into the sample matrix (Hemwimol et al., 2006). This factor (20-50%) exhibited a significant effect ($P < 0.01$) on both TPC and AC, showing a positive correlation. Similarly, Rakshit and Srivastav (2020) reported that ultrasonic amplitude (40-60%) had significant effects on TPC and AC ($P < 0.01$), with the optimum amplitude value determined as 50% by RSM. Additionally, Rohilla and Mahanta (2021) indicated that phenolic compounds increased with increasing ultrasonic amplitude from 10 to 50%, but beyond 70%, phenolic compounds started to decrease due to heat sensitivity. Furthermore, it was reported that TPC and AC values increased significantly with increasing amplitude value (30-50%) by Sirichan et al. (2022).

The loading capacity (5-15%) exhibited a significant linear effect ($P < 0.05$) on antioxidant activity, with decreasing loading capacity positively impacting AC. This result could be attributed to the increase in the diffusion rate of bioactive compounds triggered by concentration differences, acting as the driving force (Cacace and Mazza, 2003). Moreover, it can also be explained by the effective production of cavitation bubbles, resulting in a high volume-to-surface area ratio (Pandey et al., 2018). However, this factor did not have a significant effect ($P > 0.05$) on the total phenolic compounds within the range of 5-15% loading capacity in our results. In summary, while loading capacity (5-15%) affected AC, it did not statistically affect TPC. This result could indicate the presence of other antioxidant components such as tocopherols, carotenoids, and melanoidins apart from phenolic compounds.

In conclusion, the optimal process conditions for ultrasonic-assisted extraction of hazelnut skin were determined as 50 °C for temperature, 27 min for time, 5% for loading percentage, and 50% for amplitude, resulting in a desirability function of 0.96. In these conditions, the model predicted a

TPC of 129.69 mg GAE/g and an AC of 116.00 $\mu\text{mol TE/g}$. Upon experimental validation, the actual TPC and AC values were measured as 132.41 mg GAE/g and 125.03 $\mu\text{mol TE/g}$, respectively. Statistical analysis using the t-test revealed no significant difference between the predicted and experimental values for TPC and AC, indicating that the response surface methodology (RSM) model effectively predicted these responses in the ultrasonic-assisted extraction of hazelnut skin.

CONCLUSION

In this study, aqueous extracts rich in phenolic compounds and antioxidants were obtained from hazelnut skin using both CE and UAE methods. The effects of extraction conditions on TPC and AC were investigated using RSM. Optimal parameters were determined as 90°C temperature, 35 min time, and 5% loading capacity for CE, and 50°C temperature, 27 min time, 5% loading capacity, and 50% amplitude for UAE. The responses of the optimized extracts were similar between the two extraction methods, with TPC values of 136.52 mg GAE/g for CE and 132.41 mg GAE/g for UAE, and AC values of 126.03 $\mu\text{mol TE/g}$ for CE and 125.03 $\mu\text{mol TE/g}$ for UAE. Furthermore, there were no significant differences between the predicted and experimental values of TPC and AC for the optimized extracts. In summary, while both extraction methods yielded similar results, UAE offers the advantage of shorter extraction time. Therefore, UAE may be preferred for its efficiency. The aqueous extracts obtained from hazelnut skin, rich in phenolic compounds, can delay or prevent lipid oxidation and serve as natural antioxidants in the food industry, potentially replacing synthetic antioxidants. From an engineering point of view, understanding of optimum conditions in hazelnut skin extraction is crucial for scaling up to pilot and subsequently developing industrial applications.

CONFLICT OF INTEREST

There are no conflicts of interest or competing with the results of the presented article.

AUTHOR CONTRIBUTION

Merve ÖZDEMİR: Carrying out the experiments, data analysis, writing draft.

Mehmet TORUN: Writing, review, editing, supervision.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by Akdeniz University Scientific Research Projects (project number FYL-2022-5918).

REFERENCES

Açar, Ö. Ç., Gökmen, V., Pellegrini, N., Fogliano, V. (2009). Direct evaluation of the total antioxidant capacity of raw and roasted pulses, nuts and seeds. *European Food Research and Technology*, 229: 961-969, doi:10.1007/s00217-009-1131-z.

Alasalvar, C., Karamac, M., Kosinska, A., Rybarczyk, A., Shahidi, F., Amarowicz, R. (2009). Antioxidant activity of hazelnut skin phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11): 4645-4650, doi:10.1021/jf900489d.

Amirabbasi, S., Elhamirad, A. H., Saediasl, M. R., Armin, M., Ziaolhagh, S. H. R. (2021). Optimization of polyphenolic compounds extraction methods from Okra stem. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1): 717-734, doi: 10.1007/s11694-020-00641-8.

Asioli, D., Aschemann-Witzel, J., Caputo, V., Vecchio, R., Annunziata, A., Næs, T., Varela, P. (2017). Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. *Food Research International*, 99: 58-71, doi: 10.1016/j.foodres.2017.07.022

Bertino, A., Mazzeo, L., Gallo, V., Della Posta, S., Fanali, C., Piemonte, V. (2023). Polyphenols Extraction from Hazelnut Skin Using Water as Solvent: Equilibrium Studies and Quantification of the Total Extractable Polyphenols. *Chemical Engineering Transactions*, 102, 55-60, doi: 10.3303/CET23102010.

Bertolino, M., Belviso, S., Dal Bello, B., Ghirardello, D., Giordano, M., Rolle, L., Zeppa, G. (2015). Influence of the addition of different hazelnut skins on the physicochemical,

antioxidant, polyphenol and sensory properties of yogurt. *LWT-Food Science and Technology*, 63(2): 1145-1154, doi: 10.1016/j.lwt.2015.03.113.

Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—Chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8): 709, doi: 10.3390/antiox9080709.

Blomhoff, R., Carlsen, M. H., Andersen, L. F., Jacobs, D. R. (2006). Health benefits of nuts: potential role of antioxidants. *British Journal of Nutrition*, 96(S2): 52-60, doi: 10.1017/BJN20061864.

Bouafia, M., Colak, N., Ayaz, F. A., Benarfa, A., Harrat, M., Gourine, N., Yousfi, M. (2021). The optimization of ultrasonic-assisted extraction of *Centaurea* sp. antioxidative phenolic compounds using response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 25: 100330, doi: 10.1016/j.jarmap.2021.100330.

Cacace, J. E., Mazza, G. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering*, 59(4): 379-389, doi: 10.1016/S0260-8774(02)00497-1.

Chakraborty, S., Uppaluri, R., Das, C. (2020). Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) process for the recovery of bioactive compounds from bitter melon using response surface methodology (RSM). *Food and Bioprocess Technology*, 120: 114-122, doi: 10.1016/j.fbp.2020.01.003.

Chemat, F., Vian, M. A., Cravotto, G. (2012). Green extraction of natural products: Concept and principles. *International journal of molecular sciences*, 13(7): 8615-8627, doi:10.3390/ijms13078615.

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, doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.06.035.

- Ciğeroğlu, Z., Aras, Ö., Pinto, C. A., Bayramoğlu, M., Kırbaşlar, Ş. İ., Lorenzo, J. M., Barba, F.J., Saraiva, J.A., Şahin, S. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) leaves via D-optimal design and artificial neural network design with categorical and quantitative variables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(12): 4584-4596, doi: 10.1002/jsfa.8987.
- Contini, M., Baccelloni, S., Massantini, R., Anelli, G. (2008). Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. *Food Chemistry*, 110(3): 659-669, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.060.
- Del Rio, D., Calani, L., Dall'Asta, M., Brighenti, F. (2011). Polyphenolic composition of hazelnut skin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(18): 9935-9941, doi: 10.1021/jf202449z.
- Dinçel-Kasapoğlu, E., Kahraman, S., Tornuk, F. (2021). Optimization of ultrasound assisted antioxidant extraction from apricot pomace using response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6): 5277-5287, doi: 10.1007/s11694-021-01089-0.
- Dinkçi, N., Aktaş, M., Akdeniz, V., Sirbu, A. (2021). The Influence of hazelnut skin addition on quality properties and antioxidant activity of functional yogurt. *Foods*, 10(11): 2855, doi: 10.3390/foods10112855.
- Doğan-Cömert, E., Gökmen, V. (2017). Antioxidants bound to an insoluble food matrix: Their analysis, regeneration behavior, and physiological importance. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(3): 382-399, doi: 10.1111/1541-4337.12263.
- Fanali, C., Gallo, V., Della Posta, S., Dugo, L., Mazzeo, L., Cocchi, M., Piemonte, V., De Gara, L. (2021). Choline chloride–lactic acid-based NADES as an extraction medium in a response surface methodology-optimized method for the extraction of phenolic compounds from hazelnut skin. *Molecules*, 26(9): 2652, doi: 10.3390/molecules26092652.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> (2021) (Accessed: 28 June 2023)
- Fernández-León, M. F., Fernández-León, A. M., Lozano, M., Ayuso, M. C., Amodio, M. L., Colelli, G., González-Gómez, D. (2013). Retention of quality and functional values of broccoli 'Parthenon' stored in modified atmosphere packaging. *Food Control*, 31(2): 302-313, doi: 10.1016/j.foodcont.2012.10.012.
- Frankel, E. N. (1984). Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(12): 1908-1917, doi: 10.1007/BF02540830.
- Gökmen, V., Serpen, Fogliano, V. (2009). Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the 'QUENCHER' approach. *Trends in Food Science & Technology*, 20(6-7): 278-288, doi: 10.1016/j.tifs.2009.03.010.
- Göncüoğlu-Taş, N., Gökmen, V. (2015). Bioactive compounds in different hazelnut varieties and their skins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 43: 203-208, doi: 10.1016/j.jfca.2015.07.003.
- Göncüoğlu-Taş, N., Gökmen, V. (2017). Phenolic compounds in natural and roasted nuts and their skins: a brief review. *Current Opinion in Food Science*, 14: 103-109, doi: 10.1016/j.cofs.2017.03.001.
- Hefied, F., Ahmed, Z. B., Yousfi, M. (2023). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds and antioxidant activities From *Pistacia atlantica* Desf. galls using response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 32: 100449, doi: 10.1016/j.jarmap.2022.100449.
- Hemwimol, S., Pavasant, P., Shotipruk, A. (2006). Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Ultrasonics sonochemistry*, 13(6): 543-548, doi: 10.1016/j.ultsonch.2005.09.009.
- Jesus, M. S., Genisheva, Z., Romani, A., Pereira, R. N., Teixeira, J. A., Domingues, L. (2019). Bioactive compounds recovery optimization from vine pruning residues using conventional heating and microwave-assisted extraction

- methods. *Industrial Crops and Products*, 132: 99-110, doi: 10.1016/j.indcrop.2019.01.070.
- Kandemir, K., Piskin, E., Xiao, J., Tomas, M., Capanoglu, E. (2022). Fruit juice industry wastes as a source of bioactives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(23): 6805-6832, doi: 10.1021/acs.jafc.2c00756.
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D. U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15(5): 261-266, doi: 10.1016/j.tifs.2003.12.001.
- Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J. D., Martelli, A., Stévigny, C., Arlorio, M. (2010). Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions. *Food chemistry*, 119(4): 1647-1655, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.08.048.
- Longato, E., Meineri, G., Peiretti, P. G., Gai, F., Viuda-Martos, M., Pérez-Álvarez, J. Á., Amorowicz, R., Fernández-López, J. (2019). Effects of hazelnut skin addition on the cooking, antioxidant and sensory properties of chicken burgers. *Journal of food science and technology*, 56: 3329-3336, doi:10.1007/s13197-019-03813-7.
- Monagas, M., Garrido, I., Lebron-Aguilar, R., Gómez-Cordovés, M. C., Rybarczyk, A., Amarowicz, R., Bartolome, B. (2009). Comparative flavan-3-ol profile and antioxidant capacity of roasted peanut, hazelnut, and almond skins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(22): 10590-10599, doi: 10.1021/jf901391a.
- Myers, RH, Montgomery, DC. (2002). *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*. John Wiley and Sons, New York
- Odabaş, H. İ., Koca, I. (2016). Application of response surface methodology for optimizing the recovery of phenolic compounds from hazelnut skin using different extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 91: 114-124, doi: 10.1016/j.indcrop.2016.05.033.
- Pandey, A., Belwal, T., Sekar, K. C., Bhatt, I. D., Rawal, R. S. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction (UAE) of phenolics and antioxidant compounds from rhizomes of *Rheum moorcroftianum* using response surface methodology (RSM). *Industrial Crops and Products*, 119: 218-225, doi: 10.1016/j.indcrop.2018.04.019.
- Pelvan, E., Alasalvar, C., Uzman, S. (2012). Effects of roasting on the antioxidant status and phenolic profiles of commercial Turkish hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(5): 1218-1223, doi: 10.1021/jf204893x.
- Pelvan, E., Olgun, E. Ö., Karadağ, A., Alasalvar, C. (2018). Phenolic profiles and antioxidant activity of Turkish Tombul hazelnut samples (natural, roasted, and roasted hazelnut skin). *Food chemistry*, 244: 102-108, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.10.011.
- Rakshit, M., Srivastav, P. P. (2021). Optimization of pulsed ultrasonic-assisted extraction of punicalagin from pomegranate (*Punica granatum*) peel: A comparison between response surface methodology and artificial neural network-multiobjective genetic algorithm. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1): 5078, doi: 10.1111/jfpp.15078.
- Rohilla, S., Mahanta, C. L. (2021). Optimization of extraction conditions for ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from tamarillo fruit (*Solanum betaceum*) using response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15: 1763-1773, doi: 1007/s11694-020-00751-3.
- Saklar, S., Urgan, S., Katnas, S. (2003). Microstructural changes in hazelnuts during roasting. *Food research international*, 36(1): 19-23, doi: 10.1016/S0963-9969(02)00103-5.
- Serpen, A., Capuano, E., Fogliano, V., Gökmen, V. (2007). A new procedure to measure the antioxidant activity of insoluble food components. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(19): 7676-7681, doi: 10.1021/jf071291z.
- Serpen, A., Gökmen, V., Pellegrini, N., Fogliano, V. (2008). Direct measurement of the total antioxidant capacity of cereal products. *Journal of Cereal Science*, 48(3): 816-820, doi: 10.1016/j.jcs.2008.06.002.

- Shahidi, F., Alasalvar, C., Liyana-Pathirana, C. M. (2007). Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(4): 1212-1220, doi: 10.1021/jf062472o.
- Sirichan, T., Kijpatanasilp, I., Asadatorn, N., Assatarakul, K. (2022). Optimization of ultrasound extraction of functional compound from makiang seed by response surface methodology and antimicrobial activity of optimized extract with its application in orange juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 83: 105916, doi: 10.1016/j.ultsonch.2022.105916.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89(2): 191-198, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.02.025.
- Şahin, S., Şamlı, R. (2013). Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(1): 595-602, doi: 10.1016/j.ultsonch.2012.07.029.
- Tezel, Ö., Yıldız, E. (2020). Sürdürülebilir Atık Yönetimi Uygulamalarında Dünya ve Türkiye Karşılaşması: EDİKAB Örneği. *Sosyal Bilimler Araştırma Dergisi*, 9(2): 35-48
- Torun, M., Dincer, C., Topuz, A., Sahin-Nadeem, H., Ozdemir, F. (2015). Aqueous extraction kinetics of soluble solids, phenolics and flavonoids from sage (*Salvia fruticosa* Miller) leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 52: 2797-2805, doi: 10.1007/s13197-014-1308-8.
- Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics sonochemistry*, 8(3): 303-313, doi: 10.1016/S1350-4177(01)00071-2.
- Wani, K. M., Uppaluri, R. V. (2022). Efficacy of ultrasound-assisted extraction of bioactive constituents from Psidium guajava leaves. *Applied Food Research*, 2(1): 100096, doi: 10.1016/j.afres.2022.100096.
- Wijeratne, S. S., Abou-Zaid, M. M., Shahidi, F. (2006). Antioxidant polyphenols in almond and its coproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(2): 312-318, doi: 10.1021/jf051692j.
- Xu, X., Liu, A., Hu, S., Ares, I., Martínez-Larrañaga, M. R., Wang, X., Martínez, M., Anadon, A., Martínez, M. A. (2021). Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. *Food Chemistry*, 353: 129488, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129488.
- Yılmaz, F. M., Görgüç, A., Karaaslan, M., Vardin, H., Ersus Bilek, S., Uygun, Ö., Bircan, C. (2019). Sour cherry by-products: Compositions, functional properties and recovery potentials—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(22): 3549-3563, doi: 10.1080/10408398.2018.1496901.



GIDA MİKROBİYOLOJİSİ VE GENETİK: *ESCHERICHIA COLI*
Sayın Prof. Dr. Nezihe Tunail anısına, saygılarımızla

Elif Bircan Muyanlı^{1,2}, Remziye Yılmaz^{2,3*}

¹FoodOmics Laboratuvarı, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

²Gıda Mühendisliği Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

³Uluslararası Gıda Biyogüvenlik ve Biyoteknoloji Araştırma ve Yayın Merkezi (IFBBC), Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Geliş /Received 08.10.2023; Kabul /Accepted: 12.03.2024; Online baskı /Published online: 29.03.2024

Muyanlı, E.B., Yılmaz, R. (2024). Gıda mikrobiyolojisi ve genetik: *Escherichia coli*. GIDA (2024) 49 (2) 342-355 doi: 10.15237/gida.GD23120

Muyanlı, E.B., Yılmaz, R. (2024). *Food microbiology and genetics: Escherichia coli*. GIDA (2024) 49 (2) 342-355 doi: 10.15237/gida.GD23120

ÖZ

Gıda mikrobiyolojisi, gıdaların üretimi, kalitesi ve güvenliği üzerinde etkisi olan mikroorganizmaların incelenmesine odaklanırken, mikrobiyel genetik, mikroorganizmaların kalıtsal bilgi mekanizmalarının araştırılmasıyla ilgilenir. Mikrobiyel genetik, öncü bir disiplin olan mikrobiyoloji ve genetik mühendisliği içinde bir alandır. Bu alan, genlerin nasıl çalıştığını ve nasıl kontrol edildiğini anlamak, farklı mekanizmalarla çalışan gen ürünlerini belirlemek gibi amaçlarla mikroorganizmaları analiz eder. Bu çalışmada gıda mikrobiyolojisi ve genetik başlığını anlamamıza yardımcı olan *Escherichia coli* gibi önemli bir model mikroorganizma üzerinden giriş niteliğinde bir inceleme yapılmıştır.

Anahtar kelimeler: Gıda mikrobiyolojisi, bakteriyel genetik, *Escherichia coli*

FOOD MICROBIOLOGY AND GENETICS: *ESCHERICHIA COLI*

ABSTRACT

Food microbiology focuses on examining microorganisms that impact the production, quality and safety of food, while microbial genetics is concerned with investigating the genetic information mechanisms of microorganisms. Microbial genetics is a field within the pioneering discipline of microbiology and genetic engineering. Microbial genetics analyzes microorganisms to understand how genes function and how they are regulated. It also identifies gene products that operate through various mechanisms. This study provides an introductory examination by investigating a significant model microorganism such as *Escherichia coli*, which helps us to understand food microbiology and genetics.

Keywords: Food microbiology, bacterial genetics, *Escherichia coli*

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

E-mail: remziye@hacettepe.edu.tr, Tel: (+90) 312 297 7106

Elif Bircan Muyanlı; ORCID no: 0000-0001-5279-9131

Remziye Yılmaz; ORCID no: 0000-0003-2041-1205

GİRİŞ

Bir gıdada bulunması muhtemel tüm mikroorganizmalar yararlı, saprofit ve patojen özellikte olmakla birlikte tümü gıda bilimi ve teknolojisi açısından önem arz etmektedir (Lorenzo vd., 2018). Gıda biliminin bir disiplini olan gıda mikrobiyolojisi, gıdalarda bulunan mikroorganizmaların tanımlanmasına, gelişme özelliklerine ve biyolojisine odaklanmaktadır (USDA, 2011).

Genetik, DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) dizisindeki değişikliklerin bir sonucu olarak ebeveynlerden yavrulara belirli niteliklerin veya özelliklerin nasıl geçtiğinin araştırıldığı bir alandır (Bigler, 2023; NIGMS, 2023). Genetik araştırmalar, bireysel genlerin veya gen gruplarının bir canlı organizmada işleyen sisteme nasıl dâhil olduğunu inceler ve kısaca genlerin davranışlarıyla ilgilenen biyoloji dalı olduğu söylenebilir (Petreaca, 2013). Mikrobiyel genetik ise, bakteriler, arkealar, virüsler, bazı protozoalar ve funguslar dahil mikroorganizmalardaki kalıtsal bilgi mekanizmalarının incelenmesi ile ilgilenmektedir. Mikrobiyel genetik, hüresel süreçlerin düzenlenmesinin yanı sıra işlevsel ve metabolik yolak organizasyonunun çözümlenmesi için güçlü araçlar sağlar (Weinstock, 2013). Bu, hem bireysel gen ifadesini kontrol eden düzenleyici genlerin ve bölgelerin keşfedilmesini hem de hangi genlerin düzenlendiğini, dolayısıyla sürece birlikte davranış olasılığının belirlenmesini içerir. Çoğu zaman eş düzenlenmiş genler, aynı transkripsiyonel birimde yan yana yer alabilir, ancak eş güdümlenmiş çok sayıda dağılmış gen kümesi görülmesi de mümkündür (Alberini, 2009).

Bakteriyel genetik, genetik bilginin belirli bir bakteriden diğerine ya da bakteri soylarına nasıl aktarıldığını, nasıl ifade edildiğini ve bakterinin fizyolojisini (fenotip) nasıl belirlediğinin incelenmesini içerir (Maloy, 2001). Bazen genetik varyasyon veya bakteriler arasındaki genetik bilgi aktarımı mutasyonlara yol açabilir. Bakteri popülasyonlarının büyüklüğü göz önüne alındığında son derece nadir genetik olayların bile meydana gelme olasılığı bulunur (Holmes ve Jobling, 1996). Böylece aynı türe ait farklı suşlar

arasında genetik varyasyon (polimorfizm) oluşmaktadır. Laboratuvarında, bakterilerin özelliklerini incelemek, gen transferi ve gen ifadesinin temel özelliklerini keşfetmek ve istenen özelliklere sahip mutantlar oluşturmak için genetik varyasyondan yararlanılır (Maloy, 2013). *Escherichia coli*, prokaryotlar için model mikroorganizma olmasından dolayı en çok çalışılan bakteridir ve biyolojideki birçok temel kavramın geliştirilmesinde etkili olmuştur (CDC, 2022a; Ruiz ve Silhavy, 2022). Pek çok araştırmacı daha basit bakteri sistemi ile çalışmaya başladığında araştırmalarda *E. coli*'nin merkezi rolü üstlendiği görülebilir (Denamur vd., 2021). *Escherichia coli* suşları arasında yüksek derecede polimorfizm olmasına rağmen hala model organizma olarak sıklıkla çalışılmaktadır (Pitout ve Finn, 2020). Bu çalışmada, bakteri genetiği model organizma olarak kullanılan *E. coli* üzerinden tartışılacaktır.

Escherichia coli

Escherichia coli, normal bağırsak florasında bulunan enterik bir bakteridir (Martinson ve Walk, 2020). Çok az mikroorganizma *E. coli* kadar çok yönlüdür (Kaper vd., 2004). Temel biyolojik süreci araştırmak için ilk tercih olarak seçilen ve en iyi anlaşılan yaşayan organizmalardan biri olduğu için, moleküler genetikte bir model organizma olarak kullanılmaktadır (Taj vd., 2014). *Escherichia coli*, memeliler ve kuşlar için fırsatçı bir patojen, omurgalı bağırsak mikrobiyotasında bulunan bir bakteridir (Foster-Nyarko ve Pallen, 2022).

Escherichia coli'nin temel genleri hücre içinde paketlenmiş tek orijinli dairesel bir kromozom üzerine kodlanmıştır (Griswold, 2008). *Escherichia coli* genomu (kromozomu) iki replikasyon çatalının zıt yönlerde ilerlediği bir orijine sahiptir (O'Donnell vd., 2013). Her bakteri hücresindeki gibi *E. coli*'deki genetik bilgi akışı DNA'dan RNA'ya ve proteine doğru tek yönlüdür (Holmes ve Jobling, 1996). Genler, protein sentezini yöneterek bir hücredeki faaliyetleri ve işlevleri yönlendirir. Gen ifadesi veya gen ekspresyonu (Çizelge 1), bir gende kodlanan bilginin bir işleve veya bir karaktere dönüştürülmesi işlemidir (Holmes ve Jobling, 1996). Proteinleri kodlayan

RNA moleküllerinin veya diğer işlevlere hizmet eden kodlayıcı olmayan RNA moleküllerinin transkripsiyonu yoluyla gerçekleşir (Wang ve Farhana, 2023).

Çizelge 1. Bir gen dizisinin olgun bir gen ürününe (protein veya RNA) dönüştürüldüğü işlemin bir RNA transkriptinin üretimini ve protein kodlayan genler için işlenmesini, çevrilmesini ve olgunlaşmasını GO:0010467 terimi üzerinden EcoCyc veri tabanı temel alınarak açıklaması.

Escherichia coli K-12 substr. MG1655

Gen Ontoloji Terimleri Sınıfı: GO:0010467-gen ifadesi

Ana Sınıf	GO:0043170- makromolekül metabolik süreci	Yüksek nispi moleküler kütleyle sahip herhangi bir molekülü içeren kimyasal reaksiyonlar ve yollar, yapısı esasen düşük nispi moleküler kütleyle sahip moleküllerden fiilen veya kavramsal olarak türetilen birimlerin çoklu tekrarından oluşur.	
Alt Birimler	GO:0097659-nükleik asit şablonlu transkripsiyon	GO:0032774-RNA biyosentetik süreci	GO:0006351-DNA şablonlu transkripsiyon
	GO:0051604-protein olgunlaşması (Bir proteinin tam işlevsel kapasitesinin elde edilmesine yol açan herhangi bir süreç)	GO:0019538-protein metabolik süreci	GO:0006474-N-terminal protein amino asit asetilasyonu GO:0009249-protein lipoilasyonu (Peptidil-lizinin peptidil-N6-lipoil-L-lizine oluşturmak üzere lipoilasyonu) GO:0016485-protein işleme GO:0022417-protein katlanmasıyla protein olgunlaşması GO:0097428-demir-kükürt kümesi transferi ile protein olgunlaşması GO:0110147-nikel iyonu transferi ile protein olgunlaşması
	GO:0006412-Translasyon	GO:0009059-makromolekül biyosentetik süreci GO:0019538-protein metabolik süreci GO:0043043-peptit biyosentetik süreci	GO:0006413-translasyon başlangıcı GO:0006414-uzama GO:0006415-translasyon sonlandırma GO:0006418-protein translasyonu için sentez sırasında yeni oluşan polipeptit zincirlerinin dizisine amino asitlerin eklenmesine aracılık etmekten sorumlu nispeten küçük RNA moleküllerinin (tRNA) aminoasilasyonu GO:1990145-translasyon tamiri
	GO:0006396-RNA işleme	GO:0016070-RNA metabolik süreci	GO:0000966-RNA 5' uçlu işleme GO:0006397-DNA'dan kopyalanan genetik 'mesajı' ribozomlardaki protein toplanma bölgelerine taşımaktan sorumlu mRNA işleme GO:0008380-RNA ekleme GO:0031123-RNA 3' uçlu işleme GO:0034470-Bir veya daha fazla birincil kodlamayan RNA (ncRNA) işleme GO:0036260-RNA kapatma

Tek bir *E. coli* hücresi, bir bakteriyofajın sahip olduğu DNA baz çifti uzunluğunun yaklaşık 100 katı kadar DNA baz çifti içerir (Shao vd., 2015; Henderson, 2020). *E. coli* genomu kendi uzunluğunun yaklaşık 850 katı uzunluğunda 4639221 baz çifti içeren tek bir çift sarmallı dairesel DNA'dan oluşmaktadır (Makalowski,

2001). Kromozom, birlikte kopyalanan ve ilgili biyolojik süreçlerde yer alan genlerden oluşan, operon adı verilen işlevsel birimler halinde düzenlenir. *Escherichia coli* suşlarının genomu, 3900–5800 gene karşılık gelmektedir ve replikasyon sırasında DNA fragmanlarının sık sık silinmesinden dolayı 4.2 ila 6.0 Mbp arasında

değişir (Denamur vd., 2021). *Escherichia coli*'deki genlerin yaklaşık yarısının bir operonun parçası olarak kopyalandığı düşünülmektedir (Okuda vd., 2007).

Escherichia coli genomu, hücre metabolizması, DNA replikasyonu ve onarımı, protein sentezi ile gen ekspresyonunun düzenlenmesi gibi farklı hücresel işlevlerden sorumlu birçok farklı geni

kodlar. *Escherichia coli* genomunu anlamak, gıda mikrobiyolojisindeki biyolojik süreçleri daha iyi anlamaya yardımcı olur ve gıda biyoteknolojisi araştırmalarında çok sayıda uygulamaya olanak sağlar. *Escherichia coli* ATCC® 29055™ (*E. coli*) suşu gen ve genom özellikleri Çizelge 2'de verilmiştir (ATCC, 2024).

Çizelge 2. *E. coli* özellikleri.

Suş ismi	<i>Escherichia coli</i> (ATCC® 29055™)
Uzunluk	4.588.376 nükleotit (nt)
Contig Sayısı	4 (0 Dairesel)
N ₅₀	4.423.368 nt
%GC	%50.83
Genotip	F-thr-leu-his-pro-arg-lac-gal-ara-xyl-mtl-T6r str-r*
CDS sayısı	4.245
Varsayımsal Proteinlerin Sayısı	758
tRNA sayısı	87
5s rRNA sayısı	8
16s rRNA sayısı	7
23s rRNA sayısı	7

*F: F plazmiti, thr:treonin, leu:lösin, his:histidin, pro:prolin, arg:arjinin, lac:laktozun taşınması ve metabolizması için gerekli operon; gal:galaktozun taşınması ve metabolizması için gerekli operon; ara: *E. coli*'deki L-arabinozun parçalanması için gerekli operon; xyl:ksiloz operonu mtl:mannitol operonu, T6: *E. coli* bakterilerini enfekte eden bir bakteriyofaj suşu, Str R:streptomisin direnci.

Bakterilerde gen ekspresyonunun dış koşullarla birleşmesi transkripsiyon faktörlerinin (TF'ler) genomdaki belirli bölgelere bağlanması ve ilgili efektör sinyalin veya metabolitin tanınması ile gerçekleşir (Martínez-Antonio vd., 2008). Yapılan deneysel çalışmaların sonucunda, *E. coli*'de TF'leri ve bunların düzenlenmiş genleri arasında 3000'den fazla düzenleyici etkileşim olduğuna ilişkin veriler RegulonDB adı verilen özel bir veri tabanına entegre edilmiş ve belgelenmiştir (Salgado vd., 2006). *Escherichia coli*'nin hiyerarşik bir organizasyonu ve transkripsiyonel düzenleyici ağlarını vurgulayan kapsamlı çalışmalar da gerçekleştirilmiştir (Shen-Orr vd., 2002; Dobrin vd., 2004; Ma vd., 2004; Vasilyev vd., 2024). Bu çalışmalar, *E. coli* için çevresel koşullara bağlı olarak transkripsiyonun başlatılmasının, pek çok diziye özgü transkripsiyon faktörleri ve

nükleotitle ilişkili proteinler tarafından hassas bir şekilde ayarlandığını göstermiştir.

Mutasyonlar, genomdaki kalıtsal değişikliklerdir. Bakterilerde bireysel olarak spontan mutasyonlar nadirdir. Bir organizmanın genotipinde kendiliğinden meydana gelebilen veya kimyasal yada fiziksel işlemlerle indüklenebilen kalıtsal değişikliklere mutasyon, referans suş olan organizmaya “yabani tip (wild type)” ve bu organizmanın mutasyonlu soylarına ise “mutant” denir (Najafi ve Pezeshki, 2013). Kalıtsal farklılıklarına göre ayırım yapılabileceği gibi; seçici ortamda büyüme ile yabani tip ve mutant suşlar arasında fenotipik özelliklere göre de ayırım yapılabilir (Holmes ve Jobling, 1996; Nichols vd., 2011). Örneğin, laktozu fermente eden fenotip Lac⁺, laktozu fermente edememe durumu ise Lac⁻ olarak ifade edilmektedir. β-galaktosidaz kodlayan

E. coli'ye ait *lacZ* geninin nükleotit dizisi ilk kez 1983 yılında dizilenmiştir (Kalnins vd., 1983). Bu çalışmada bu genin 1023 kodondan oluştuğu hesaplanmıştır. Ancak Beal vd. (2023)'e göre *E. coli lacZ* genine ait verilerin biyoinformatik yöntemler ile analizine dayanarak *lacZ* geninde β -galaktosidaz fonksiyonunu bozan 2732 hatalı mutasyon karakterize edilmiştir (Beal vd., 2023). Yanlış mutasyonlar 1023 *lacZ* kodonunun 492'sini (%48) etkilediği ve β -galaktosidaz enzimin katalitik aktivitesini etkileyen yapısal özelliklerin daha iyi anlaşılması gerektiği vurgulanmıştır.

Genetik bilginin aktarımı

Bakterilerde genetik bilginin aktarımı süreci, bir donörden bir alıcıya genetik bilginin transferini içerir ve bakteriler arasında gen transferi temel olarak transformasyon, konjugasyon ve transdüksiyon ile gerçekleşmektedir (Trevors, 1999). Transformasyon bir bakteri ortamındaki serbest DNA parçasının alınması ile gerçekleşir (Maloy, 2001; Iranzadeh ve Mulder, 2019). *Haemophilus*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Bacillus* gibi bazı bakteri türleri doğal olarak bakterilerin serbest DNA parçalarını bağlama yetkinliğine sahipken *E. coli* ve diğer birçok bakteri laboratuvar koşullarında kalsiyum klorür (CaCl_2) çözeltilerine maruz bırakılarak yapay olarak yetkin hale getirilir (Kadner ve Rogers, 2023).

DNA'nın, doğrudan fiziksel temas yoluyla bakteriler arasında özellikle plazmitlerin aktarılması işlemine konjugasyon denir (Raleigh ve Low, 2013). DNA konjugasyonu sırasında, bir plazmit (küçük, dairesel bir DNA parçası) içeren bir donör bakteri hücresi, kendisini bir alıcı bakteri hücrelerine fiziksel olarak bağlayan bir konjugasyon köprüsü veya pilus oluşturur (Virolle vd., 2020). Plazmit DNA daha sonra bu bağlantı yoluyla donörden alıcıya aktarılır böylece alıcı hücre DNA konjugasyonu yoluyla yeni özellikler ve yetenekler kazanabilir (Kadner ve Rogers, 2023; NHGRI, 2023). Birçok konjugatif plazmit, çok sayıda farklı Gram negatif bakteri türü arasında aktarılabilir ve çoğalabilir (De La Cruz vd., 2010). Gram pozitif *Enterococcus* cinsinde de konjugasyon gözlenmiştir, ancak hücre tanıma ve DNA transferinin mekanizması Gram negatif bakterilerde meydana gelenden farklıdır

(Grohmann vd., 2003). Birçok çalışma, bakterilerde gen fonksiyonlarında konjugasyonun oynadığı rolü incelemiştir. Headd ve Bradford (2020) tarafından elde edilen verilere göre konjugasyonun *E. coli* hücreleri bölündükten sonra ve gelişmenin stabil kaldığı aşamaya geçmeden önce gerçekleştiği gösterilmektedir (Headd ve Bradford, 2020).

Transdüksiyon ise bakteriyofajlar aracılığı ile gerçekleşmektedir (Fillol-Salom vd., 2019). Faj olarak da bilinen bakteriyofajlar, genetik materyallerini konakçı bakteri hücrelerine enjekte etme yeteneğine sahiptir ve bazen bu işlem sırasında, donör hücreden bakteriyel DNA'nın küçük bir bölümünü de alabilirler (Kasman ve Porter, 2021). Bakteriyel DNA'nın viral genoma bu şekilde dahil edilmesine transdüksiyon denir (Kadner ve Rogers, 2023). Örneğin şiga toksini (Stx) üreten *Escherichia coli* (STEC), ishalden şiddetli hemorajik enterite kadar çeşitli hastalıklara ve bazen hemolitik üremik sendrom (HUS) ve ensefalopati gibi yaşamı tehdit eden komplikasyonlara neden olan önemli gıda kaynaklı patojenlerdir (Siegler, 1994; Joseph vd., 2020). Stx, bu ciddi hastalıkların başlangıcından sorumlu olan temel virülans faktörüdür. O26:H11 Stx üreten *Escherichia coli*'nin evrimi boyunca Shiga toksini (Stx) 1 transdüksiyon fajındaki dinamik değişikliklere dair yapılan çalışmada (Yano vd., 2023) Stx genlerinin, lizojenik duruma girmek için konakçı kromozomlarına entegre edilen ılıman bakteriyofajlar (Stx fajları) tarafından kodlandığı açıklanmıştır.

Rekombinant DNA yöntemleri

Hibrit DNA moleküllerini rekombinant DNA yapmak ve karakterize etmek için birçok yöntem mevcuttur. Bu tür yöntemler, hibrid replikonlarda spesifik genlerin izole edilmesini, bunların nükleotit sekanslarının belirlenmesini ve belirlenmiş lokasyonlarda mutasyonlar yaratılmasını içerir (Alberts vd., 2002). Bir klon, tek bir atadan eşeysiz üreme yoluyla türetilen bir organizma veya molekül popülasyonudur. Gen klonlama, yabancı genleri hibrit DNA replikonlarına dâhil etme işlemidir. Klonlanmış genler, uygun konakçı hücrelerde ifade edilebilir ve belirledikleri fenotipler analiz edilebilir.

Rekombinant DNA yöntemleri, herhangi bir kaynaktan alınan spesifik DNA fragmanlarının, iyi karakterize edilmiş bakterilerde, ökaryotik hücrelerde veya in vitro çalışılabilen vektörlere klonlanmasını mümkün kılar. İyi bilinen genetiği, çok sayıda uyumlu moleküler aracı olması nedeniyle rekombinant DNA teknolojisi ile enzimlerin ve diğer proteinlerin üretiminde *E. coli* en çok kullanılan konakçı mikroorganizma olmuştur ve bu durum devam etmektedir (Kaper vd., 2004; Fakruddin vd., 2013). Bunun nedeni *E. coli*'nin heterolog proteinleri eksprese etmek için hızlı büyüme, çeşitli kültür besiyerleri veya genetik modifikasyonlar elde etmek için tasarlanmış çok sayıda modelin varlığı gibi çeşitli avantajları olması ile açıklanabilir (Huang vd., 2012; Blount, 2015; Idalia ve Bernardo, 2017; Lee vd., 2017; Xu vd., 2020). Hatta heterolog proteinlerin yüksek düzeyde üretimi için geniş bir ekspresyon plazmit kataloğu, çok sayıda tasarlanmış suş ve birçok

geliştirme stratejisi gibi moleküler araç ve protokoller mevcuttur (Rosano ve Ceccarelli, 2014).

Gen regülasyonu

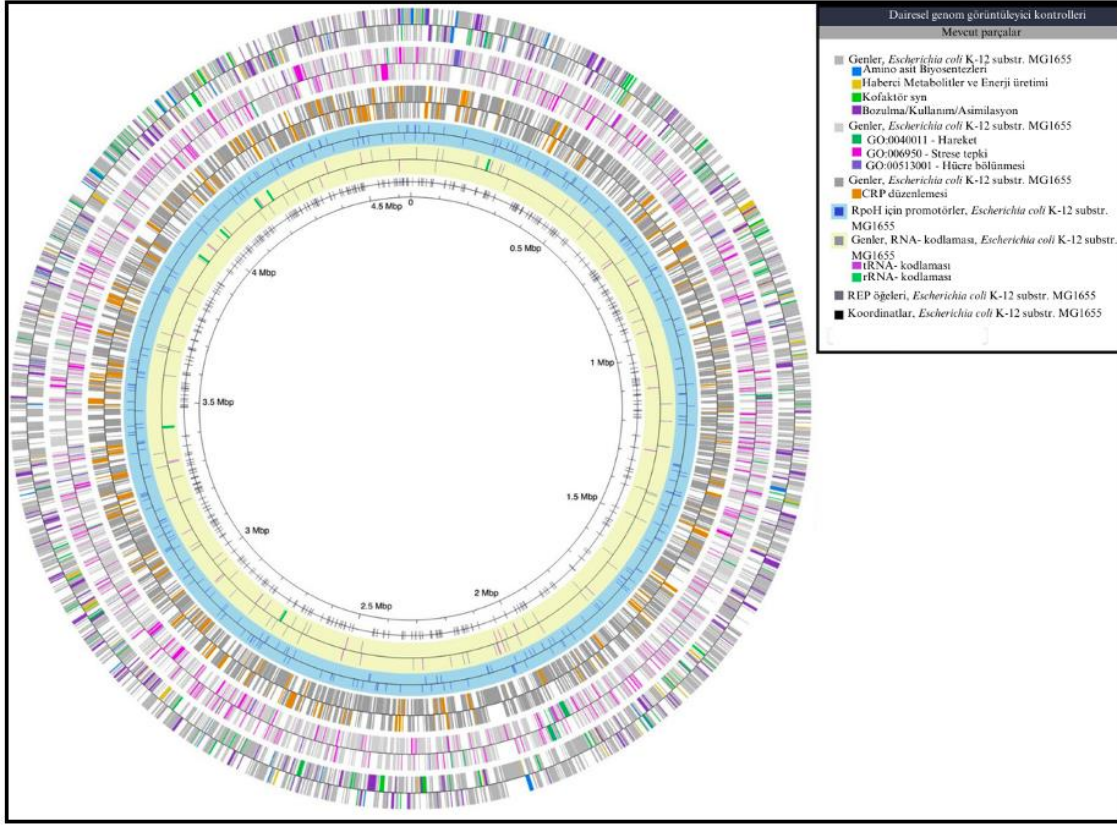
Literatür enzim işlevi, gen regülasyonu ve genetik mühendisliği üzerine araştırmalar da dahil olmak üzere, *E. coli* hakkında yüzyılı aşkın bir süredir yapılan araştırmaları bildirmektedir (Keseler vd., 2021). Uzun araştırma geçmişine rağmen, çok sayıda genin işlevi hala bilinmemektedir (Ghatak vd., 2019). Bu nedenle model organizma veri tabanlarına ihtiyaç artmıştır ve *Escherichia coli* için deneysel verileri toplayıp, özetleyen EcoCyc gibi veri tabanları oluşturulmuştur. EcoCyc *Escherichia coli* K-12 MG1655 bakterisi için bilimsel bir veri tabanıdır ve sürüm 27.5 için bulunan veri türlerine genel bir bakış Çizelge 3'te gösterilmiştir (Karp vd., 2021).

Çizelge 3. Sürüm 27.5 EcoCyc içeriği ve *Escherichia coli* gen fonksiyonları.

Veri Tipi	Veri tabanı nesnesi sayısı
Kromozom	
Toplam gen	4703
Protein genleri	4328
RNA genleri	229
Psödojenler	146
Boyut(bp)	4.641.652
Genler	4704
Yolaklar	376
Enzimatik reaksiyonlar	2347
Taşıma reaksiyonları	540
Polipeptitler	4482
Protein kompleksleri	1177
Enzimler	1734
Taşıyıcılar	485
Bileşikler	3024
Transkripsiyonel birimler	3718
tRNAlar	89
Besiyeri	439
Transkripsiyonel düzenleme	5899
Protein özellikleri	41500
Fenotip mikrodizi veri kümeleri	5
GO terimleri	69043
Gene Essentiality veri kümeleri	6

Bu veri tabanı, bir dairesel genom görüntüleyici ile genler, promotörler, bağlanma bölgeleri ve diğer ekstrasjenik bölgeleri içeren bir dizi eş merkezli daire olarak kromozom organizasyonunun genel

bir görünümünü de sağlamaktadır (Şekil 1) (EcoCyc, 2024).



Şekil 1. Çeşitli özellik türlerini, filtreleme ve vurgulama seçeneklerini gösterimi ve en dıştaki daireden içe doğru sıralandığı *Escherichia coli* K-12 substr. MG1655 referans genomu EcoCyc Dairesel Genom Görüntüleyici ekranı kullanılarak oluşturulmuştur (Keseler vd., 2021).

Bütün genom bilgisinin yanı sıra aynı veri tabanında yalnızca bir gen ve bu gen üzerindeki düzenleyici etkilere ilişkin temel bilgilere ulaşılabilir. Şekil 2'de *lacZ* geni üzerindeki düzenleyici etkilerin özeti verilmiştir (Mackie, 2015).

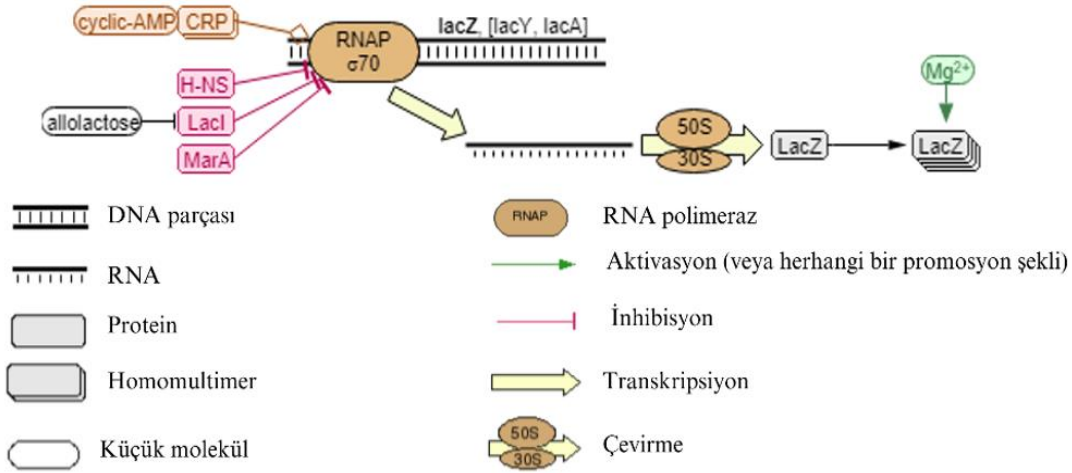
Bakteriler gen düzenlemek için operonları kullanır. *lac* operonunu kontrol ederek, bakteri hücreleri laktöz şekerinin varlığına yanıt olarak gen ifadesini düzenleyebilir. *Lac* operonu *lacZ* (β -Galaktosidaz enzimini kodlar), *lacY* (permeaz enzimini kodlar) ve *lacA* (asetilaz enzimini kodlar) olmak üzere üç genden oluşur.

Tüm Genom Dizileme (WGS, Whole Genome Sequencing)

Tüm genom dizileme bir organizmanın DNA'sının tüm dizisini belirleyerek genetik bilgilerin kapsamlı bir analizini sağlayan bir tekniktir (CDC, 2022b). Tüm genom dizileme ile tüm genetik materyalin tam bir haritası oluşturulduğu için organizmanın genetik varyasyonları, tekrarlayan dizileri, mutasyonları ve diğer genetik özellikleri incelenebilmektedir (Roach vd., 1995; Roach vd., 2010; Lewis, 2013). WGS, DNA bazlı veya RNA bazlı sekanslama yöntemlerini içermektedir (Alberts vd., 2002). DNA bazlı genom sekanslama yöntemleri, organizmanın DNA'sının dizisini belirlemek için

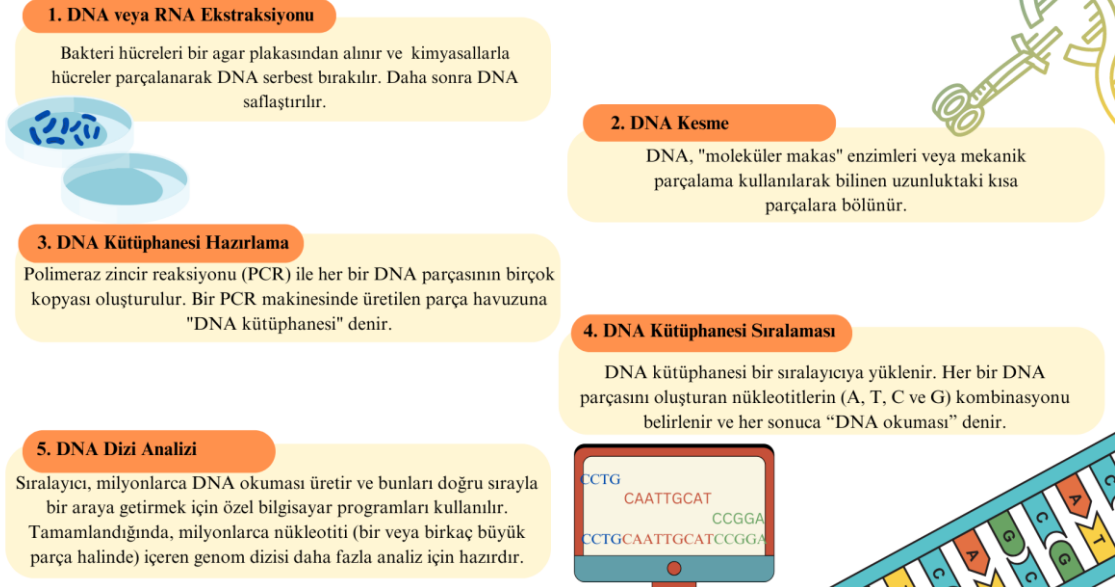
kullanılır. Uzun DNA parçalarının tek sarmal dizilenmesini sağlayan Sanger dizileme ve kısa parçaların aynı anda yüksek sayıda dizilenmesini sağlayan yeni nesil dizileme (Next-Generation Sequencing-NGS) yöntemleri DNA bazlı genom sekanslama yöntemlerindedir (KhanAcademy, 2023). RNA bazlı genom sekanslama yöntemleri ise, organizmaların transkriptomunu (tüm RNA

moleküllerini) incelemek için kullanılır. Burada amaç organizmanın tüm transkriptlerinin dizisini belirlemektir. RNA-Seq ve kütüphane tabanlı RNA sekanslama yöntemleri RNA bazlı genom sekanslama yöntemlerindedir (Kukurba ve Montgomery, 2015). Şekil 3'te tüm genom sekanslama basamakları verilmiştir (CDC, 2022b).



Şekil 2. *LacZ* üzerindeki düzenleyici etkilerin özeti.

TÜM GENOM SEKANSLAMA



Şekil 3. Tüm genom sekanslama basamakları.

Bir *E. coli* suşunun (*E. coli* K-12) ilk tüm genom dizisi 1997'de yayınlanmıştır (Blattner vd., 1997). O zamandan beri binlerce *E. coli* izolatının dizileri elde edilmiş (NCBI, 2024) ve mevcut verilerden, *E. coli* genomunun (plazmitleri ve profajı içeren) boyutunun değişebileceği anlaşılmaktadır. Bununla birlikte, tüm genom dizilimi, alelik varyasyona veya serotipleme gibi gen içeriğindeki farklılıklara dayanan *E. coli* alt türlerini doğru bir şekilde belirlemek için kullanılabilir (Ingle vd., 2016). Tüm genom dizilimi aynı zamanda dizi tiplemesinin temelini oluşturan *E. coli*'nin çekirdek genomundaki tek nükleotit polimorfizmleri hakkında bilgi sağlar ve bireysel suşların evrimini ve yayılmasını izlemek için diğer sistemlerden daha güvenilirdir (Robins-Browne vd., 2016).

***E. coli* ve CRISPR teknolojisi**

Genom düzenleme, özellikle bilimsel ve endüstriyel önemi olan mikroorganizmalardaki fizyolojik ve metabolik süreçlerin genetik temelini araştırmaları için oldukça önem arz etmektedir (Li vd., 2016; Liang vd., 2017). Bakterilerde genom düzenlemeye yönelik mevcut en son teknoloji yaklaşımı, bir DNA şablonunun homolog rekombinasyonunu CRISPR-Cas (Kümelenmiş, düzenli aralıklı kısa palindromik tekrarlar (CRISPR)/CRISPR ile ilişkili protein (Cas)) sistemlerinde programlanabilir nükleazlar tarafından hedeflenen DNA ile birleştirmektir (Arroyo-Olarte vd., 2021). CRISPR ilk olarak *Escherichia coli*'de (Ishino vd., 1987) keşfedilmiş ve son zamanlarda birçok bakteride (Sorek vd., 2008) tanımlanmıştır. CRISPR'lar, diziye özgü bir şekilde nükleik asidi hedefleyerek virüslere ve plazmitlere karşı kazanılmış bağışıklık sağlar (Horvath ve Barrangou, 2010). *Escherichia coli*'de CRISPR-Cas sistemlerinin transkripsiyonel baskılayıcı özelliği nedeniyle laboratuvar koşullarında aktif olmadığı genel olarak kabul edilmektedir. Doğal izolatlarda, CRISPR dizilerinin yıllar boyunca sabit kaldığı ve çoğu aralayıcı hedefin (protospacer) bilinmediği gösterilmiştir. Son yıllarda bu konuda yapılan çalışmalar bilinen doğal *E. coli* aralayıcı kütüphanesini de %60 oranında genişletmiştir (Dion vd., 2024).

Escherichia coli, etanol, yüksek alkoller, yağ asitleri, amino asitler, şikimat türevleri, terpenoidler, poliketidler gibi kimyasalların üretiminde en yaygın kullanılan hücresel fabrikalardan biridir (Yang vd., 2021). Bu biyokimyasalların üretimine yönelik metabolik mühendislik, verimliliğin artması için hücresel metabolizmanın yeniden düzenlenmesini gerektirir. Genom düzenleme, zaman kazandıran sıralı veya çoklu manipülasyonları gerçekleştirmek için etkili araçlar sağlamaktadır (Dong vd., 2021). Daha önce gen silme ve yerleştirme de dahil olmak üzere çeşitli hassas genom modifikasyonlarını en yüksek verimlilikle gerçekleştirmek için *Streptococcus pyogenes* Tip II CRISPR-Cas9 sistemini kullanarak *Escherichia coli* genomuna hedefli, sürekli bir çoklu gen düzenleme stratejisi uygulanarak üç hedefe kadar eşzamanlı çoklu gen düzenleme gerçekleştirilmiştir (Jiang vd., 2015). Etkili bir gen düzenleme aracı olan CRISPR yanı sıra CRISPR müdahalesi de (CRISPRi) programlanabilir gen baskılaması için tasarlanmıştır (Wu vd., 2017). Emek yoğun çalışmalar sonunda tasarlanmış *E. coli* suşunun gelişimi, yinelenmeli gen mutasyonunu, bir genin silinmesini veya eklenmesini içerebilmektedir (Maeder ve Gersbach, 2016). CRISPR ve CRISPRi ayrı ayrı kullanılabilmesi gibi birlikte ele alındığında, CRISPR ve CRISPRi kombinasyonu ile *E. coli*'nin metabolik mühendisliğinin yapılabilirliği gösterilmiştir (Wu vd., 2017).

SONUÇ

Endüstriyel uygulama gereksiniminin artması nedeni ile mikroorganizmaların tanımlanması, genetik çeşitliliğinin ortaya konması ve yeniden inşası giderek daha fazla önem kazanan bir konudur. Bu çalışma model organizma olarak kullanılan ve önemi gittikçe artan *E. coli* üzerine bakteri genetiği açısından farklı bir bakış açısı ile giriş niteliğinde bir inceleme sağlamaktadır. Gıda mikrobiyolojisi alanında daha fazla bakteriyel genetik araştırmaları ve ilgili stratejiler ile elde edilen bilgiler endüstriyel uygulamalar için yeni olanaklar sunacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu çalışmada yazarlar arasında, başka kişiler ve/veya kurumlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Yazarlar makalenin derlenmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

- Alberini, C. M. (2009). Transcription factors in long-term memory and synaptic plasticity. *Physiological reviews*, 89(1): 121-145, doi:10.1152/physrev.00017.2008.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2002). Isolating, cloning, and sequencing DNA. In: *Molecular Biology of the Cell*, Garland Science, NewYork.
- Arroyo-Olarte, R. D., Bravo Rodríguez, R., Morales-Ríos, E. (2021). Genome Editing in Bacteria: CRISPR-Cas and Beyond. *Microorganisms*, 9(4), doi:10.3390/microorganisms9040844.
- ATCC. (2024). *Escherichia coli* (ATCC® 29055™). ATCC. <https://genomes.atcc.org/genomes/ac6f0af3fb53407f?tab=overview-tab> (Erişim Tarihi: 11.01.2024).
- Beal, M. A., Meier, M. J., Dykes, A., Yauk, C. L., Lambert, I. B., Marchetti, F. (2023). The functional mutational landscape of the lacZ gene. *iScience*, 26(12): 108407, doi:10.1016/j.isci.2023.108407.
- Bigler, A. (2023). Propelling Rare Disease Research for More Than 50 Years. National Institute of General Medical Sciences. <https://biobeat.nigms.nih.gov/category/genes/> (Erişim Tarihi: 04.05.2023).
- Blattner, F. R., Plunkett, G., 3rd, Bloch, C. A., Perna, N. T., Burland, V., Riley, M., Collado-Vides, J., Glasner, J. D., Rode, C. K., Mayhew, G. F., Gregor, J., Davis, N. W., Kirkpatrick, H. A., Goeden, M. A., Rose, D. J., Mau, B., Shao, Y. (1997). The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*, 277(5331): 1453-1462, doi:10.1126/science.277.5331.1453.
- Blount, Z. D. (2015). The unexhausted potential of *E. coli*. *Elife*, 4: e05826.
- CDC. (2022a). *Escherichia coli* <https://www.cdc.gov/ecoli/index.html> (Erişim Tarihi: 05.05.2023).
- CDC. (2022b). Whole Genome Sequencing. <https://www.cdc.gov/pulsenet/pathogens/wgs.html> (Erişim Tarihi: 06.06.2023).
- De La Cruz, F., Frost, L. S., Meyer, R. J., Zechner, E. L. (2010). Conjugative DNA metabolism in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(1): 18-40, doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00195.x.
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., Gordon, D. (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 19(1): 37-54, doi:10.1038/s41579-020-0416-x.
- Dion, M. B., Shah, S. A., Deng, L., Thorsen, J., Stokholm, J., Krogfelt, K. A., Schjørring, S., Horvath, P., Allard, A., Nielsen, D. S., Petit, M.-A., Moineau, S. (2024). *Escherichia coli* CRISPR arrays from early life fecal samples preferentially target prophages. *The ISME Journal*, doi:10.1093/ismejo/wrae005.
- Dobrin, R., Beg, Q. K., Barabási, A.-L., Oltvai, Z. N. (2004). Aggregation of topological motifs in the *Escherichia coli* transcriptional regulatory network. *BMC bioinformatics*, 5(1): 1-8, doi:10.1186/1471-2105-5-10.
- Dong, H., Cui, Y., Zhang, D. (2021). CRISPR/Cas Technologies and Their Applications in *Escherichia coli*. *Front Bioeng Biotechnol*, 9: 762676, doi:10.3389/fbioe.2021.762676.
- EcoCyc. (2024). *Escherichia coli* K-12 substr. MG1655 reference genome (EcoCyc) EcoCyc. <https://ecocyc.org/cgweb> (Erişim Tarihi: 11.01.2024).
- Fakruddin, M., Mohammad Mazumdar, R., Bin Mannan, K. S., Chowdhury, A., Hossain, M. (2013). Critical factors affecting the success of cloning, expression, and mass production of enzymes by recombinant *E. coli*. *International*

- Scholarly Research Notices*, 2013, doi:10.5402/2013/590587.
- Fillol-Salom, A., Alsaadi, A., Sousa, J. A. M. d., Zhong, L., Foster, K. R., Rocha, E. P., Penades, J. R., Ingmer, H., Haaber, J. (2019). Bacteriophages benefit from generalized transduction. *PLoS pathogens*, 15(7): e1007888, doi:10.1371/journal.ppat.1007888.
- Foster-Nyarko, E., Pallen, M. J. (2022). The microbial ecology of *Escherichia coli* in the vertebrate gut. *FEMS Microbiology Reviews*, 46(3): fuac008, doi:10.1093/femsre/fuac008.
- Ghatak, S., King, Z. A., Sastry, A., Palsson, B. O. (2019). The y-ome defines the 35% of *Escherichia coli* genes that lack experimental evidence of function. *Nucleic acids research*, 47(5): 2446-2454, doi:10.1093/nar/gkz030.
- Griswold, A. (2008). Genome Packaging in Prokaryotes: The Circular Chromosomes of *E. coli*. *Nature Education*, 1(57).
- Grohmann, E., Muth, G. n., Espinosa, M. (2003). Conjugative plasmid transfer in gram-positive bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(2): 277-301, doi:10.1128/mubr.67.2.277-301.2003.
- Headd, B., Bradford, S. A. (2020). The Conjugation Window in an *Escherichia coli* K-12 Strain with an IncFII Plasmid. *Applied and environmental microbiology*, 86(17): e00948-00920, doi:10.1128/AEM.00948-20.
- Henderson, H. (2020). New Study Shows Huge Phages Are Everywhere. <https://innovativegenomics.org/news/huge-phages-are-everywhere/> (Erişim Tarihi: 16.02.2024).
- Holmes, R. K., Jobling, M. G. (1996). Genetics. In: *Medical microbiology* S. Baron (ed.), 4th Edition, University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston (TX).
- Horvath, P., Barrangou, R. (2010). CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. *Science*, 327(5962): 167-170, doi:10.1126/science.117955.
- Huang, C.-J., Lin, H., Yang, X. (2012). Industrial production of recombinant therapeutics in *Escherichia coli* and its recent advancements. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 39(3): 383-399, doi:10.1007/s10295-011-1082-9.
- Idalia, V.-M. N., Bernardo, F. (2017). *Escherichia coli* as a model organism and its application in biotechnology. *Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications*, 13: 253-274.
- Ingle, D. J., Valcanis, M., Kuzevski, A., Tauschek, M., Inouye, M., Stinear, T., Levine, M. M., Robins-Browne, R. M., Holt, K. E. (2016). In silico serotyping of *E. coli* from short read data identifies limited novel O-loci but extensive diversity of O:H serotype combinations within and between pathogenic lineages. *Microbial Genomics*, 2(7): e000064, doi:10.1099/mgen.0.000064.
- Iranzadeh, A., Mulder, N. J. (2019). Bacterial Pan-Genomics. In: *Microbial Genomics in Sustainable Agroecosystems: Volume 1*, V. Tripathi, P. Kumar, P. Tripathi, A. Kishore (ed.), Springer, Singapore, pp. 21-38.
- Ishino, Y., Shinagawa, H., Makino, K., Amemura, M., Nakata, A. (1987). Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *Journal of bacteriology*, 169(12): 5429-5433.
- Jiang, Y., Chen, B., Duan, C., Sun, B., Yang, J., Yang, S. (2015). Multigene Editing in the *Escherichia coli* Genome via the CRISPR-Cas9 System. *Applied and environmental microbiology*, 81(7): 2506-2514, doi:10.1128/AEM.04023-14.
- Joseph, A., Cointe, A., Mariani Kurkdjian, P., Rafat, C., Hertig, A. (2020). Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: A narrative review. *Toxins*, 12(2): 67, doi:10.3390/toxins12020067.
- Kadner, R. J., Rogers, K. (2023). Exchange of genetic information. *Britannica*. <https://www.britannica.com/science/bacteria/The-importance-of-bacteria-to-humans> (Erişim Tarihi: 16.05.2023).

- Kalnins, A., Otto, K., Rütther, U., Müller-Hill, B. (1983). Sequence of the lacZ gene of *Escherichia coli*. *Embo Journal*, 2(4): 593-597, doi:10.1002/j.1460-2075.1983.tb01468.x.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2): 123-140, doi:10.1038/nrmicro818.
- Karp, P. D., Kothari, A., Paley, S., Krummenacker, M., Paulsen, I., Mackie, A., Moore, L., Collado-Vides, J., Bonavides-Martinez, C., Gama-Castro, S., Santos-Zavaleta, A., Tierrafria, V. H., Figueroa, P. L. (2021). Summary of *Escherichia coli* K-12 substr. MG1655, version 27.5 Tier 1 Highly Curated Database. EcoCyc. <https://ecocyc.org/ECOLI/organism-summary> (Erişim Tarihi: 15.01.2024).
- Kasman, L. M., Porter, L. D. (2021). Bacteriophages. Treasure Island (FL).
- Keseler, I. M., Gama-Castro, S., Mackie, A., Billington, R., Bonavides-Martínez, C., Caspi, R., Kothari, A., Krummenacker, M., Midford, P. E., Muñoz-Rascado, L. (2021). The EcoCyc database in 2021. *Frontiers in Microbiology*, 12: 711077, doi:10.3389/fmicb.2021.711077.
- KhanAcademy. (2023). DNA sequencing. <https://www.khanacademy.org/science/ap-biology/gene-expression-and-regulation/biotechnology/a/dna-sequencing> (Erişim Tarihi: 06.06.2023).
- Kukurba, K. R., Montgomery, S. B. (2015). RNA sequencing and analysis. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2015(11), doi:10.1101/pdb.top084970.
- Lee, S. Y., Nielsen, J., Stephanopoulos, G. (2017). Emerging areas in bioengineering. John Wiley & Sons, Republic of Korea, ISBN:3527803289.
- Lewis, T. (2013). Human genome project marks 10th anniversary. <https://www.livescience.com/28708-human-genome-project-anniversary.html> (Erişim Tarihi: 06.06.2023).
- Li, H., Shen, C. R., Huang, C.-H., Sung, L.-Y., Wu, M.-Y., Hu, Y.-C. (2016). CRISPR-Cas9 for the genome engineering of cyanobacteria and succinate production. *Metabolic engineering*, 38: 293-302, doi:10.1016/j.ymben.2016.09.006.
- Liang, L., Liu, R., Garst, A. D., Lee, T., Beckham, G. T., Gill, R. T. (2017). CRISPR Enabled Trackable genome Engineering for isopropanol production in *Escherichia coli*. *Metabolic engineering*, 41: 1-10, doi:10.1016/j.ymben.2017.02.009.
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J. A., Franco, D. (2018). Main Groups of Microorganisms of Relevance for Food Safety and Stability: General Aspects and Overall Description. In: *Innovative Technologies for Food Preservation*, F. J. Barba, A. S. Sant'Ana, V. Orlien, M. Koubaa (ed.), Academic Press, pp. 53-107.
- Ma, H.-W., Kumar, B., Ditges, U., Gunzer, F., Buer, J., Zeng, A.-P. (2004). An extended transcriptional regulatory network of *Escherichia coli* and analysis of its hierarchical structure and network motifs. *Nucleic acids research*, 32(22): 6643-6649, doi:10.1093/nar/gkh1009.
- Mackie, A. (2015). Summary of Regulatory Influences on lacZ. EcoCyc. <https://ecocyc.org/gene?orgid=ECOLI&id=EG10527> (Erişim Tarihi: 11.01.2024).
- Maeder, M. L., Gersbach, C. A. (2016). Genome-editing technologies for gene and cell therapy. *Molecular Therapy*, 24(3): 430-446, doi:10.1038/mt.2016.10.
- Makalowski, W. (2001). The human genome structure and organization. *Acta Biochimica Polonica*, 48(3): 587-598.
- Maloy, S. (2001). Bacterial Genetics. In: *Encyclopedia of Genetics*, S. Brenner J. H. Miller (ed.), Academic Press, New York, pp. 156-163.
- Maloy, S. (2013). Bacterial Genetics. In: *Encyclopedia of Biodiversity (Second Edition)*, S. A. Levin (ed.), Academic Press, Waltham, pp. 317-325.
- Martínez-Antonio, A., Janga, S. C., Thieffry, D. (2008). Functional organisation of *Escherichia coli* transcriptional regulatory network. *Journal of Molecular Biology*, 381(1): 238-247, doi:10.1016/j.jmb.2008.05.054.
- Martinson, J. N., Walk, S. T. (2020). *Escherichia coli* residency in the gut of healthy human adults.

- EcoSal Plus*, 9(1), doi:10.1128/ecosalplus.esp-0003-2020.
- Najafi, M. B. H., Pezeshki, P. (2013). Bacterial mutation; types, mechanisms and mutant detection methods: a review. *European Scientific Journal*.
- NCBI. (2024). Genome Information by Organism:Escherichia coli. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse#!/prokaryotes/167/> (Erişim Tarihi: 11.01.2024).
- NHGRI. (2023). Plasmid. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Plasmid> (Erişim Tarihi: 21.05.2023).
- Nichols, R. J., Sen, S., Choo, Y. J., Beltrao, P., Zietek, M., Chaba, R., Lee, S., Kazmierczak, K. M., Lee, K. J., Wong, A. (2011). Phenotypic landscape of a bacterial cell. *Cell*, 144(1): 143-156, doi:10.1016/j.cell.2010.11.052.
- NIGMS. (2023). What is genetics? <https://nigms.nih.gov/education/factsheets/Pages/genetics.aspx#:~:text=%E2%80%8B%E2%80%8B%E2%80%8BWhat%20is,that%20help%20the%20body%20work> (Erişim Tarihi: 04.05.2023).
- O'Donnell, M., Langston, L., Stillman, B. (2013). Principles and concepts of DNA replication in bacteria, archaea, and eukarya. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(7), doi:10.1101/cshperspect.a010108.
- Okuda, S., Kawashima, S., Kobayashi, K., Ogasawara, N., Kanehisa, M., Goto, S. (2007). Characterization of relationships between transcriptional units and operon structures in *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. *BMC genomics*, 8: 1-12, doi:10.1186/1471-2164-8-48.
- Petreaca, R. (2013). Yeast Genetics. In: *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition*, Elsevier Inc., pp. 385-387.
- Pitout, J. D., Finn, T. J. (2020). The evolutionary puzzle of *Escherichia coli* ST131. *Infection, Genetics and Evolution*, 81: 104265.
- Raleigh, E. A., Low, K. B. (2013). Conjugation. In: *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)*, S. Maloy K. Hughes (ed.), Academic Press, San Diego, pp. 144-151.
- Roach, J. C., Boysen, C., Wang, K., Hood, L. (1995). Pairwise end sequencing: a unified approach to genomic mapping and sequencing. *Genomics*, 26(2): 345-353, doi:10.1016/0888-7543(95)80219-C.
- Roach, J. C., Glusman, G., Smit, A. F., Huff, C. D., Hubley, R., Shannon, P. T., Rowen, L., Pant, K. P., Goodman, N., Bamshad, M. (2010). Analysis of genetic inheritance in a family quartet by whole-genome sequencing. *Science*, 328(5978): 636-639.
- Robins-Browne, R. M., Holt, K. E., Ingle, D. J., Hocking, D. M., Yang, J., Tauschek, M. (2016). Are *Escherichia coli* Pathotypes Still Relevant in the Era of Whole-Genome Sequencing? *Front Cell Infect Microbiology*, 6: 141, doi:10.3389/fcimb.2016.00141.
- Rosano, G. L., Ceccarelli, E. A. (2014). Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges. *Frontiers in Microbiology*, 5: 172, doi:10.3389/fmicb.2014.00172.
- Ruiz, N., Silhavy, T. J. (2022). How *Escherichia coli* Became the Flagship Bacterium of Molecular Biology. *Journal of bacteriology*, 204(9): e00230-00222, doi:10.1128/jb.00230-22.
- Salgado, H., Gama-Castro, S., Peralta-Gil, M., Diaz-Peredo, E., Sánchez-Solano, F., Santos-Zavaleta, A., Martínez-Flores, I., Jiménez-Jacinto, V., Bonavides-Martínez, C., Segura-Salazar, J. (2006). RegulonDB (version 5.0): *Escherichia coli* K-12 transcriptional regulatory network, operon organization, and growth conditions. *Nucleic acids research*, 34(suppl_1): 394-397, doi:10.1093/nar/gkj156.
- Shao, Q., Hawkins, A., Zeng, L. (2015). Phage DNA dynamics in cells with different fates. *Biophysical journal*, 108(8): 2048-2060, doi:10.1016/j.bpj.2015.03.027.
- Shen-Orr, S. S., Milo, R., Mangan, S., Alon, U. (2002). Network motifs in the transcriptional regulation network of *Escherichia coli*. *Nature genetics*, 31(1): 64-68, doi:10.1038/ng881.

- Siegler, R. L. (1994). Spectrum of extrarenal involvement in postdiarrheal hemolytic-uremic syndrome. *The Journal of pediatrics*, 125(4): 511-518.
- Sorek, R., Kunin, V., Hugenholtz, P. (2008). CRISPR—a widespread system that provides acquired resistance against phages in bacteria and archaea. *Nature Reviews Microbiology*, 6(3): 181-186, doi:10.1038/nrmicro1793.
- Taj, M. K., Samreen, Z., Ling, J. X., Taj, I., Hassan, T., Yunlin, W. (2014). *Escherichia coli* as a model organism. *International Journal of Engineering Research and Science and Technology*, 3(2): 1-8.
- Trevors, J. (1999). Evolution of gene transfer in bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15: 1-6.
- USDA. (2011). Overview of Food Microbiology. https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/2020-08/PHVt-Food_Microbiology.pdf (Erişim Tarihi: 04.05.2023).
- Vasilyev, N., Liu, M. M., Epshtein, V., Shamovsky, I., Nudler, E. (2024). General transcription factor from *Escherichia coli* with a distinct mechanism of action. *Nature Structural & Molecular Biology*: 1-9, doi:10.1038/s41594-023-01154-w.
- Violle, C., Goldlust, K., Djermoun, S., Bigot, S., Lesterlin, C. (2020). Plasmid transfer by conjugation in Gram-negative bacteria: from the cellular to the community level. *Genes*, 11(11): 1239, doi:10.3390/genes11111239.
- Wang, D., Farhana, A. (2023). *Biochemistry, RNA Structure*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Weinstock, G. M. (2013). Microbial Genetics. In: *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)*, S. Maloy K. Hughes (ed.), Academic Press, San Diego, pp. 392-395.
- Wu, M. Y., Sung, L. Y., Li, H., Huang, C. H., Hu, Y. C. (2017). Combining CRISPR and CRISPRi Systems for Metabolic Engineering of *E. coli* and 1,4-BDO Biosynthesis. *ACS Synthetic Biology*, 6(12): 2350-2361, doi:10.1021/acssynbio.7b00251.
- Xu, W., Klumbys, E., Ang, E. L., Zhao, H. (2020). Emerging molecular biology tools and strategies for engineering natural product biosynthesis. *Metabolic Engineering Communications*, 10: e00108, doi:10.1016/j.mec.2019.e00108.
- Yang, D., Prabowo, C. P. S., Eun, H., Park, S. Y., Cho, I. J., Jiao, S., Lee, S. Y. (2021). *Escherichia coli* as a platform microbial host for systems metabolic engineering. *Essays in biochemistry*, 65(2): 225-246, doi:10.1042/EBC20200172.
- Yano, B., Taniguchi, I., Gotoh, Y., Hayashi, T., Nakamura, K. (2023). Dynamic changes in Shiga toxin (Stx) 1 transducing phage throughout the evolution of O26:H11 Stx-producing *Escherichia coli*. *Scientific reports*, 13(1): 4935, doi:10.1038/s41598-023-32111-8.



FARKLI ORANLARDA EVAPORASYON UYGULAMASIYLA AROMALI SÜT REÇELİ ÜRETİMİ

M. Merve Sarı¹, Atıla Yetişemiyen², Ceren Akal^{2*}

¹ Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara

Geliş/Received: 11.12.2023; Kabul /Accepted: 28.03.2024; Online baskı /Published online: 08.04.2024

Sarı, M. M., Yetişemiyen, A., Akal, C. (2024). Farklı oranlarda evaporasyon uygulamasıyla aromalı süt reçeli üretimi. GIDA (2024) 49 (2) 356-369 doi: 10.15237/ gida.GD23138

Sarı, M. M., Yetişemiyen, A., Akal, C. (2024). Production of flavoured milk jam by evaporation with different ratios. GIDA (2024) 49 (2) 356-369 doi: 10.15237/ gida.GD23138

ÖZ

Bu çalışma kapsamında süte iki farklı oranda (%30 ve %50) evaporasyon uygulanmış ve %1.5 oranında aroma maddesi ilave edilerek muzlu, çilekli, kakaolu süt reçelleri üretimi gerçekleştirilmiştir. Süt reçeli üretiminde farklı düzeylerde evaporasyon uygulanarak, geleneksel üretimde uygulanan sıcaklık şiddetinin ve dolayısıyla üründe meydana gelen olumsuzlukların azaltılması hedeflenmiştir. Örneklerde bileşim özelliklerinin (kurumadde, kül, yağ ve protein) yanında asitlik değerleri (titrasyon asitliği-°SH ve pH), hidroksimetil furfural (HMF), toplam mezofilik aerobik bakteri, renk, tekstür ve duyu özellikleri 1., 11. ve 21. depolama günlerinde belirlenmiştir. Veriler, koyulaştırılmış bir süt ürünü olan süt reçelinin bileşim özelliklerinde değişim gözlenmediğini, HMF değerlerinin ise uygulanan evaporasyon düzeyine bağlı olarak daha yüksek oranda evaporasyon uygulanan (%50 kurumadde oranına kadar) örneklerde daha düşük olduğunu göstermiştir. Aynı örneklerin daha kısa süre kaynatılması L* ve sertlik değerlerinin de daha yüksek olmasına neden olmuştur. Farklı evaporasyon düzeyi ve aroma maddeleri ilavesi ile üretilen süt reçeli örneklerinin tamamının kabul edilebilir özelliklerde olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Süt reçeli, vakum evaporasyon, aroma, hidroksimetil furfural

PRODUCTION OF FLAVOURED MILK JAM BY EVAPORATION WITH DIFFERENT RATIOS

ABSTRACT

In this study, two different evaporation rates (30% and 50%) were applied to milk and banana, strawberry and cocoa milk jams were produced by adding 1.5% flavouring. This paper aims to mitigate intense heat typically used in traditional milk jam production, thereby reducing its adverse effects on the product. In addition to composition properties (dry matter, ash, fat and protein), acidity (titratable acidity and pH), HMF, total mesophilic aerobic bacteria, colour, texture, and sensory characteristics were determined at the 1st, 11th, and 21st storage days. The data indicated no change in the compositional properties of samples, while HMF values were lower in samples with higher evaporation rates (up to 50% dry matter) depending on the level of evaporation applied. Shorter

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: akal@ankara.edu.tr

☎: (+90) 0312 596 1350

☎: (+90) 0312 318 2219

M. Merve Sarı; ORCID no: 0009-0007-2070-723X

Atıla Yetişemiyen; ORCID no: 0000-0001-9985-6850

Ceren Akal; ORCID no: 0000-0002-0441-541X

boiling time of the same samples caused higher L^* and hardness values. All the milk jam samples produced with varying evaporation levels and flavourings were found to have acceptable properties.

Keywords: Milk jam, vacuum evaporation, aroma, hydroxymethylfurfural

GİRİŞ

Süt reçeli, birçok ülkede yaygın olarak tüketilen, sütün koyulaştırılmasıyla elde edilen koyulaştırılmış bir süt ürünüdür. Uygulanan sıcaklık seviyesi ve süresi süt reçelinin hem kıvam hem de renk gibi temel fiziksel özelliklerini etkilediği için farklı kıvamda ve farklı renklerde olabilmektedir. Ayrıca süt reçeli üretiminde uygulanan farklı formülasyon ve işlem koşulları, ürün özelliklerinin optimize edilmesine olanak sağlamaktadır (Ciniviz ve Keser, 2022).

Süt reçeli üzerine yapılan çalışmalarda, vanilya (Oliveira vd., 2009), kahve (Guimarães vd. 2012), nişasta (Silva vd., 2015), peyniraltı suyu (Ferreira vd., 2011), hindistan cevizi (Barbosa vd. 2013) gibi katkı maddeleri ilavesiyle; farklı şeker formülasyonları (Zimmermann vd. 2007) ve farklı şeker oranları (Akal vd. 2018; Malec vd. 2005) uygulanarak süt reçeli üretimi gerçekleştirilmiştir. Bunun dışında Cichoski vd. (2011) tarafından yürütülen bir çalışmada da vakum altında süt reçeli üretimi gerçekleştirilmiş ve *Staphylococcus xylosus* bakterisinin 90 günlük depolama süresince canlılığı araştırılmıştır.

Şeker içeriği yüksek gıdaların uygun olmayan koşullarda depolanması veya yüksek sıcaklık uygulanmasının neden olduğu kimyasal tepkimeler sonucunda HMF oluşabilmektedir. Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu sırasında ortaya çıkan HMF'nin insan sağlığı üzerine zararlı etkileri bulunabilmektedir (Capuano ve Fogliano, 2011). HMF, başta bal olmak üzere bisküvi, UHT süt, reçel, hazır kahve, kuru meyveler, tahıl bazlı bebek mamaları gibi birçok farklı gıdada bulunabilmektedir (Ünüvar, 2018). Türk Gıda Kodeksi'nde baldaki HMF miktarının güvenli tüketim için maksimum 40 mg/kg olması gerektiği belirtilmiştir (Anonymous, 2020). Ancak karamelizasyon uygulanarak elde edilen süt reçeli gibi gıda ürünlerinde bu limit aşılabilmektedir. Bu riski kontrol altına almak amacıyla farklı yöntemler uygulanabilmektedir. Örneğin Yüksel ve Mercan (2022) tarafından yapılan bir çalışmada laktozun

hidrolize edilmesiyle süt reçeli örneklerinde HMF değerinin düşürülmesi denenmiş ve laktoz içermeyen süt reçeli örneklerinin HMF içeriklerinin, laktoz içeren örneklerden belirgin şekilde daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da belirli kurumadde oranlarına kadar vakum altında düşük sıcaklıkta koyulaşma ve daha sonra ateş üstünde kaynatma uygulanarak süt reçeli üretimi yapılmasının temel amacı geleneksel olarak hem uzun süre hem de yüksek sıcaklık uygulanarak üretilen süt reçelindeki HMF miktarını düşürmek ve yüksek sıcaklık uygulamasının ürün özelliklerinde meydana getirdiği olumsuz etkileri azaltmaktır. Bu nedenle belirli kurumadde değerlerine kadar süte vakum altında evaporasyon uygulanmış ve bunu takiben kaynatma işlemi uygulanarak süt reçeli üretilmiştir. Böylece süt reçelinin karakteristik özelliklerinin kısmen korunması ve sağlık üzerine olumsuz etkileri olan HMF içeriğinin daha düşük olması hedeflenmiştir. Ayrıca süt reçeli üretiminde farklı aroma maddeleri ilavesinin ürünün duyuşal özellikleri başta olmak üzere karakteristik özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçlarla elde edilen süt reçeli örneklerinin bileşim özellikleri (kurumadde, kül, yağ ve protein değerleri) depolamanın 1. gününde, asitlik, HMF değerleri, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı, renk, tekstür ve duyuşal özellikler depolamanın 1., 11. ve 21. günlerinde belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Ham madde olarak kullanılan çiğ süt ve toz formda kakao Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Uygulama İşletmesinden, kakao dışındaki aromalar (çilek ve muz) ise Atatürk Orman Çiftliği Süt Fabrikası'ndan (Ankara, Türkiye) temin edilmiştir.

Yöntem

Süt reçeli üretiminde kullanılan çiğ inek sütü (% 12.5 kurumadde, % 0.6 kül, % 3.80 yağ, % 3.5 protein, 6.83 pH ve 6.94 titrasyon asitliği değerlerine sahip) öncelikle % 1.5 yağ oranına standardize edilmiş ve % 10 oranında toz şeker

ilave edilmiştir. Daha sonra pilot tip sirkülasyonlu evaporatör (APV Anhydro, Germany) ile 50 kPa vakum altında 55 °C sıcaklıkta istenilen kurumadde oranına kadar (% 30 veya % 50) koyulaştırılmıştır. Evaporasyon işlemini takiben her iki örnek grubuna da nem oranı % 30 olacak şekilde kaynatma işlemi uygulanmıştır. İstenilen kurumadde oranına çıkarılan süt reçeli örnekleri ultraturrax (Janke&Kunkel GMBH Co., Germany) kullanılarak homojenize edilmiş ve aroma maddeleri (çilek, muz ve kakao) % 1.5 oranında ilave edilmiştir. Araştırma kapsamında üretim iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve süt reçeli örnekleri 21 günlük depolama süresince oda sıcaklığında depolanmıştır. Örneklerin bileşim özellikleri depolama başlangıcında (1. gün), diğer analizler (asitlik, HMF, mikrobiyolojik, tekstür ve duyusal) depolamanın 1., 11. ve 21. günlerinde gerçekleştirilmiştir.

Analizler

Toplam kurumadde ve kül gravimetrik olarak (Anonymous, 2002; Kurt vd., 1993) belirlenmiştir. Yağ değerleri, Gerber (Yetişemiyen vd., 1998), toplam azot Kjeldahl yöntemiyle (Gripon vd., 1975) tespit edilmiştir. Örneklerin pH değerlerini belirlemek için pH-metre (Mettler Toledo MP 225, Greisensee, İsviçre) kullanılmıştır.

Renk değerleri CIE-Lab renk alanında renk ölçüm cihazı (Time TCR 200, Çin) ile incelenmiştir. Tekstür profili, tekstür cihazı (Stable Microsystems, UK) kullanılarak 40 mm prob ile, 5 mm/s hızda 2 mm uzunlukta gerçekleştirilmiştir.

Örneklerin HMF içerikleri Yetişmeyen vd. (1998)'e göre spektrofotometrik olarak 443 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Aşağıda verilen denklem ile HMF değerleri hesaplanmıştır.
 $HMF (\mu m) = (Absorbans - 0.055) \times 87.5$

Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) değerleri Plate Count Agar besiyeriyle belirlenmiştir. Petriler 30 °C'de 48 sa süreyle inkübasyona bırakılarak koloni sayımı gerçekleştirilmiştir (Halkman 2005).

Örneklerin duyusal özellikleri Carr vd. (2000)'ye göre 7 kişilik eğitimli panelist grubu tarafından

puanlama testi uygulanarak belirlenmiştir. Süt reçeli örnekleri üç haneli rastgele kodlar verilerek sunulmuş ve panelistlerden örnekleri görünüş, yapı ve lezzet açısından 5 puan (en yüksek 5, en düşük 1) üzerinden değerlendirmeleri istenmiştir.

Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde ANOVA testi uygulanmış ve farklı grupların belirlenmesi için $P < 0.05$ seviyesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Elde edilen örneklerin bileşim özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. Süt reçeli örnekleri aynı kurumadde oranına kadar koyulaştırıldığı için örneklerin kurumadde değerleri ve buna bağlı olarak da bileşim özellikleri birbirine yakın bulunmuştur. Yalnızca toz formda kakao ilave edilerek kurumadde artışına neden olarak üretilen KA3 ve KA5 örneklerinin kurumadde ve kül değerlerinin diğer örneklerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Örneklerin yağ ve protein oranları üzerine aroma maddesi ilavesi veya farklı düzeylerde evaporasyon uygulanmasının bir etkisinin olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). Her iki bileşen de kurumadde artışına bağlı olarak hammadde olarak kullanılan çiğ sütteki değerlerinden oransal olarak artış göstermiştir. Kül değerlerinin daha önce belirtildiği gibi kakao ilaveli örneklerde daha yüksek ($P < 0.05$) bulunmasının yanı sıra % 30 kurumadde oranına kadar evaporasyon uygulanmasıyla elde edilen süt reçeli örneklerinin % 50 kurumaddeye kadar evapore edilenlere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Yüksek ısı işlem uygulaması süütün mineral madde değerinde düşüşe neden olmaktadır (Huppertz ve Kelly 2008). Bu nedenle iki örnek grubu arasında tespit edilen farklılığın, söz konusu örneklerde daha uzun süre kaynatma işlemi uygulanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Asitlik değerleri

Araştırma kapsamında üretilen süt reçeli örneklerinin pH değerlerinin 6.0-6.5 arasında olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2). Süt reçeli üzerine yapılan diğer çalışmalarda da pH değerlerinin 6.08-6.75 (Önür 2018) veya 5.73-6.15 Ranalli vd. (2012) arasında olduğu bildirilmiştir.

Süt reçelinin üretim yöntemine bağlı olarak uygulanan ısı işlem nedeniyle mikroorganizma sayısı azaltıldığından depolama süresince asitlik değerlerinde belirgin bir artış meydana gelmemiş, aksine örneklerin pH değerleri depolama süresince önemli bir artış göstermiştir ($P < 0.05$). Koyulaştırılmış süt ürünlerinde depolama

süresince pH değerinde görülen artışın, koloidal kalsiyum-fosfatın çözünmesiyle ortaya çıkan kalsiyum ve fosfattan kaynaklandığı bildirilmektedir (Patel vd. 1996). Depolama süresince süt reçeli örneklerinin pH değerlerinde görülen artışın bu durumdan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 1. Süt reçeli örneklerinin bileşim özellikleri (n=2)

Table 1. Gross composition of milk jam samples (n=2)

Örnek ¹ Sample	Kurumadde (%) Dry matter (%)	Yağ (%) Fat (%)	Protein (%) Protein (%)	Kül (%) Ash (%)
K3	71.0±0.48 ^B	4.4±0.02	12.4±0.15	2.3±0.09 ^{BC}
M3	70.8± 0.31 ^B	4.4±0.02	12.4±0.24	2.2±0.09 ^C
C3	71.2± 0.32 ^B	4.4±0.02	12.5±0.30	2.2 ±0.03 ^C
KA3	72.4±0.17 ^A	4.4±0.03	12.5±0.22	4.5 ±0.09 ^A
K5	71.5±0.32 ^B	4.2±0.02	12.6±0.26	2.5±0.11 ^{BC}
M5	71.7± 0.30 ^B	4.1±0.05	12.5±0.16	2.6±0.13 ^B
C5	71.5± 0.23 ^B	4.1±0.04	12.5±0.15	2.3±0.03 ^{BC}
KA5	72.5± 0.13 ^A	4.2±0.02	12.6±0.17	4.3± 0.08 ^A

¹K3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği
M3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek
C3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek
KA3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek
K5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği
M5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek
C5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek
KA5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek

¹K3: Control sample produced by evaporating up to 30% dry matter
M3: Banana flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter
C3: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter
KA3: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter
K5: Control sample produced by evaporating up to 50% dry matter
M5: Banana flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter
C5: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter
KA5: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

Aynı sütündeki farklı büyük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$)
Different capital letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$).

Süt reçeli örneklerinde titrasyon asitliği değerlerinde depolama süresince dalgalanma görülmüş ve depolamanın 21. gününde azalma tespit edilmiştir (Çizelge 2). Asidik şartlar altında amino gruplarının proton alımı daha fazla olmakta ve buna bağlı olarak da glikozilamin bileşiğinin oluşumu engellenmektedir (Özhan vd. 2010). Bu durum Maillard tepkimesinin asidik ortamlarda daha yavaş olmasına neden olmaktadır. Ortamın pH değerinin artmasıyla Maillard tepkimesinin meydana gelişi hızlanmaktadır (Ashoor 1984,

Corzo-Martinez vd. 2012, Toker 2012). Süt reçeli örneklerinin pH değerindeki artışın Maillard tepkimesini hızlandırmasıyla asitliğe katkı sağlayan bileşiklerin tepkime sırasında harcanması da artmaktadır. Buna durumun örneklerin titrasyon asitliği değerlerinin depolama süresince azalmasına sebep olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 2. Süt reçeli örneklerinin titrasyon asitliği (°SH) ve pH değerleri (n=2)
 Table 2. Titratable acidity (°SH) and pH values of milk jam samples (n=2)

Örnek ¹ Sample	1. Gün Day 1		11. Gün Day 11		21. Gün Day 21		Ortalama Average	
	pH pH	Titrasyon Asitliği Titratable Acidity	pH pH	Titrasyon Asitliği Titratable Acidity	pH pH	Titrasyon Asitliği Titratable Acidity	pH pH	Titrasyon Asitliği Titratable Acidity
K3	6.0±0.07	26.2±0.01	6.1±0.05	27.5±0.24	6.2±0.01	25.6±0.46	6.1±0.04 ^{CD}	26.4±0.38 ^B
M3	6.0±0.07	26.3±0.36	6.1±0.05	26.7±0.41	6.1±0.02	25.8±0.64	6.1±0.04 ^D	26.3±0.27 ^B
C3	6.0±0.03	26.9±1.07	6.0±0.03	28.5±1.75	6.2±0.04	26.6±1.01	6.1±0.03 ^D	27.3±0.71 ^B
KA3	6.1±0.02	29.7±0.20	6.2±0.01	31.3±0.21	6.2±0.03	29.0±0.41	6.2±0.03 ^B	29.1±0.44 ^A
K5	6.1±0.07	24.9±0.07	6.1±0.02	27.2±1.05	6.2±0.05	24.7±0.40	6.1±0.03 ^{CB}	25.6±0.58 ^C
M5	6.0±0.01	23.8±0.02	6.1±0.01	25.2±0.01	6.1±0.01	23.4±0.01	6.1±0.02 ^C	24.1±0.36 ^C
C5	6.1±0.04	25.7±0.15	6.1±0.01	26.1±0.18	6.2±0.02	25.2±0.65	6.1±0.02 ^C	25.7±0.25 ^C
KA5	6.3±0.16	26.9±0.99	6.4±0.25	28.7±0.93	6.5±0.21	26.6±0.96	6.4±0.10 ^A	27.4±0.59 ^B
Ortalama Average	6.1±0.03 ^b	26.3±0.44 ^b	6.2±0.03 ^{ab}	27.7±0.50 ^a	6.2±0.04 ^a	25.9±0.43 ^b		

¹K3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği
 M3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek
 C3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek
 KA3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek
 K5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği
 M5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek
 C5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek
 KA5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek

¹K3: Control sample produced by evaporating up to 30% dry matter
 M3: Banana flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)
 C3: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)
 KA3: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)
 K5: Control sample produced by evaporating up to 50% dry matter
 M5: Banana flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter
 C5: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter
 KA5: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

Aynı sütündeki farklı büyük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Different capital letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$). Different small letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days ($P < 0.05$).

Renk değerleri

Farklı evaporasyon oranları uygulanarak elde edilen süt reçeli örneklerinin renk değerleri arasında önemli derecede farklılık bulunmuştur ($P < 0.05$). Örneklerin L* değerleri 25.40-81.45, a* değerleri 9.81-32.08 ve b* değerleri 5.13-42.46 arasında tespit edilmiştir. % 50 oranına kadar evapore edilerek elde edilen örneklerin L* değerinin diğer örneklerden daha yüksek olmasının, daha kısa süre kaynatılmalarına bağlı olarak esmerleşme tepkimesinin daha az gerçekleşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Maillard tepkimesi ve renk pigmentlerinin depolama boyunca kararma

eğiliminde olmasına bağlı olarak tüm örneklerin beyazlık göstergesi olan L* değeri depolama sonunda azalmıştır.

Koyulaştırılarak üretilen süt reçelinin kendine has koyu rengi, sıcaklık uygulamasına bağlı olarak ortaya çıkan laktozun aldehit grupları ile proteinlerin amino grupları arasındaki reaksiyona dayanmaktadır (Schlimme ve Buchheim 2002). Uygulanan ısı işlem süresi başta olmak üzere farklı üretim yöntemleri uygulamaları süt reçelinin renk özelliğini doğrudan etkilemektedir. Örneğin Cebeci (2020) tarafından yapılan bir çalışmada farklı süt türleri kullanılarak süt reçeli üretilmiş ve

örneklerin renk değerlerinin önemli farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmada süt reçeli örneklerinin L* değerlerinin 39.91-67.00, a* değerlerinin 2.26-16.85 ve b* değerlerinin 20.37-32.87 aralığında bulunduğu bildirilmiştir. Depolama süresinin sonunda Maillard

reaksiyonunun neden olduğu kahverengileşme süt reçeli örneklerinin a* değerlerinde (kırmızı-yeşillik) artışa neden olmuştur. Ayrıca diğer aroma maddelerinden farklı olarak kakao içeren süt reçeli örneklerinde L*, a* ve b* değerlerinin oldukça farklı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Süt reçeli örneklerinin renk değerleri (n=2)

Table 3. Colour values of milk jam samples (n=2)

Örnek ¹ Sample	L*			a*			b*		
	1. Gün Day 1	11. Gün Day 11	21. Gün Day 21	1. Gün Day 1	11. Gün Day 11	21. Gün Day 21	1. Gün Day 1	11. Gün Day 11	21. Gün Day 21
K3	73.5±0.37 ^{Ba}	74.6±0.03 ^{Ba}	66.1±0.03 ^{Bb}	12.5±0.12	9.8±0.27	14.0±0.65	29.9±0.69	34.4±0.91	37.2±1.03
M3	75.6±0.41 ^{ABa}	76.3±0.01 ^{Aa}	67.7±0.36 ^{Bb}	12.5±0.35	10.8±0.17	13.4±0.12	30.7±0.15	34.4±0.78	36.6±0.34
C3	75.1±0.03 ^{ABa}	75.5±0.01 ^{ABa}	69.8±0.04 ^{Bb}	12.7±0.07	11.7±0.38	14.1±0.56	30.9±0.33	34.5±0.64	35.6±0.24
KA3	25.4±0.55 ^{Cb}	28.4±0.49 ^{Ca}	27.9±0.52 ^{Ca}	30.2±0.06	29.1±0.76	30.9±0.36	9.14±0.19	12.9±0.74	14.3±0.35
K5	80.3±0.12 ^{Ab}	81.5±0.19 ^{Aa}	79.6±0.37 ^{Ab}	12.5±0.17	10.2±0.22	13.7±0.11	30.4±0.84	33.9±1.05	41.2±0.30
M5	78.9±0.37 ^{Ab}	80.3±0.34 ^{Aa}	78.5±0.12 ^{Ab}	12.5±0.35	12.1±0.08	13.7±0.07	32.7±0.93	35.2±1.57	41.4±0.08
C5	80.7±0.63 ^{Aa}	81.3±0.91 ^{Aa}	80.1±0.84 ^{Aa}	12.6±0.23	12.1±0.12	14.1±0.21	31.9±0.61	34.7±0.52	42.5±0.06
KA5	30.0±0.60 ^{Cb}	29.9±0.98 ^{Ca}	29.0±0.23 ^{Ca}	29.5±0.17	28.8±0.11	32.1±0.77	9.2±0.20	15.0±0.27	18.1±0.25

¹K3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği

M3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek

C3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek

KA3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek

K5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği

M5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek

C5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek

KA5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek

¹K3: Control sample produced by evaporating up to 30% dry matter

M3: Banana flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)

C3: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)

KA3: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)

K5: Control sample produced by evaporating up to 50% dry matter

M5: Banana flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

C5: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

KA5: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

Aynı sütündeki farklı büyük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).

Different capital letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$). Different small letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days ($P < 0.05$).

Mikrobiyolojik özellikler

Uygulanan farklı evaporasyon düzeyi örneklerin bakteri sayısını önemli derecede değiştirmiştir ($P < 0.05$, Çizelge 4). Düşük kurumadde düzeyine kadar evapore edilen ve buna bağlı olarak daha uzun süre kaynatılan örneklerin bakteri sayısı depolamanın başlangıcında diğer örneklerden daha düşük bulunmuştur. Ancak depolamanın

sonunda mevcut fark ortadan kalkmıştır. Ayrıca süt reçeli örneklerinin toplam bakteri sayısı depolama boyunca artmıştır ($P < 0.05$). Süt reçeli örneklerinde depolama başlangıcındaki bakteri sayısının, mikroorganizma faaliyetini destekleyecek şartlarda depolanması (oda sıcaklığında depolama ve yüksek şeker içeriği gibi) sebebiyle arttığı düşünülmektedir.

Çizelge 4. Süt reçeli örneklerinin TAMB değerleri (kob/mL) (n=2)
 Table 4. TAMB values of milk jam samples (cfu/mL) (n=2)

Örnek ¹ Sample	1. Gün Day 1	11. Gün Day 11	21. Gün Day 21	Ortalama Average
K3	3.78±0.01 ^{Cc}	4.48±0.02 ^{Cb}	5.44±0.04 ^{Aa}	3.89±0.70
M3	4.31±0.01 ^{Bb}	4.50±0.06 ^{Cab}	4.97±0.45 ^{Ca}	4.59±0.17
C3	4.35±0.01 ^{Bb}	4.53±0.05 ^{Cb}	5.33±0.01 ^{0Ba}	4.74±0.19
KA3	4.17±0.02 ^{Cb}	4.63±0.01 ^{Bb}	5.52±0.01 ^{Aa}	4.77±0.25
K5	4.27±0.01 ^{Bc}	4.62±0.02 ^{0Bb}	5.37±0.01 ^{Ba}	4.75±0.21
M5	4.47±0.01 ^{Ac}	4.72±0.01 ^{ABb}	5.43±0.02 ^{ABa}	4.87±0.18
C5	4.40±0.00 ^{Ac}	4.80±0.03 ^{Ab}	5.41±0.05 ^{ABa}	4.87±0.19
KA5	4.43±0.02 ^{Ac}	4.85±0.02 ^{Ab}	5.53±0.01 ^{Aa}	4.94±0.20
Ortalama Average	4.27±0.22	4.64±0.04	5.38±0.06	

¹K3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği

M3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek

C3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek

KA3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek

K5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği

M5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek

C5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek

KA5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek

¹K3: Control sample produced by evaporating up to 30% dry matter

M3: Banana flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)

C3: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)

KA3: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)

K5: Control sample produced by evaporating up to 50% dry matter

M5: Banana flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

C5: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

KA5: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

Aynı sütündeki farklı büyük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).

Different capital letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$). Different small letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days ($P < 0.05$).

HMF değeri

Yüksek sıcaklık etkisiyle protein ve karbonhidrat etkileşimine bağlı olarak görülen enzimatik olmayan esmerleşme tepkimesinin (Maillard) (Burdurlu ve Karadeniz 2002) içme sütü gibi ürünlerde meydana gelmesi istenmemektedir. Ancak süt reçelinde kendine has aroma ve renk oluşumundan sorumlu olması nedeniyle üretim sırasında kontrollü bir şekilde reaksiyonun gerçekleşmesi istenmektedir. HMF Maillard reaksiyonu sonucu meydana geldiği için reaksiyon düzeyi hakkında bilgi vermektedir (van Boekel 1998).

Bu çalışmada belirlenen HMF değerlerine bakıldığında üretimleri sırasında % 30

kurumaddeye kadar evaporasyon uygulanan örneklerin, % 50 kurumaddeye gelene kadar evaporasyon uygulananlara oranla önemli derecede yüksek miktarda ($P < 0.05$) HMF içerdiği görülmektedir (Çizelge 5). Ayrıca vakum altında evaporasyonla üretilen süt reçeli örneklerinin kaynatma süresinin daha kısa olması nedeniyle örneklerde HMF miktarının geleneksel süt reçeli üretiminden daha düşük olması beklenmektedir. Nitekim, Akal vd. (2018) geleneksel yöntemle elde ettikleri süt reçeli örneklerinde HMF miktarını bu çalışmada elde edilen değerlerden çok daha yüksek (85.88-250.87 $\mu\text{g/L}$ arasında) bulduklarını bildirmişlerdir.

Çizelge 5 Süt reçeli örneklerinin HMF değerleri ($\mu\text{g/L}$) ($n=2$)
 Table 5. HMF values ($\mu\text{g/L}$) of milk jam samples ($n=2$)

Örnek ¹ Sample	1. Gün Day 1	11. Gün Day 11	21. Gün Day 21	Ortalama Average
K3	43.80 \pm 1.69	25.59 \pm 3.80	30.57 \pm 1.59	33.32 \pm 3.62 ^A
M3	42.92 \pm 0.06	24.15 \pm 0.90	28.95 \pm 0.96	32.01 \pm 3.58 ^A
C3	40.95 \pm 1.20	26.70 \pm 1.56	27.58 \pm 2.27	31.74 \pm 3.02 ^A
KA3	41.05 \pm 0.12	22.11 \pm 0.29	24.12 \pm 0.66	29.09 \pm 3.80 ^A
K5	19.45 \pm 0.51	15.29 \pm 0.06	16.49 \pm 0.14	17.08 \pm 0.79 ^B
M5	18.69 \pm 0.11	14.05 \pm 0.05	16.08 \pm 0.85	16.27 \pm 0.88 ^B
C5	16.27 \pm 0.14	12.96 \pm 0.94	16.27 \pm 0.17	15.17 \pm 0.74 ^B
KA5	20.26 \pm 0.57	14.77 \pm 0.99	16.68 \pm 0.57	17.23 \pm 1.07 ^B
Ortalama Average	30.42 \pm 3.06 ^a	19.45 \pm 1.44 ^c	22.09 \pm 1.57 ^b	

¹K3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği
 M3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek
 C3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek
 KA3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek
 K5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği
 M5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek
 C5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek
 KA5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek

¹K3: Control sample produced by evaporating up to 30% dry matter
 M3: Banana flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)
 C3: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)
 KA3: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter)
 K5: Control sample produced by evaporating up to 50% dry matter
 M5: Banana flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter
 C5: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter
 KA5: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

Aynı sütündeki farklı büyük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Different capital letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$). Different small letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days ($P < 0.05$).

Bu çalışma kapsamında ise 21 günlük depolama süresince tüm örnekler içinde en yüksek HMF değeri % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneğinde 43.8 $\mu\text{g/L}$ olarak bulunmuştur (Çizelge 5). % 50 kurumadde düzeyine kadar uygulanan evaporasyon işlemi süt reçeli örneklerinin HMF değerini belirgin bir biçimde düşürmüştür. Bununla birlikte süt reçeli üretiminde aroma maddesi ilavesinin HMF miktarları üzerine etkisinin olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$).

Depolama süresince HMF miktarlarındaki değişim incelendiğinde süt reçeli örneklerinin HMF değerlerinin 11. depolama gününde 1. güne

göre önemli bir azalma ($P < 0.05$), 21. günde ise önemli derecede artma ($P < 0.05$) eğiliminde olduğu görülmektedir (Çizelge 5). Ayrıca süt reçeli örneklerinin HMF değerlerinin azaldığı 11. depolama gününde renk değerlerinden L* değerinin arttığı ve HMF miktarının daha yüksek olduğu 21. depolama gününde örneklerin L* değerlerinin azaldığı da tespit edilmiştir (Çizelge 3 ve 5). Toker (2012) ile Ertop ve Sarıkaya (2017) farklı gıdalarda HMF miktarlarının belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmalarda da HMF değerleri ile L* değerleri arasında negatif yönde bir ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir. Maillard tepkimesinin ara ürünü olarak meydana gelen HMF parçalanarak levülinik, formik, laktik ve asetik asit

gibi bazı asitlere dönüşebilmektedir (Saldamlı 1998). Depolamanın 11. gününde tespit edilen azalmanın bu parçalanmalardan kaynaklanabileceği, Maillard tepkimesinin gerçekleşmesine bağlı olarak da oda sıcaklığında depolanan süt reçeli örneklerinin 21. günde HMF değerlerinin artış gösterdiği düşünülmektedir. Farklı süt ürünleri üzerine yapılan çalışmalarda da 20°C ve üzeri sıcaklıklarda depolanan örneklerin HMF değerinin arttığı bildirilmiştir (Albala-

Hurtado vd. 1998, Chávez-Servín vd. 2006, Francisquini vd. 2019, Thao vd. 2011).

Tekstür değeri

Gıda ürünlerinin tüketici açısından en önemli özelliklerinden biri kıvam, yapı, akışkanlık özelliklerini gösteren tekstürel özelliklerdir. Farklı oranlarda evaporasyon uygulanarak üretilen örneklerde elde edilen sertlik, yapışkanlık ve liflilik değerlerinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür ($P < 0.05$, Çizelge 6).

Çizelge 6. Süt reçeli örneklerinin tekstür değerleri (n=2)

Table 3. Texture values of milk jam samples (n=2)

Örnek ¹ Sample	Sertlik (g) Hardness (g)			Yapışkanlık (g) Stickiness (g)			Liflilik (mm) Stringiness (mm)		
	1. Gün Day 1	11. Gün Day 11	21. Gün Day 21	1. Gün Day 1	11. Gün Day 11	21. Gün Day 21	1. Gün Day 1	11. Gün Day 11	21. Gün Day 21
K3	447.9±36.6 ^{CDc}	1833.8±76.1 ^b	2349.7±30.8 ^a	-127.1±1.9 ^b	-108.1±7.8 ^c	-156.6±8.0 ^a	0.50±0.10 ^{Ab}	0.22±0.01 ^{Bb}	2.40±0.10 ^{Ba}
M3	487.2±25.0 ^D	1722.9±21.1	1948.3±48.0	-123.6±1.9	-117.6±0.8	-138.1±2.4	0.55±0.13 ^{Ab}	0.39±0.05 ^{Ab}	1.22±0.080 ^{Ca}
C3	446.7±17.5 ^D	1680.2±21.5	2046.4±67.6	-129.5±3.2	-112.5±0.6	-147.9±0.8	0.38±0.04 ^{Bb}	0.33±0.01 ^{Ab}	2.74±0.20 ^{Ba}
KA3	554.4±3.30 ^D	1387.0±35.7	2250.7±66.7	-129.9±2.4	-117.0±5.6	-158.3±0.0	0.54±0.10 ^{Ab}	0.35±0.03 ^{Ab}	3.96±0.030 ^{Aa}
K5	1207.7±52.3 ^B	2520.1±12.4	3658.3±9.24	-144.1±6.0	-131.4±4.3	-168.8±12.5	0.38±0.12 ^{Bb}	0.28±0.14 ^{Bb}	1.32±0.22 ^{Ca}
M5	1149.9±49.8 ^B	2916.0±48.4	3376.0±313	-137.8±12	-107.7±4.8	-145.4±7.7	0.53±0.15 ^{Ab}	0.43±0.10 ^{ABb}	2.83±0.49 ^{Ba}
C5	1067.1±9.05 ^B	2803.3±62.8	3593.1±187	-143.0±3.2	-126.7±3.8	-147.1±6.5	0.50±0.04 ^{Ab}	0.31±0.01 ^{Bb}	1.29±0.010 ^{Ca}
KA5	1709.6±16.6 ^A	3062.8±35.8	3902.1±157	-156.8±3.9	-131.6±27.0	-159.6±1.7	0.40±0.15 ^{Bb}	0.34±0.12 ^{Bb}	4.38±0.12 ^{Aa}

¹K3: % 30 kurumadde oranına kadar evaporasyon ile üretilen kontrol örneği

M3: % 30 kurumadde oranına kadar evaporasyon ile üretilen muz aromalı örnek

C3: % 30 kurumadde oranına kadar evaporasyon ile üretilen çilek aromalı örnek

KA3: % 30 kurumadde oranına kadar evaporasyon ile üretilen kakao aromalı örnek

K5: % 50 kurumadde oranına kadar evaporasyon ile üretilen kontrol örneği

M5: % 50 kurumadde oranına kadar evaporasyon ile üretilen muz aromalı örnek

C5: % 50 kurumadde oranına kadar evaporasyon ile üretilen çilek aromalı örnek

KA5: % 50 kurumadde oranına kadar evaporasyon ile üretilen kakao aromalı örnek

¹K3: Control sample produced by evaporating up to 30% dry matter

M3: Banana flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter

C3: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter

KA3: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter

K5: Control sample produced by evaporating up to 50% dry matter

M5: Banana flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

C5: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

KA5: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

Aynı sütündeki farklı büyük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir ($P < 0.05$).

Different capital letters in the same column refers to statistically significant difference between samples ($P < 0.05$). Different small letters in the same row refers to statistically significant difference between storage days ($P < 0.05$).

Sertlik açısından bakıldığında uygulanan evaporasyon düzeyinin süt reçeli örneklerini önemli derecede etkilediği görülmektedir ($P < 0.05$). % 50 kurumadde oranına kadar evaporasyon uygulanan örneklerin daha yüksek

sertlik değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Vakum altında evaporasyon ile daha fazla oranda kurumadde artışı sağlanması süt reçeli örneklerinin tekstürel özelliklerini önemli ölçüde etkilemiştir ($P > 0.05$). Ayrıca ilave edilen aroma

maddelerinin sıvı veya toz formda olması sınırlı da olsa sertlik değerlerini etkilemiştir. Sıvı aroma ilavesiyle elde edilen muz ve çilek içeren süt reçeli örnekleri kakao ilaveli örneklerden daha düşük sertlik değerleri almıştır ($P > 0.05$). Toz formda ilave edilen ve buna bağlı olarak da diğer örneklerden daha yüksek kurumaddeye sahip olan kakaolu örneklerde ise daha yüksek sertlik değerleri tespit edilmiştir. Söz konusu farkın % 30 kurumadde oranına kadar evaporasyon uygulanan örneklerde önemsiz ($P > 0.05$), % 50 kurumadde oranına kadar evaporasyon uygulanan örneklerde önemli seviyede olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

Tekstürel özelliklerden yapışkanlık, bir malzemenin kopmadan maksimum deformasyonunu, liflilik ise ürünün kopmadan önce uygulanan basıncın ortadan kalkması sırasında uzadığı mesafe olarak tanımlanmaktadır (Bourne 2002). Bahsedilen iki tekstürel özellik birbirleri ile paralel sonuçlar vermiş ve depolama süresince önce azalmış daha sonra artmıştır. Süt reçeli örneklerinin sertlik değerleri de depolama süresince artış göstermiştir. Öztürk (2022) tarafından yürütülen bir çalışmada da depolama süresince devam eden Maillard tepkimesine bağlı olarak süt reçellerinde sertlik değerinin artış gösterdiği bildirilmiştir. Maillard tepkimesi sonucu meydana gelen bileşiklerden kaynaklanan protein çapraz bağlanması, bileşiklerin emülsiyon özellikleri veya protein-polisakkarit interaksyonu söz konusu değişimlere neden olabilmektedir (Starowicz ve Zieliński 2022).

Duyusal nitelikler

Süt reçelinin kendine has yapısı yumuşak, pürüzsüz ve sürülebilir özelliktedir (Silva vd. 2015). Çalışma kapsamında üretilen örneklerin görünüş özellikleri bakımından en yüksek değerleri % 30 oranına kadar evapore edilen çilek aromalı örnek, en düşük değerleri ise % 50 oranına kadar evapore edilen muz aromalı örnek almıştır (Şekil 1). Süt reçeli örneklerinin depolama süresince yapı değerleri incelendiğinde nispeten yüksek değerleri % 30 oranına kadar evapore edilen muz aromalı örnek, en düşük puanı ise % 50 oranına kadar evapore edilen muz aromalı örnek almıştır. Tekstür sonuçlarına da bakıldığında aynı evaporasyon düzeyi uygulanan

örneklerin tekstürel değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir. Görünüş ve yapı bakımından yüksek oranda evaporasyon uygulanan örneklerin (% 50 kurumadde oranına kadar) panelistler tarafından beğenilmediği görülmüştür.

Depolama süresince lezzet değerleri açısından en yüksek puanı yine % 30 kurumaddeye kadar evaporasyon uygulanarak üretilen kakaolu süt reçeli örneği almıştır. Akpınar vd. (2021) tarafından yürütülen çalışmada da benzer şekilde aroma ilave edilen süt reçeli örneklerinin panelistler tarafından daha çok beğenildiği bildirilmiştir.

Depolama süresi boyunca elde edilen duyuşal değerlendirme değerleri önemli farklılık göstermiştir ($P < 0.05$). Ancak tüm süt reçeli örneklerinin duyuşal değerlendirme puanları 2.5 değerinin üzerinde bulunmuş ve tamamı farklı düzeylerde de olsa beğenilmiştir.

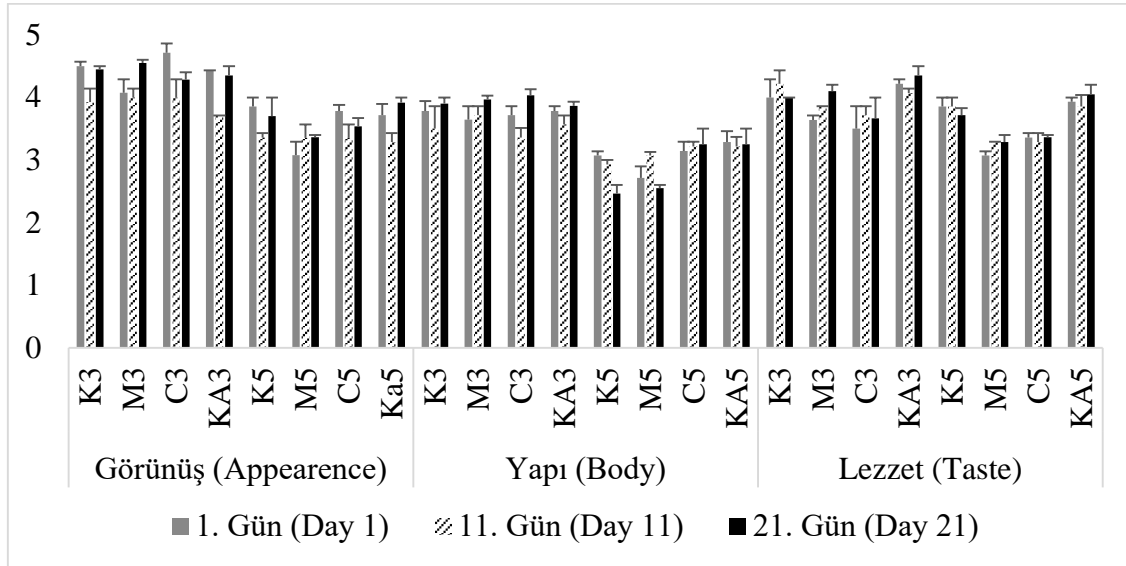
SONUÇ

Bu araştırma kapsamında farklı seviyelerde vakum altında sütün suyunun buharlaştırılması ve sonra kaynatılması ile üretilen aromalı süt reçeli örneklerinin bileşimi (kurumadde, yağ, protein, kül) belirlenmiş ve depolama süresince asitlik, HMF, tekstür profili, renk, toplam bakteri ve duyuşal özellikleri araştırılmıştır.

Kurumadde ve kül değerleri toz formda aroma ilave edilmesine bağlı olarak kakaolu süt reçellerinde diğer örneklerden daha yüksek değerde tespit edilmiştir. Ancak süt reçeli örneklerinin diğer bileşim özellikleri birbirine benzer bulunmuştur. Depolama süresince asitlik değişimlerine bakıldığında ise koloidal kalsiyum-fosfatın çözünmesiyle ilişkili olarak depolama süresince pH değerinde artış gözleendiği, Maillard tepkimesinin devam etmesiyle de titrasyon asitliği değerinde düşüş gözleendiği ortaya konmuştur. Örneklerin renk değerlerinden L^* değerinin daha az kaynatılarak elde edilen yüksek oranda evaporasyon uygulanan örneklerde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Daha düşük oranda evaporasyon (% 30 kurumadde oranına kadar) uygulanarak elde edilen örneklerde depolamanın

başlangıcında daha düşük toplam bakteri sayısı tespit edilmiş, bununla birlikte tüm örneklerde depolama süresince toplam bakteri sayısı artmıştır. Süt reçeli örneklerinin HMF içeriğinin kaynatma uygulanarak elde edilen geleneksel yöntemle göre daha az olduğu ortaya konmuştur.

Ayrıca % 30 kurumaddeye ulaşıncaya kadar evapore edilerek üretilen süt reçeli örneklerinde, kaynatma süresindeki farklılıktan dolayı, % 50 kurumadde seviyesine kadar vakum altında koyulaştırılan örneklere oranla HMF miktarı daha fazladır.



Şekil 1. Süt reçeli örneklerinin duysal değerleri (n=2)

Figure 1. Sensorial values of milk jam samples (n=2)

- ¹K3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği
M3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek
C3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek
KA3: % 30 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek
K5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kontrol örneği
M5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen muz aromalı örnek
C5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen çilek aromalı örnek
KA5: % 50 kurumadde oranına kadar evapore edilerek üretilen kakao aromalı örnek

- ¹K3: Control sample produced by evaporating up to 30% dry matter
M3: Banana flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter
C3: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter
KA3: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 30% dry matter
K5: Control sample produced by evaporating up to 50% dry matter
M5: Banana flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter
C5: Strawberry flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter
KA5: Cacao flavored sample produced by evaporating up to 50% dry matter

Süt reçeli örneklerinin sertlikleri de uygulanan evaporasyon düzeyinden etkilenmiştir. Daha yüksek oranda evaporasyon uygulanan örneklerin sertlik değerleri de daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda depolama süresince tüm örneklerde sertlik değerleri artış göstermiştir. Duyusal değerlendirme sonuçları % 30

kurumadde oranına kadar evaporasyon uygulanarak üretilen süt reçeli örneklerinin duysal puanlarının daha yüksek olduğunu göstermiştir. Lezzet açısından süt reçeli örneklerinin değerlendirilmesinde % 30 kurumadde seviyesine kadar evaporasyon uygulanarak üretilen kakaolu örnekler, depolama

boyunca diğer örneklerden daha yüksek değerler almıştır. Araştırma sonunda evaporasyonun her iki seviyesinin de süt reçeli üretiminde uygulanabilir olduğu ve vakum evaporasyon uygulamasının HMF miktarında düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte % 30 kurumadde oranına kadar vakum evaporasyon uygulanarak elde edilen süt reçeli örneklerinin geleneksel süt reçeline daha yakın olmasına bağlı olarak duyuşal olarak daha çok beğenildiği ortaya konmuştur.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

M. Merve Sarı: Üretim, analizlerin yapılması, taslak yazımı; Atila Yetişemiyen: Araştırma planlama, sonuç değerlendirme, makalenin kontrolü; Ceren Akal: Üretim, analizlerin yapılması, araştırma, makalenin yazımı. Tüm yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinatörlüğü tarafından "Farklı Oranlarda Evaporasyon Uygulanması ile Aromalı Süt Reçeli Üretimi" ve 19L0447002 kod nolu proje tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Akal, C., Buran, İ., Delialioğlu, R.A., Yetişemiyen, A. (2018). Farklı şeker oranlarının süt reçelinin kalite özellikleri üzerine etkisi. *GIDA*, 43(5): 865-875.

Anonymous (2020). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (Tebliğ No: 2020/7) Sayı: 31107, Ankara, Türkiye.

Akpınar, A., Söbeli, C., Çetin, M.G., Zeytin, M., Dilek, Z. (2021). Production of traditional milk jam with improved functional properties via probiotic and prebiotic, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 58 (3):325-334, <https://doi.org/10.20289/zfdergi.772761>.

Albala-Hurtado, S., Veciana-Nogues, M.T., Marine-Font, A., Vidal-Carou, M. C. (1998).

Changes in Furfural Compounds during Storage of Infant Milks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8): 2998-3003.

Anonymous (2002). TS 1018 İnek Sütü-Çiğ, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Ashoor, S. H., Zent, J. B. (1984). Maillard browning of common amino acids and sugars. *Journal of Food Science*, 49 (4):1206-1207.

Barbosa, V.C., Garcia-Rojas, E.E., Coimbra, J.S.R., Cipriano, P.A., Oliveira, E.B., Telis-Romero, J. (2013). Thermophysical and rheological properties of dulce de leche with and without coco nut flakes as a function of temperature. *Food Science and Technology*, 33(1): 93-98.

Bourne, M.C. (2002). *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Academic Press, California, USA.

Burdurlu, H.S., Karadeniz, F. (2002). Gıdalarda Maillard Reaksiyonu. *Gıda Dergisi*, 27(2): 77-83.

Capuano, E., Fogliano, V. (2011). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT - Food Science and Technology*, 44: 793-810.

Carr, M.E., Civille, G.V. and Carr, B. T. (2000). *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Press, Taylor and Francis Group, Baco Raton, USA. ISBN: 978-148-221-6905.

Cebeci, Ç. (2020). Farklı Süt Kombinasyonlarının Süt Reçeli Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Chacon-Villalobos, A., Pineda-Castro, M.L., Méndez-Rojas, S.G. (2013). Efecto de la Proporción de leche bovina caprina en las características del Dulce de Leche. *Agronomia Mesoamericana*, 24(1): 149-167.

Chávez-Servín, J.L., Castellote, A. I., López-Sabater, M.C. (2006). Evolution of potential and free furfural compounds in milk-based infant formula during storage. *Food Research International*, 39: 536-543.

- Cichoski, A. J., Cansian, A. P., Di Luccio, M. (2011). Viability of *Staphylococcus xylosus* during shelf-life of dulce de leche prepared by vacuum evaporation. *Ciência Rural, Santa Maria*, 41(11): 2026-2031.
- Ciniviz, M., Keser, G. (2022). Farklı formasyon ve proses koşullarının süt reçelinin tekno fonksiyonel özelliklerine etkisi. 5. Geleneksel Gıda Sempozyumu. 24-26 Kasım 2022.
- Corzo-Martinez, M., Corzo, N., Villamiel, M., del Castillo, M.D. (2012). Browning Reactions. In: *Food Biochemistry and Food Processing*, Simpson, B. K., Nollet, L. M.L. Toldra, F., Benjakul, S., Paliyath, G.n, Hui, Y.H. John Wiley & Sons, Inc. United Kingdom.
- Ertop, H. M., & Sarıkaya, S.B.Ö. (2017). Çeşitli fırıncılık ürünlerinin hidrosimetilfurfural içeriği, antioksidan aktivitesi ve kolorimetrik özellikleri arasındaki ilişkiler. *Gıda*, 42(6), 834-843.
- Ferreira, L.O., Pimenta, C.J., Pinheiro, A.C.M., Pereira, P.A.P., Santos, G. (2011). Sensory evaluation of “dulce de leche” with coffee and whey using different affective data analysis methods. *Food Science and Technology (Campinas)*, 31(4): 998-1005.
- Francisquini, J.A., Rocha, J., Martins, E., Stephani, R., da Silva, P. H. F., Renhe, T.I.R., Perrone, I.T., de Carvalho, F.A. (2019). 5-Hydroxymethylfurfural formation and color change in lactose-hydrolyzed Dulce de leche. *Journal of Dairy Research*, 86: 477-482.
- Gripon, J.C., Desmazeud, M.J., Et.le Baes, D., Bergere, J.H. (1975). Role des microorganismes et des enzymes du cours de la maturation. *Le Lait*, 55(548): 502-516.
- Guimarães, Í.C.O., Rocha Leão, M.H.M., Pimenta, C.J., Oliveira-Ferreira, L., Ferreira, E.B. (2012). Development and description of light functional dulce de leche with coffee. *Ciência e Agrotecnologia*, 36: 195-203.
- Halkman, A.K. (2005). *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*, Başak Matbaacılık, Ankara, Türkiye, 358 s. ISBN: 975-003-7308.
- Huppertz, T., Kelly, A.L. (2008). Properties and Constituents of Cow's Milk. In: *Milk Processing and Quality Management*, A.Y. Tamime (Ed.) pp. 23-47. Blackwell Publishing Ltd. ISBN:9781444301649.
- Kurt, A., Çakmakçı, S. ve Çağlar, A. (1993). *Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metodları Rehberi*. Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum, Türkiye, 150 s.
- Malec, L.S., Llosa, R.A., Vigo, M.S. (1999). Sugar formulation effect on available lysine content of dulce de leche. *Journal of Dairy Research*, 66: 335-339.
- Oliveira, M.N., Penna, A.L.B., Nevarez Garcia, H. (2009). Production of evaporated milk, sweetened condensed milk and “dulce de leche”. In: *Dairy Powders and Concentrated Products*. Tamime, Y. A. (chief ed.), Blackwell Publishing Ltd, pp. 149-177.
- Önür, Y. Z. (2018). Süt reçeli veya dulce de leche: fizikokimyasal karakterizasyonu. *GIDA*, 43(6): 1091-1099 doi: 10.15237/gida.GD180111.
- Özhan, B., Karadeniz, F., Erge, H. S. (2010). Effect of storage on nonenzymatic browning reactions in carob pekmez. *International Journal of Food Science and Technology*, 45:751-757.
- Öztürk, Y. (2022). Laktozsuz Süt Reçeli Üretiminde Stabilizatör Olarak Nişasta ve Pektinin Kullanım Olanaklarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Mardin Artuklu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Mardin.
- Patel, A.A., Gandhp H., Singh S. and Patil G.R. (1996). Shelf-life modeling of sweetened condensed milk based on kinetics of maillard browning division of dairy technology. *National Dairy Research Institute Karnal-132 001, Haryana India*.
- Ranalli, N., Andres, S.C., Califano, A.N. (2012). Physicochemical and rheological characterization of “dulce de leche. *Journal of Texture Studies*, 43: 115-123.
- Saldamlı, İ. (2007). *Gıda Kimyası*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 587 pp.
- Silva, F.L., Ferreira, H.A.L., Souza, A.B., Almeida, D.F., Stephani, R., Pirozi, M.R., Carvalho, A.F., Perrone, I.T. (2015). Production of dulce de leche: The effect of starch addition. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1): 417-423.

- Starowicz, M., Zieliński, H. (2019). How Maillard Reaction Influences Sensorial Properties (Color, Flavor and Texture) of Food Products?, *Food Reviews International*, 35 (8): 707-725.
- Thao T. Le, Bhandari, B., Deeth H. C. (2011). Chemical and Physical Changes in Milk Protein Concentrate (MPC80) Powder during Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (10): 5465-5473.
- Toker, Ö. S. (2012). Farklı gıdalarda 5-hmf düzeyinin belirlenmesi ve riskli bulunan gıdaların 5-hmf içeriğinin farklı yöntemler kullanılarak azaltılma olanaklarının araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Ünüvar S. (2018). Determination of 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) in Expired Pharmaceutical Syrups by Using HPLC-DAD Method. *JOTCSA*. 5(3): 1431-1440.
- Van Boekel, M.A.J.S. (1998). Effect of heating on maillard reactions in milk. *Food Chemistry*, 62 (4): 403-414.
- Yetişmeyen, A., Gürsoy, A., Çimer, A. (1998). Koyulaştırılmış ve Kurutulmuş Süt Ürünleri Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını. No:1497, 81s, Ankara.
- Yüksel, Z., Mercan, O. (2022). Laktoz Hidrolize Süt Reçelinin Fizikokimyasal Özelliklerinin ve HMF İçeriğinin Belirlenmesi. Türkiye 14. Gıda Kongresi, Ankara, Türkiye, 19-21 Ekim 2022, ss.171.
- Zimmermann, J.V., Gris, E.F., Chaves, E.S., Prudêncio, E.S., Barreto, P.L.M., Amboni, R.D.M., Luiz, M.B. (2007). Physicochemical, sensorial and rheological properties of doce de leite with xanthan gum and whey protein concentrate, *Publication of Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG)*, 13: 53-59.



TAZE DİLİMLENMİŞ MEYVELERDE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM'UN FAJLARLA BİYOKONTROLÜ

Şeyma Betül Encu, Aslı Yıldırım, Selin Akbaş, İbrahim Çakır, Esra Acar Soykut*
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu, Türkiye

Geliş/Received: 29.12.2023; Kabul /Accepted: 06.03.2024; Online baskı /Published online: 08.04.2024

Encu, Ş. B., Yıldırım, A., Akbaş, S., Çakır, İ., Acar Soykut, E. (2024). Taze dilimlenmiş meyvelerde *Salmonella* Typhimurium'un fajlarla biyokontrolü. GIDA (2024) 49 (2) 370-384 doi: 10.15237/gida.GD24010

Encu, Ş. B., Yıldırım, A., Akbaş, S., Çakır, İ., Acar Soykut, E. (2024). Biocontrol of *Salmonella* Typhimurium in fresh sliced fruits using phages. GIDA (2024) 49 (2) 370-384 doi: 10.15237/gida.GD24010

ÖZ

Gıda kaynaklı hastalıklar dünya çapında halk sağlığı açısından büyük bir sorun olarak varlığını sürdürmektedir. Mikrobiyel kaynaklı gıda zehirlenmelerinin başında ise patojenik *Salmonella* serotipleri gelmektedir. Bu çalışmada dilimlenmiş meyvelerde de rastlanan *Salmonella* Typhimurium'un fajlar ile inhibisyonu hedeflenmiştir. Bunun için atık su, çiğ süt ve tavuk eti örneklerinden izole edilen *Salmonella* Typhimurium fajlarının *EcoRV* ve *XbaI* enzimleri ile RFLP analizi yapılmış 9 fajdan 4'ünün genomik olarak birbirinden farklı olduğu tespit edilmiştir. Tek aşamalı gelişme eğrileri çıkarılan bu fajların latent dönemleri kısa (5-15 dk), patlama büyüklükleri ise 25-111 PFU/hücre aralığında bulunmuştur. Fajların farklı cins bakterilere karşı litik etkisi incelenmiş fakat *Salmonella* dışındaki Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı litik etkisi saptanmamıştır. Fajlardan hazırlanan kokteyl ile kavunda *S. Typhimurium* sayısında MOI 1000 ve 10000 değerlerinde 2 log KOB/g azalış; ananas örneklerinde ise MOI 10 ve 100 değerlerinde 1 log KOB/g azalış tespit edilmiştir. Hazırlanan faj kokteylinin gıda endüstrisinde *Salmonella* kontrolü için kullanılabilecek stratejiler arasında olabileceği ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Bakteriyofaj, Biyokontrol, Faj terapi, *Salmonella* Typhimurium

BIOCONTROL OF *SALMONELLA* TYPHIMURIUM IN FRESH SLICED FRUITS USING PHAGES

ABSTRACT

Foodborne diseases continue to be a major public health problem worldwide. Pathogenic *Salmonella* serotypes are the leading cause of microbial food poisoning. This study aimed to inhibit *Salmonella* Typhimurium with phages as biological agents in fruits. RFLP analysis of *Salmonella* Typhimurium phages isolated from wastewater, raw milk and chicken meat samples was performed with *EcoRV* and *XbaI* enzymes. The latent periods of these phages, whose single-stage growth curves were obtained, were found to be short (5-15 minutes), and their burst size was found to be in the range of 25-111 PFU/cell. The lytic effect of phages against different types of bacteria was examined, but no lytic

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉: esra.acarsoykut@ibu.edu.tr

☎ : +90 374 254 10 00 -5834

Şeyma Betül Encu; ORCID no: 0000-0001-9155-1868

Aslı Yıldırım; ORCID no: 0000-0002-1366-6923

Selin Akbaş; ORCID no: 0000-0002-5110-274X

İbrahim Çakır; ORCID no: 0000-0001-7775-1871

Esra Acar Soykut; ORCID no: 0000-0002-6639-4212

effect was detected against Gram-positive and Gram-negative bacteria other than *Salmonella*. With the cocktail prepared from phages, the number of *S. Typhimurium* in melon decreased by 2 log CFU/g at MOI 1000 and 10000; In pineapple samples, a 1 log CFU/g decrease was detected at MOI 10 and 100. It has been revealed that the prepared phage cocktail may be among the strategies that can be used for *Salmonella* control in the food industry.

Keywords: Bacteriophage, Biocontrol, Phage therapy, *Salmonella Typhimurium*

GİRİŞ

Taze kesilmiş, çiğ meyve ve sebzelerin tüketimi ile ilişkili belgelenmiş enfeksiyonların sayısı son yıllarda artmaktadır. *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *Shigella*, *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia enterocolitica* dahil olmak üzere çeşitli patojen bakteri ve parazit türleri, gıda kaynaklı hastalık salgınlarından sorumlu tutulmaktadır. Özellikle kontamine domates, karpuz, taze lahana, havuç, salatalık, rezene ve marul ürünlerinin tüketimi insanlarda salmonelloz ve listeriosis salgınları ile bağdaştırılmıştır (Shashidhar vd., 2007). *Salmonella*, Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre gıda kaynaklı enfeksiyon ve salgınlara neden olan patojenler sıralamasında ilk sırada yer almaktadır. Bu bakteri küresel çapta ishalleri hastalıkların 4 temel nedeninden biridir. *Salmonella*'nın yaklaşık 2659 serotipi tanımlanmış olmakla birlikte, insan enfeksiyonlarının çoğuna neden olan iki serotip *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis*'dir (Halkman, 2019; WHO, 2023). Çoğu enfeksiyon vakasının, gıdaların hazırlanması sırasında oluşan kontaminasyon yoluyla veya kümes hayvanları, sığır eti, süt, meyve ve sebzeler dahil olmak üzere çiğ veya az pişmiş gıdaların tüketiminden meydana geldiği bilinmektedir (Shang vd., 2021; Khan ve Rahman, 2022).

Günümüzde gıda kaynaklı patojenlerin kontaminasyonunu önlemek ve kontrol altına almak için gıda endüstrisinde sıklıkla kimyasal koruyucular ve fiziksel yöntemler kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler insan sağlığına ve çevreye zarar verebilmekte, gıda kalitesinin bozulmasına neden olabilmektedir (Sun vd., 2022). Son 30 yılda, özellikle de son on yılda, dünya çapında çoklu ilaca dirençli bakteriler hızla artış göstermiş, yeni antibakteriyel ajanların geliştirilmesi ve üretilmesinde bir düşüş gözlemlenmiştir (Principi vd., 2019). Ayrıca, kimyasal koruyucuların kullanımının ortadan kaldırılmasına yönelik artan tüketici talebi de,

doğal antimikrobiyel ihtiyacını da arttırmıştır (Makalata vd., 2021).

Bakterileri enfekte eden virüsler olarak bilinen bakteriyofajlar umut verici antimikrobiyel ajanlar olarak görülmektedir. Biyosferde tahmini faj sayısının 10^{31} olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, dünyada en çok bulunan organizmalar olarak kabul edilmektedirler (Chevallereau vd., 2022). Fajlar, antibiyotiklerle karşılaştırıldığında bol miktarda izolasyon kaynağına, yüksek özgüllüğe, güvenliğe ve iyi bir bakteriyostatik etkiye sahiptir, bu nedenle ilaca dirençli bakterileri kontrol etmek için antibiyotiklere mükemmel bir alternatif olarak görülmektedir (Li vd., 2021). Gıda ürünlerinde biyokontrol için kullanılan çoğu litik faj, genellikle çevreden izole edilmekte ve genetiği değiştirilmemektedir. Fajların konak özgüllüğü nedeniyle, gıdada bulunan diğer yararlı mikroflora bozulmadan kalmaktadır. Fajlar çevre dostu olarak kabul edilmekte ve tüketicilerin pek çok talebine hitap etmektedir. Ayrıca, fajların gıdanın organoleptik özellikleri üzerinde çok az etkisi olabilmekte ya da hiç etkisi bulunmamaktadır (Wessels vd., 2021).

Son yıllarda, Intralytix, Micros Food Safety, FINK TEC GmbH, Passport Food Safety Solutions ve Phagelux gibi şirketler *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Salmonella* dahil olmak üzere önde gelen gıda kaynaklı patojenlerin bazılarını kontrol etmek için faj bazlı ürünleri ticari kullanıma sunmuştur. Bu fajlar, Genel Olarak Güvenli Olarak Kabul Edilen (GRAS) statüsüne sahip ve Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır (Endersen ve Coffey, 2020). Bu ürünlerden biri olan SalmoFresh™'in cam ve paslanmaz çelik yüzeylerde, taze meyvelerde, bütün ve taze kesilmiş salatalıklarda, tavuk ve hindi göğsü pirzolarlarında patojenik *Salmonella*'yı etkili bir şekilde azaltabildiğini bildirmiştir (Woolston vd., 2013; Sharma vd., 2015; Zhang vd., 2019).

Günümüzde tüketim alışkanlıkları değişmekte ve tüketiciler bilinçlenmektedir. Daha az veya hiç kimyasal içermeyen ürünlere talebin artması aynı zamanda patojenlerle mücadelenin devamlılığı açısından yeni alternatif teknolojilerin araştırılması mecburiyet kazanmaktadır. Bu kapsamda fajlar hem tüketici tercihlerini karşılayacak hem de patojenlerle mücadele edebilecek biyolojik materyaller olarak bu çalışmanın konusu olmuştur. Bugün firmaların ürettiği ve ticari olarak satışa sunulmuş olan ürünlere ilave olarak alternatif ürün geliştirilmesi çalışmanın hedefi olmuştur. Bu çalışmada taze dilimlenmiş paketli meyvelerde *Salmonella* riskinin azaltılmasına yönelik faj etkinliğinin araştırılmıştır. Bu amaçla marketlerde sıklıkla dilimlenerek satışa sunulan ananas ve kavun hedef gıdalar olarak belirlenmiştir. Böylelikle artış gösteren tüketime hazır gıdalar üzerinde yenilikçi yöntemlerin araştırılması ve patojenlerle mücadelede yeni yerli ürünlerin geliştirilmesi için öncül bir çalışma yapılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Kullanılan Bakteri Kültürleri ve Gelişme Koşulları

Bu çalışmada kullanılan *Salmonella* Typhimurium suşu ve konakçı skalasının belirlenmesi için kullanılan diğer *E. coli* O157:H7 KUEN 1461, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Bacillus megatarium*, *Micrococcus luteus* (Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Mikrobiyolojisi Kültür Koleksiyonu), *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Enterococcus faecalis* ATCC 51559, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas putida* DSM 6125, *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 12924, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Listeria innocua* ATCC 33090 suşları, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Kültür Koleksiyonundan (BAİBÜ GMKK) temin edilmiştir. Ayrıca MALDI-TOF ile cins düzeyinde tanımlanmış yerel izolatlar olan *Salmonella* RT2-1, *Salmonella* RT2-4, *Salmonella* RT2-5, *Salmonella* RT2-6, *Salmonella* RT2-10, *Salmonella* RT3-6 suşları ile *Salmonella* Typhimurium ATCC 12023, *Salmonella* Enteritidis ATCC 12694 suşları Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kültür Koleksiyonundan temin

edilmiştir. Suşlar -18°C'de %30 (a/h) gliserol (1:1) karışımı içinde saklanmıştır. Suşlar, Tryptic Soy Broth (TSB) içinde, 37°C'de 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir.

Salmonella Typhimurium'a Etkili Fajların İzole Edilmesi, Zenginleştirilmesi ve Titrelelerinin Belirlenmesi

Faj izolasyonu için 10 adet çiğ süt, 3 adet su ve 5 adet tavuk eti olmak üzere toplam 18 adet izolasyon materyali kullanılmıştır. Çiğ süt örnekleri Bolu ilinin 10 farklı köyünden temin edilmiştir. Su örneklerini ise, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi kanalizasyonu, şehir atık suyu ve kanal suyu oluşturmaktadır. Yerel marketlerden satın alınmış farklı markalara ait tavuk göğüs etleri de izolasyon kaynakları arasında yer almıştır. Çiğ süt örnekleri için 100 mL süte %10'luk laktik asitten 6 mL eklenerek kazeinin çökmesi için bir süre beklenmiş ve daha sonra kaba filtre kağıdından süzlmüştür. Atık su örnekleri ise 8000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir (Maal vd., 2015). Tavuk örnekleri için ise 5 g numune, 5 mL %0.9 NaCl ile karıştırılmış, ardından 15000 g'de 5 dakika boyunca santrifüjlenmiştir (Cao vd., 2022). Elde edilen süpernatantlar, %10 kloroform ilave edilerek bakteri üremesi engellenmiştir (Acar Soykut, 2007).

Süpernetantlarda faj olup olmadığını kontrol etmek için çift tabaka agar yöntemi kullanılmıştır. Bunun için, TS (Tryptic Soy) yumuşak agar (%0.5 agar) içerisine 100 µl aktif *Salmonella* Typhimurium (OD₆₀₀:0.5) ve 10 mM CaCl₂ eklenmiş, karıştırılmış ve TSA üzerine homojen bir şekilde yayılmıştır. Daha sonra, bu Petri kutuları üzerinde belirli bölgelere, elde edilen süpernatantlardan 10'ar µL damlatılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda plak oluşumunun (liziz) görüldüğü bölgelerde faj varlığı saptanan örnekler 2X TSB ile üç defa zenginleştirilmiştir (Byun vd., 2022). Bu çift kuvvet besiyeri ile zenginleştirmeler sonrası muhtemel faj lizatları yeniden çift tabaka agar yöntemi ile damlatılarak plak oluşumu gözlemlenmiştir.

İzolasyonu gerçekleştirilen fajlar titrelelerinin yükseltilmesi için küçük hacimlerde

zenginleştirilmeye devam edilmiştir. 10 mM CaCl₂, 10 µL *Salmonella* Typhimurium ve 100 µL faj örneği 1.5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne eklendikten sonra faj adsorpsiyonun gerçekleşmesi için oda sıcaklığında 10-15 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 1 mL TSB besiyeri eklenmiş ve 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra, 13000 g'de 15 dakika santrifüj sonucu elde edilen süpernatant steril bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine %10 kloroform ilave edilip hafifçe vorteksenerek + 4°C'de muhafaza edilmiştir (Acar Soykut, 2007; Lee vd., 2017).

Titreleri yükseltelen fajların, titrelerinin belirlenmesi için çift plaka agar yöntemi kullanılmıştır. Logaritmik fazda olan *Salmonella* Typhimurium, 10 mM CaCl₂, 3 mL yumuşak agar ile karıştırılarak ve önceden hazırlanmış ince tabaka TSA bulunan Petri kutularına yayılmıştır. Petri kutusunda işaretlenmiş noktalara, fizyolojik tuzlu su (FTS) çözeltisi ile 10⁻⁶ ya kadar seyreltilmiş faj dilüsyonlarından 10² ar µL damlatılmış ve 37°C'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda işaretli noktalarındaki faj plakları sayılmıştır (Acar Soykut, 2007; Lee vd., 2017; Shang vd., 2021).

Salmonella Typhimurium Fajlarından DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için, yüksek titreye sahip faj süspansiyonları 33000 g'de 90 dakika santrifüjlenmiş ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Elde edilen peletlerden, DNA'larının izolasyonu için Viral DNA/RNA izolasyon kiti (Thermo Scientific GeneJET Viral DNA and RNA Purification Kit) kullanılmıştır. DNA izolasyonu, Viral DNA/RNA izolasyon kitinin protokolüne göre yapılmıştır. İzole edilen genomik DNA'ların kalitesi, nanodrop ile 260 ve 280 nm'de ABS ölçümleri yapılarak belirlenmiştir. Jel için %0.8'lik agaroz (Merck) ve 1X Tris-acetate-EDTA (TAE; Thermo Scientific 50X TAE Buffer) tampon kullanılmıştır. Agaroz tamamen çözünene kadar çözelti mikrodalga fırında kaynatılmış, soğumaya bırakılmıştır. Jele son konsantrasyonu 1 µL/mL olacak şekilde etidyum bromür eklenmiş ve jel yatağında katılaşmaya bırakılmıştır. Katılaştıran jel elektroforez tankına yerleştirilmiştir ve

kuyucuklara 5 µL faj DNA-yükleme boyası (6X DNA Loading Dye; Thermo Scientific) karışımı yüklenmiş ve 60 V/cm'lik bir dielektrik kuvvette yaklaşık 45 dakika yürütülmüştür (Acar Soykut, 2007).

Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi/RFLP Enzim Kesimi

Faj genomları RFLP analizi için, *EcoRV* ve *XbaI* (Thermo Fisher Scientific, MA, ABD) ile kesime alınmıştır (Mhone vd., 2022). Kesim koşulları, imalatçı talimatlarına göre düzenlenmiştir. % 0.8-1'lik agaroz jele yüklenen DNA fragmentleri jel görüntüleme cihazı ile görüntülenmiştir.

Konakçı Skalasının Belirlenmesi

Fajların etkili olduğu cins veya türlerin belirlenmesi, çift tabaka agar yöntemine göre yapılmıştır. Bu amaçla 100 µL bakteri kültürü yumuşak agar ile karıştırılarak Petri kutusuna yayılmıştır. Bir süre sonra işaretli bölgelere titreleri yaklaşık 10⁸ PFU/mL olan her bir fajdan damlatılmıştır (Guang-Han vd., 2016).

Tek Aşamalı Gelişme Eğrisi ve Adsorpsiyon Oranı

Tek aşamalı gelişme eğrisinin belirlenmesi için logaritmik fazda bulunan konakçı bakteri kültüründen 900 µL alınarak üzerine titresi 1x10⁸ PFU/mL olan fajdan 100 µL eklenmiştir. Faj-bakteri karışımı 37°C'de 10-15 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda adsorbe olmayan fajları uzaklaştırmak için 12500 g'de 10 dk santrifüj işlemi yapılmış ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Peletler, TSB besiyerinde çözüldükten sonra faj ve bakteri karışımı 37°C'de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyonun 0. dakikasından itibaren ilk yarım saatte her 5 dakikada bir, 70. dakikaya kadar ise her 20-30 dakikada bir örnek alınarak çift tabaka agar yöntemi ile faj sayısı belirlenmiştir. Faj titrelerinin sabit kaldığı süre latent dönem olarak tespit edilmiştir. Artarak sabit kalan faj sayısının latent dönemdeki faj sayısına oranlanmasıyla faj patlama büyüklüğü olarak belirlenmiştir (Acar Soykut, 2007; Peng ve Yuan, 2018).

Fajların adsorpsiyon hızlarının belirlenmesi için Kropinski vd. (2009)'nin kullandığı yöntem kullanılmıştır. Log fazındaki kültürler, 10⁶

KOB/mL olacak şekilde seyreltilmiştir. Konakçı kültür ve faj MOI 0.1 olacak şekilde karıştırılmış ve 10 dakika boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında 1 dakikalık aralıklarla 50 µL karışımdan alınarak buz aküsü içerisinde bekleyen 950 µL CASO içerisine eklenmiştir. Seri dilüsyonlar yapılarak süpernatandaki konakçıya absorbe olmamış fajların titreleri belirlenmiştir. Aşağıdaki eşitlik kullanılarak fajların adsorpsiyon hız sabiti (k) değerleri belirlenmiştir.

$$k = [(2.3 / (B \times t)) \times \log (P_0 / P)]$$

$$\text{Adsorpsiyon oranı: } [(P_0 - P) / P_0] \times 100$$

Eşitlikte verilen k, adsorpsiyon hız sabiti; B, bakteri konsantrasyonu; P₀, başlangıç faj titresini; P, son faj titresini; t, faj titresi P₀'dan P'ye düşünceye kadar geçen zamanı temsil etmektedir.

Gıda Denemesi

Kavun ve ananas örnekleri Bolu ilinde bulunan yerel bir süpermarketten satın alınmıştır. Örneklerin kabuk kısımları %75'lik alkolle sterilize edildikten sonra, yine steril bir bıçak yardımıyla kabukları uzaklaştırılmıştır. Kabukları uzaklaştırılan örneklerin yenilebilir kısımlarından 10 g ağırlığında parçalar kesilmiş ve steril Petri kutularına yerleştirilmiştir. Daha sonra ST1, ST2, ST3, ST5 kodlu fajlardan oluşan faj süspansiyonu farklı MOI değerlerinde (10, 100, 1000 ve 10000) *Salmonella* Typhimurium (10⁸ KOB/mL) ile karıştırılarak faj-bakteri karışımı hazırlanmıştır. Kontrol gruplarına faj karışımı yerine TSB besiyeri koyulmuştur. Bakteri faj karışımları hazırlandıktan sonra kavun ve ananas parçaları üzerine 1'er mL bu karışımdan eklenmiş ve bir Drigalski spatülü yardımıyla yayılmıştır. Daha sonra örnekler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda her numune, 90 mL FTS içeren stomacher torbalarına aktarılmış ve 2 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Seri dilüsyonlar yapılarak XLD (Xylose Lysine Deoxycholate) agarda yayma kültür yöntemiyle ekim yapılmış, 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bakteri sayıları belirlenmiş ve fajların etkinliği ortaya konulmuştur (Byun vd., 2022).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Günümüzde marketlerde taze ve dilimlenmiş tüketime hazır meyvelerin satışına daha fazla rastlanmaktadır. Bu ürünler gerek kendi kabuklarının taşıdığı mikrobiyel yük gerekse kesimde kullanılan bıçaklar nedeniyle kontamine olmaktadır. Dolayısıyla bu ürünlerde karşılaşılabilecek patojenik bir *Salmonella* serotipinin engellenmesi için antimikrobiyel ajan olarak fajların kullanımı tercih edilmiş ve bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

Faj İzolasyonu

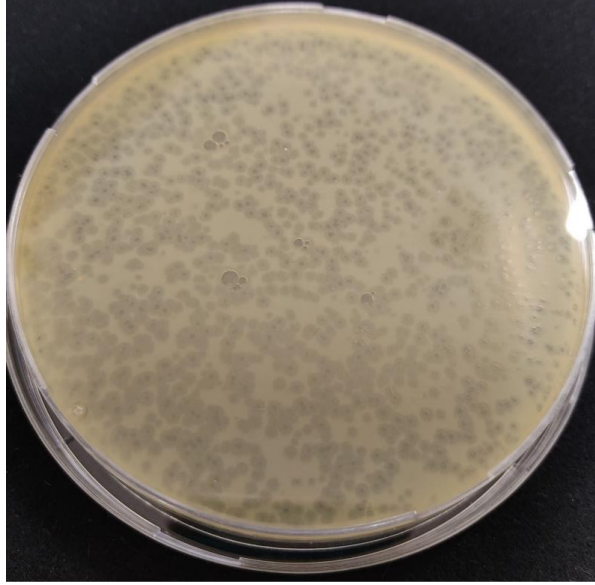
Salmonella hala dünya çapında salgınlara neden olan ve insan sağlığını tehdit eden mikroorganizmaların başında gelmektedir. Gıda güvenliğine yönelik yenilikçi yaklaşımlar fajların biyokontrol ajanları olarak kullanılabilirliğini araştırmaktadır.

Bu çalışmada 18 farklı çiğ süt (10), atık su (3) ve tavuk eti (5) örneklerinden *S. Typhimurium*'a etkili fajların izolasyonu belirtilen çift tabaka agar yöntemi ile tespit edilmiştir. İzole edilen faj kodları ve izolasyon materyalleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Kullanılan *Salmonella* fajları
Table 1. *Salmonella phages used*

Faj Kodu / Phage Code	İzolasyon Kaynağı / Isolation Source
ST1	Çiğ Süt <i>Raw milk</i>
ST2	Çiğ Süt <i>Raw milk</i>
ST3	Atık Su <i>Waste water</i>
ST4	Tavuk Eti <i>Chicken meat</i>
ST5	Çiğ Süt <i>Raw milk</i>
ST6	Çiğ Süt <i>Raw milk</i>
ST7	Çiğ Süt <i>Raw milk</i>
ST8	Çiğ Süt <i>Raw milk</i>
ST9	Çiğ Süt <i>Raw milk</i>

Çizelge 1'de yer alan fajlar izolasyondan sonra zenginleştirme işlemine tabi tutulmuş ve titrelerinin yükselmesi sağlanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Faj plakları
Figure 1. Phage plaques

Konakçı bakteri olarak *S. Typhimurium* suşu kullanılarak toplanan 18 adet örnekten 9 adet fajın izolasyonu sağlanmıştır. Yapılan çalışmalara bakıldığında, Abdelsattar vd. (2021), benzer olarak *Salmonella*'ya etkili faj ZCSE6'nın izolasyonunu çığ sütten sağlamıştır. Çığ süt dışında *Salmonella*'ya etkili fajların izolasyonu ağırlıklı olarak kümesler ve bunlarla ilişkili materyallerden sağlanmıştır (Wongsuntornpoj vd., 2014). Ayrıca araştırmacılar tavuk ve domuz dışkısı (Huang vd., 2018a), tavuk atık kanalizasyonu (Bao vd., 2011), toprak (Shang vd., 2021), tatlı su (Guo vd., 2021), atık su kanalizasyonu ve arıtma tesisi (Huang vd., 2018b) gibi farklı ortamlardan ve materyallerden *Salmonella*'ya etkili fajların izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir.

Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi ile Fajların Sınıflandırılması

Taze dilimlenmiş meyvelerde fajların etkinliğini kontrol etmek üzere izole edilen fajlardan farklı RFLP şablonuna sahip olanlardan bir faj kokteyli oluşturulmuştur. Bu amaçla öncelikle faj genomları, *EcoRV* ve *XbaI* enzimleri ile kesime tabii tutulmuştur. Enzim kesimi sonucu reaksiyon karışımı jele yüklenmiş ve DNA fragmentleri görüntülenmiştir. Faj DNA'larının ilgili enzim ile

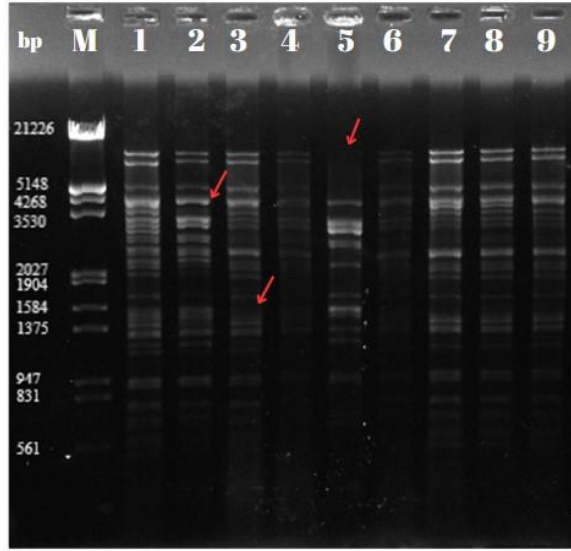
kesim sonucu elde edilen jel görüntüleri Şekil 2 ve Şekil 3'te verilmiştir.

EcoRV ile yapılan kesim sonuçlarına bakıldığında 1., 2. 3. ve 5. kuyucuklarda farklı fragmentlerin oluştuğu tespit edilmiştir (Farklılık gösteren fragmentler şekil üzerinde kırmızı ok ile gösterilmiştir). Elde edilen kesim profiline göre 2. kuyucukta bulunan yaklaşık 4268 bp'lik fragment büyüklüğünün diğer kuyucuktakilerden az olduğu, 3. kuyucuktaki yaklaşık 1375-1584 bp'lik fragmentlerin 1. ve 2. kuyucuktakilerden farklı olduğu, 5. kuyucukta ise diğer genomlarda oluşan ilk bantların oluşmadığı görülmüştür (Şekil 2). Oluşan fragmentlerin toplamına göre ise genom büyüklükleri yaklaşık olarak ST1 66005 bp, ST2 60911 bp, ST 3 63910 bp ve ST5 23980 bp büyüklüğüne sahip bulunmuştur.

XbaI enzimi ile yapılan kesime bakıldığında 1, 2 ve 3. kuyucukların ilk DNA bantlarında yoğunluk tespit edilmiştir. Yaklaşık 3000 bp'lik fragmentin 1. kuyucukta olmadığı ve diğer kuyucuklardaki fragment büyüklüğünden farklı olduğu görülmüştür. Yine 1, 2 ve 3. kuyucuklardaki kesim profiline bakıldığında kesim enziminin 3. kuyucukta bulunan örnekte daha fazla fragment (yaklaşık 1584 bp'lik ve daha küçük fragmentler) oluşturduğu anlaşılmıştır. *XbaI* enzimi ile yapılan

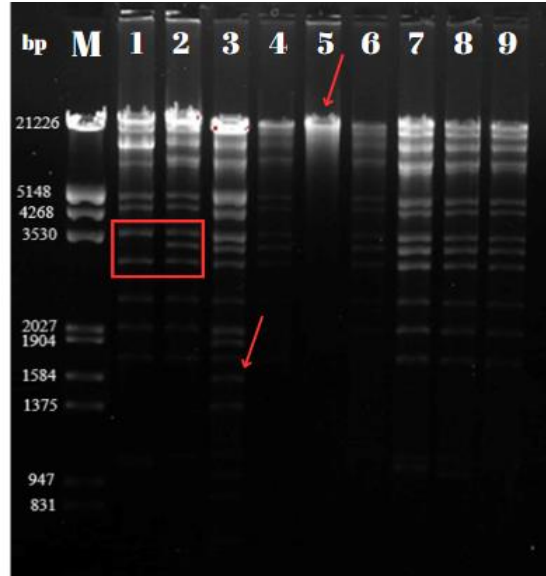
kesim sonucunda oluşan fragment büyüklüklerine göre ise ST1 69566 bp, ST2 74970 bp ve ST3 75474 bp büyüklüğüne sahip bulunmuştur. Her iki kesim sonucunda elde edilen genom büyüklükleri birbirine yakın bulunmuştur. Sonuç

olarak farklılık gösteren faj genomları kesim profillerine göre gruplandırılmış ve gruplar DNA'ların bulunduğu kuyucuk sırasına göre Çizelge 2'de verilmiştir.



Şekil 2. *EcoRV* ile kesim sonucu (DNA'ların kuyucuklardaki yüklenme sırası: M: Marker, 1: ST1, 2: ST2, 3: ST 3, 4: ST4, 5: ST5, 6: ST6, 7: ST7, 8: ST8, 9: ST9)

Figure 2. DNAs subjected to restriction digestion with enzymes *EcoRV* (The loading order of DNA in the wells: M: Marker, 1: ST1, 2: ST2, 3: ST 3, 4: ST4, 5: ST5, 6: ST6, 7: ST7, 8: ST8, 9: ST9)



Şekil 3. *XbaI* enzimi ile kesilen DNA'lar (DNA'ların kuyucuklardaki yüklenme sırası: M: Marker, 1: ST1, 2: ST2, 3: ST 3, 4: ST4, 5: ST5, 6: ST6, 7: ST7, 8: ST8, 9: ST9)

Figure 3. DNAs subjected to restriction digestion with enzymes *XbaI* (The loading order of DNA in the wells: M: Marker, 1: ST1, 2: ST2, 3: ST 3, 4: ST4, 5: ST5, 6: ST6, 7: ST7, 8: ST8, 9: ST9)

Çizelge 2. Restriksiyon enzim kesimi sonucuna göre farklı faj grupları
Table 2. Different phage groups according to the results of restriction enzyme digestion

<i>EcoRV</i> enzim kesimine göre gruplar / <i>Groups according to EcoRV restriction digestion</i>	Grupların yaklaşık genom büyüklükleri / <i>Approximate genome sizes of the groups</i>	<i>XbaI</i> enzim kesimine göre gruplar / <i>Groups according to XbaI restriction digestion</i>	Grupların yaklaşık genom büyüklükleri / <i>Approximate genome sizes of the groups</i>
Grup 1: 1	66005 bp	Grup 1: 1	69566 bp
Grup 2: 2	60911 bp	Grup 2: 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9	67004-86927 bp
Grup 3: 3, 4, 6, 7, 8, 9	50766-73265 bp	Grup 3: 5	-
Grup 4: 5	23980 bp		

EcoRV ve *XbaI* enzim kesimlerine göre ise kesim sonuçları farklılık gösteren ST1, ST2, ST3, ST5 fajlar, faj kokteyli oluşturmak üzere seçilmiştir. Huang vd., (2018b) *Salmonella*'ya etkili fajların RFLP analizi için *EcoRI*, *EcoRV* ve *HindIII* enzimlerini kullanmışlardır. Faj LPST10'un DNA'sı *EcoRI* ve çalışmamızdaki gibi *EcoRV* ile kesilebilirken, *HindIII* tarafından kesilememiştir. LPST10' un genom boyutunun, fragment büyüklüklerine göre 47.66 kb olarak hesaplanmıştır. Çalışmamıza benzer olarak Kim vd. (2012) *Salmonella* fajı olan SS3e'nin genomik dizi analizi sonucunda genom büyüklüğünü 40793 bp; Li vd. (2020) ise BPSELC-1 *Salmonella* fajının genom büyüklüğünü 86996 bp olarak bulmuştur. López-Cuevas vd. (2011) çalışmalarında ise

HindIII ve *EcoRV* enzimleri ile yaptıkları kesimde *HindIII* enziminin sınırlı fragment oluşturduğunu ancak *EcoRV*'in, dört faj üzerinde birkaç DNA fragmenti oluşturduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada ise ilgili enzim ile kesim sonucunda 14 ile 27 arasında fragment oluşumu ile karşılaşılmıştır. Bu durum aynı konakçıya etkili bu fajların birbirinden farklı olduğunu göstermiştir.

Konakçı Skalasının Belirlenmesi

Fajların enzim kesimi sonuçlarına göre farklı olanları seçilmiş ve bu fajların farklı konakçılara karşı litik aktivitelerinin varlığı araştırılmıştır. Kullanılan konakçılar ve damlatma sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir.

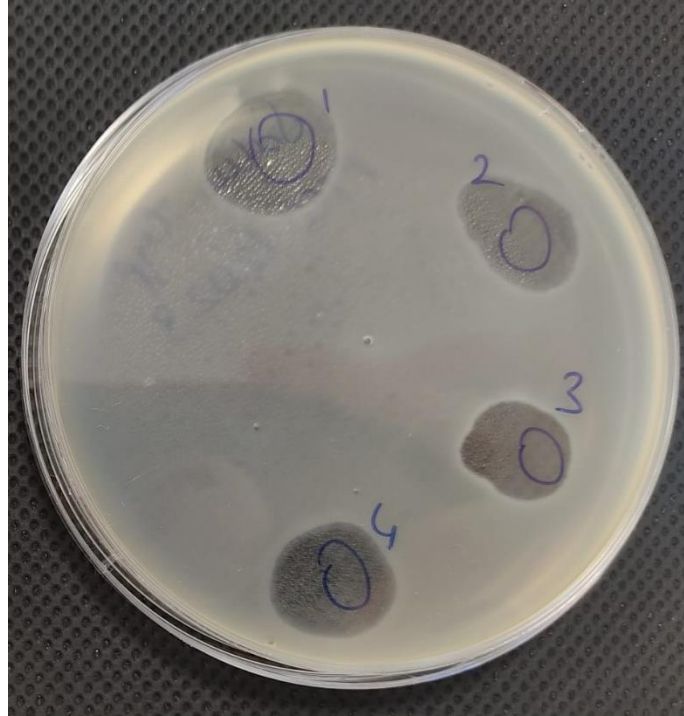
Çizelge 3. Fajların konakçı aralığı
Table 3. Host range of phages

Konakçı Bakteriler / Host Bacteria	ST1	ST2	ST3	ST5
<i>Salmonella</i> Typhimurium, BAİBÜ GMKK	+	+	+	+
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 12023	+	+	+	+
<i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 12694	+	+	+	+
<i>Salmonella</i> RT2-1	+	+	+	+
<i>Salmonella</i> RT2-4	+	+	+	+
<i>Salmonella</i> RT2-5	+	+	+	+
<i>Salmonella</i> RT2-6	+	+	+	+
<i>Salmonella</i> RT2-10	+	+	+	+
<i>Salmonella</i> RT3-6	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 KUEN 1461	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	-	-	-	-
<i>Bacillus megaterium</i> , BAİBÜ GMKK	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-
<i>Rhodococcus equi</i> ATCC 6939	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51559	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	-	-	-
<i>Pseudomonas putida</i> DSM 6125	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 12924	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	-	-	-	-
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090	-	-	-	-

+: Fajların bakteriye litik etkisi gözlemlenmiştir. -: Fajların bakteriye karşı litik etkisi gözlemlenmemiştir.
+: The lytic effect of phages on bacteria has been observed. -: No lytic effect of phages against bacteria was observed.

Çizelge 3'te de belirtildiği üzere fajlar *Salmonella* spp. dışındaki diğer bakterilere karşı litik etki göstermemiştir. Ancak fajların çalışmada kullanılan *Salmonella* Enteritidis'e ve yerel izolat olan *Salmonella* türlerine de etkili olduğu görülmüştür (Şekil 4). Benzer olarak Carey-Smith vd. (2006) izole ettikleri FGCSSa1 fajının 3 farklı *Salmonella* Typhimurium suşuna ve aynı zamanda iki farklı *S. Enteritidis* suşuna etkili olduğunu

ancak *S. Infantis*, *S. Menston*, *S. Saintpaul* suşlarına etkili olmadığını tespit etmiştir. Bu çalışmadan farklı olarak Bielke vd. (2007) izole ettikleri *Salmonella* fajlarının *E. coli* ve *Klebsiella oxytoca* bakterilerini de enfekte ettiğini tespit etmiş ve faj konak aralığının her zaman cinsle sınırlı olmadığını bildirmişlerdir.



Şekil 4. Fajların *Salmonella* Typhimurium ATCC 12023'e karşı litik etkisi (1: ST1, 2: ST2, 3: ST3, 4:ST5)
Figure 4. Lytic effect of phages against *Salmonella* Typhimurium ATCC 12023 (1: ST1, 2: ST2, 3: ST3, 4:ST5)

Tek Aşamalı Gelişme Eğrisi ve Adsorpsiyon Oranı

Fajların patlama büyüklükleri, latent dönemlerinin belirlenmesi, adsorpsiyon oranlarının belirlenmesi faj enfeksiyonunun önemli parametreleridir. Fajların tek aşamalı gelişme eğrileri çıkarılarak bu parametrelere ait sahip oldukları değerler tespit edilebilmektedir. Fajlara ait gelişme eğrileri Şekil 5'te verilmiştir.

Verilen gelişme eğrilerine göre fajların patlama büyüklükleri ve latent dönemleri hesaplanmıştır. Buna göre ST2 fajının latent dönemi 15 dakika diğer fajların ise latent dönemleri 5 dakika olarak bulunmuştur. Patlama büyüklükleri ise ST1'in 25,

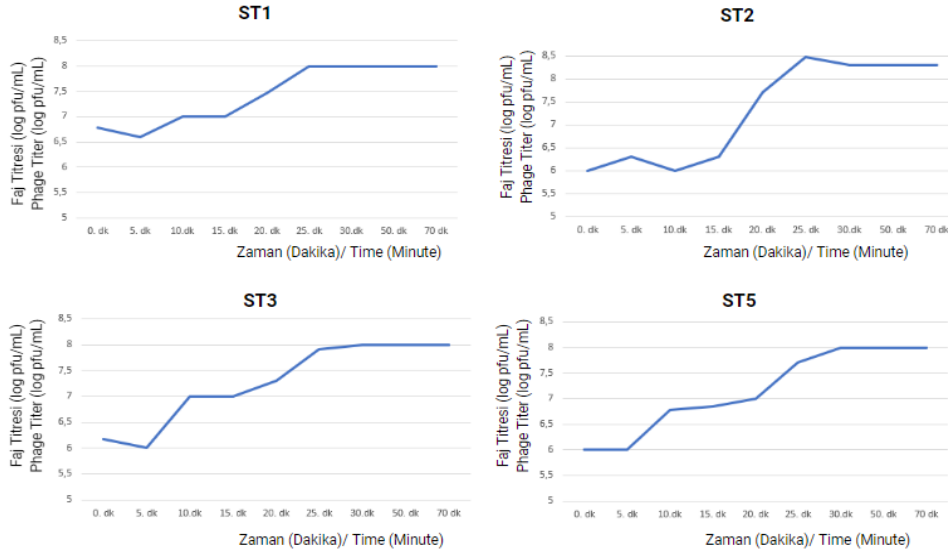
ST2'nin 66; ST3'ün 100 ve ST5'in ise 111 PFU/hücre olarak bulunmuştur.

Fajlara ait zamana karşı faj titresini gösteren adsorpsiyon grafikleri Şekil 6'da, bu fajlara ait adsorpsiyon hız sabitleri ve adsorpsiyon oranları Çizelge 4'te verilmiştir.

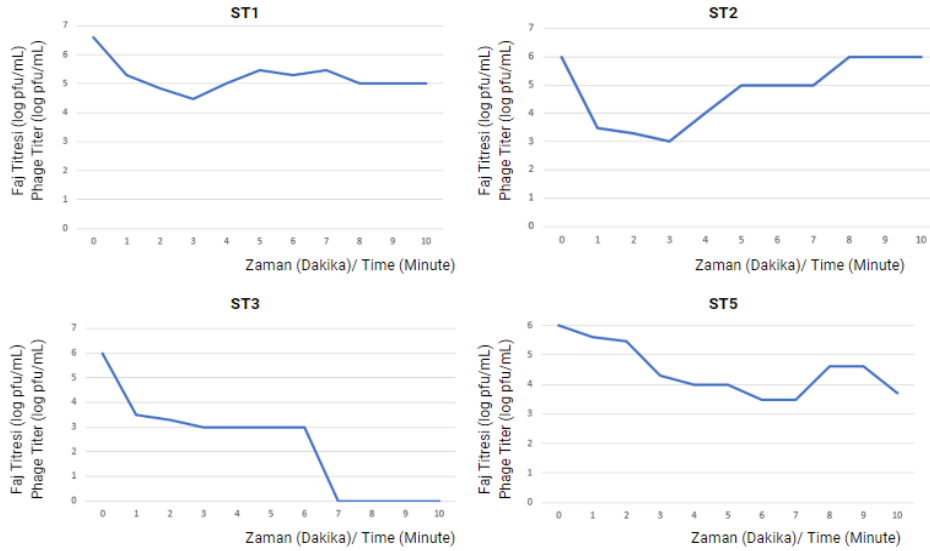
Huang vd. (2018b) izole ettikleri LPST10 fajının latent dönemini 10 dk, patlama büyüklüğünü ise 101 PFU/mL olarak belirlemiştir. Bu değerler çalışmamızda bulunan değerler ile benzerlik göstermektedir. Yine benzer olarak Lu vd. (2020) atk sudan izole ettikleri vB_SenS_SE1 kodlu *Salmonella* fajının patlama büyüklüğünü hücre

başına 19 PFU olarak bulmuştur. Petsong vd. (2019) ise *S. Enteritidis*'e etkili faj karışımının patlama büyüklüğünü 97.7 PFU; *S. Typhimurium*'a etkili faj karışımının patlama büyüklüğünü ise hücre başına 173.7 PFU olarak bulmuştur. Fajların latent dönemlerini ise 15 ile 45 dakika aralığında bulmuştur. Yan vd. (2020)'de benzer olarak LPSEYT'in adsorpsiyon oranını 10 dakikada %95 olarak bulmuştur. Patlama büyüklüğünü ise hücre başına 133 ± 23 PFU olarak

hesaplamıştır. Sritha ve Bhat (2018) ise Φ Stp1'in adsorpsiyon oranını %97 olarak bulmuştur. Yine bu fajın latent süresi 30 dakika ve patlama büyüklüğünü 37 PFU/hücre olarak bulunmuştur. Latent dönemi kısa ve patlama büyüklüğü fazla olan fajlar gıdalarda biyokontrol amaçlı kullanım için istenen özelliklerdir. Çalışmamızda seçilen fajlar kısa latent döneme sahip, genel olarak yüksek patlama büyüklüğü gösteren ve yaklaşık %99 adsorpsiyon oranına sahip fajlardır.



Şekil 5. Fajların gelişme eğrisi
Figure 5. Growth curve of phages



Şekil 6. Fajların adsorpsiyon grafikleri
Figure 6. Adsorption graphs of phages

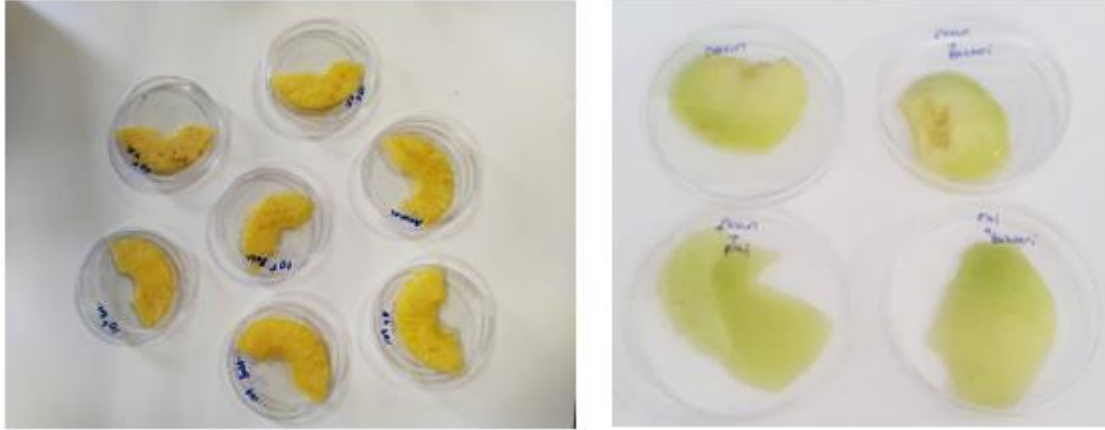
Çizelge 4. Fajlara ait adsorpsiyon hız sabitleri ve oranları
Table 4. Adsorption rate constants and ratios of phages

Faj / Phage	Adsorpsiyon Hız Sabiti (mL/dk) / Adsorption Rate Constant (mL/min)	Fajların Adsorpsiyon Oranları (%) / Adsorption Rates of Phages (%)
ST3	6.9×10^{-8}	99.9
ST2	6.9×10^{-8}	99.9
ST1	4.88×10^{-8}	99.25
ST5	19.06×10^{-8}	99.7

S. Typhimurium Fajlarının Gıda Ortamında Etkinliğinin Belirlenmesi

S. Typhimurium'un taze dilimlenmiş meyvelerde gelişiminin engellenmesi için seçilen ST1, ST2, ST3 ve ST5 fajlarından bir karışım hazırlanmıştır. Bu karışım ile dilimlenmiş kavun ve ananas örneklerinde MOİ 10, 100, 1000 ve 10000 değerlerinde denemeler yapılmıştır (Şekil 7). Deneme sonuçlarına göre kavunda *S.*

Typhimurium sayısında MOİ 1000 ve 10000 değerlerinde 2 log KOB/g azalış belirlenmiştir. Ananas örneklerinde ise MOİ 10 ve 100 değerlerinde 1 log KOB/g azalış tespit edilmiştir. Analiz sırasında konakçı bakterinin başlangıç konsantrasyonunun düşük tutulması ile yapılacak denemelerde daha iyi sonuçların elde edileceği düşünülmektedir.



Şekil 7. Analiz için hazırlanan ananas ve kavun örnekleri
Figure 7. Pineapple and melon samples prepared for analysis

Guo vd. (2021), çeşitli gıda örnekleri ile yaptıkları çalışmalarında faj LPSTLL ile sütte *Salmonella* sayısında 2.8 log KOB/mL'lik bir azalış elde etmişlerdir. Islam vd. (2019) ise hem buzdolabı hem de oda sıcaklığında *Salmonella*'ya karşı LPSTLL, LPST94 ve LPST153 fajları ile hazırladıkları kokteylin etkinliğini araştırmışlardır. Çalışmada her iki sıcaklıkta *Salmonella* sayısında 3 log/KOB azalış sağlanmıştır. Huang vd. (2018b) LPST10 fajı ile farklı gıdalarda yaptıkları denemelerde *Salmonella* sayısında sütte 4 log

KOB/mL, sosiste sırasıyla 4 ve 28 °C'de 1.8 log KOB/örnek ve 1.1 log KOB/örnek ve marulda MOI 100 değerinde 1.9 ile 2.7 log KOB/cm² azalış elde etmişlerdir. Thung vd. (2017), meyve sularında yaptıkları çalışmada 4°C'de 48 saatlik inkübasyonun ardından *S. Enteritidis* sayısında yaklaşık 2 log KOB/ml'lik bir azalış elde etmiştir. Yapılan çalışmalarda kullanılan serotipler, MOİ değerleri, sıcaklık vb. analiz parametreleri değişiklik göstermektedir. Netice olarak elde edilen inhibisyon değerleri çalışmamızda elde

edilen değerler ile benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlar fajların biyokontrol amaçlı kullanılabilirliğini göstermektedir.

Bu çalışmada gıda kaynaklı zehirlenmelerin başında gelen *Salmonella* serotiplerinden biri olan *Salmonella* Typhimurium'un fajlarla inhibisyonu hedeflenmiştir. Bu amaçla çiğ süt, atık su ve tavuk eti örneklerinden izole edilen fajların izolasyonu sağlanmıştır. İzole edilen 9 fajın DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. DNA'ların *EcoRV* ve *XbaI* enzimleri ile kesimi sağlanmış ve elde edilen kesim profillerine göre farklı olan fajların seçimi sağlanmıştır. Fajlardan 4 tanesi farklı olarak bulunmuştur. Bunlar ST1, ST2, ST3, ST5 kodlu fajlardır. Bu fajların gelişme eğrileri çıkarılmış, patlama büyüklükleri ve latent dönemleri tespit edilmiştir. Latent dönemleri kısa (5-15 dk.) bulunan fajların patlama büyüklükleri çeşitlilik göstermiştir. Patlama büyüklükleri 25 ile 111 PFU/hücre arasında değişmektedir. Fajların farklı cins bakterilere karşı litik etkisi incelenmiş fakat analizde *Salmonella* spp. dışında kullanılan diğer bakterilere karşı litik etkisi saptanmamıştır. Fajlardan hazırlanan kokteyl ile ananas ve kavun gibi tüketime hazır dilimlenen meyvelerde *S. Typhimurium*'a karşı litik etki incelenmiştir. Denemelerde MOİ 10, 100, 1000 ve 10000 değerlerinde faj ve bakteri karışımı kullanılmıştır. Analiz sonucunda kavunda *S. Typhimurium* sayısında MOİ 1000 ve 10000 değerlerinde 2 log KOB/g azalış belirlenmiştir. Ananas örneklerinde ise MOİ 10 ve 100 değerlerinde 1 log KOB/g azalış tespit edilmiştir. Kokteyle girecek faj sayısındaki artış, bu fajların farklı antimikrobiyel ajanlar ile kullanılması ve başlangıç bakteri yükündeki değişimler elde edilecek sonuçları olumlu yönde değiştirecektir. Elde edilen sonuçlar fajların gıda endüstrisinde biyokontrol amaçlı kullanılabileceğini göstermektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, TÜBİTAK-1002 programı, 120O250 numaralı proje ile gerçekleştirilmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

YAZAR KATKILARI

Şeyma Betül ENCU, Aslı YILDIRIM ve Selin AKBAŞ deneysel çalışmaları gerçekleştirmiştir. Esra ACAR SOYKUT ve İbrahim ÇAKIR verilerin değerlendirilmesi, makalenin yazımı ve kontrolü aşamalarına katkı sağlamışlardır. Yazarlar makalenin son halini okuyarak onaylamışlardır.

KAYNAKLAR

Abdelsattar, A. S., Safwat, A., Nofal, R., Elsayed, A., Makky, S., El-Shibiny, A. (2021). Isolation and characterization of bacteriophage ZCSE6 against *Salmonella* spp.: Phage application in milk. *Biologics*, 1(2), 164-176. <https://doi.org/10.3390/biologics1020010>.

Acar Soykut, E. (2007). *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* virulent fajlarının replikasyon parametreleri, kapsid protein profilleri ve restriksiyon endonükleaz analizleri esas alınarak tanımlanmaları ve sınıflandırılmaları, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 188 s.

Bao, H., Zhang, H., Wang, R. (2011). Isolation and characterization of bacteriophages of *Salmonella enterica* serovar Pullorum. *Poultry Science*, 90(10), 2370-2377. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01496>.

Bielke, L., Higgins, S., Donoghue, A., Donoghue, D., Hargis, B. M. (2007). *Salmonella* host range of bacteriophages that infect multiple genera. *Poultry Science*, 86(12), 2536-2540. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00250>.

Byun, K. H., Han, S. H., Choi, M. W., Park, S. H., Ha, S. D. (2022). Isolation, characterization, and application of bacteriophages to reduce and inhibit *Listeria monocytogenes* in celery and enoki mushroom. *Food Control*, 135, 108826. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108826>.

Cao, S., Yang, W., Zhu, X., Liu, C., Lu, J., Si, Z., Pei, L., Zhang, L., Hu, W., Li, Y., Wang, Z., Pang, Z., Xue, X., Li, Y. (2022). Isolation and identification of the broad-spectrum high-efficiency phage vB_SalP_LDW16 and its therapeutic application in chickens. *BMC*

- Veterinary Research*, 18(1), 386. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03490-3>.
- Chevallereau, A., Pons, B. J., van Houte, S., Westra, E. R. (2022). Interactions between bacterial and phage communities in natural environments. *Nature Reviews Microbiology*, 20(1), 49-62.
- Endersen, L., Coffey, A. (2020). The use of bacteriophages for food safety. *Current Opinion in Food Science*, 36, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.006>.
- Islam, M. S., Zhou, Y., Liang, L., Nime, I., Liu, K., Yan, T., Wang, X., Li, J. (2019). Application of a phage cocktail for control of *Salmonella* in foods and reducing biofilms. *Viruses*, 11(9), 841. <https://doi.org/10.3390/v11090841>.
- Guang-Han, O., Leang-Chung, C., Vellasamy, K. M., Mariappan, V., Li-Yen, C., Vadivelu, J. (2016). Experimental phage therapy for *Burkholderia pseudomallei* infection. *PLoS One*, 11(7), e0158213. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158213>.
- Guo, Y., Li, J., Islam, M. S., Yan, T., Zhou, Y., Liang, L., Connerton, I. F., Deng, K., Li, J. (2021). Application of a novel phage vB_SalS-LPSTLL for the biological control of *Salmonella* in foods. *Food Research International*, 147, 110492. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110492>.
- Halkman, A. K. (2019). Gıda Mikrobiyolojisi. Editör: A. Kadir Halkman. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd, Ankara, 648 s. ISBN: 978-605-245-683-5; www.mikrobiyoloji.org
- Huang, C., Virk, S. M., Shi, J., Zhou, Y., Willias, S. P., Morsy, M. K., Abdelnabby, H. E., Liu, J., Wang, X., Li, J. (2018a). Isolation, characterization, and application of bacteriophage LPSE1 against *Salmonella enterica* in ready to eat (RTE) foods. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1046. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01046>.
- Huang, C., Shi, J., Ma, W., Li, Z., Wang, J., Li, J., Wang, X. (2018b). Isolation, characterization, and application of a novel specific *Salmonella* bacteriophage in different food matrices. *Food Research International*, 111, 631-641. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.071>.
- Khan, M. A. S., Rahman, S. R. (2022). Use of phages to treat antimicrobial-resistant *Salmonella* infections in poultry. *Veterinary Sciences*, 9(8), 438. <https://doi.org/10.3390/vetsci9080438>.
- Kim, S. H., Park, J. H., Lee, B. K., Kwon, H. J., Shin, J. H., Kim, J., Kim, S. (2012). Complete genome sequence of *Salmonella* bacteriophage SS3e. *Journal of Virology*, 86(18). <https://doi.org/10.1128/jvi.01550-12>
- Kropinski, A. M., Mazzocco, A., Waddell, T. E., Lingohr, E., Johnson, R. P. (2009). Enumeration of bacteriophages by double agar overlay plaque assay. *Bacteriophages: Methods and Protocols, Volume 1: Isolation, Characterization, and Interactions*, 69-76.
- Lee, S., Kim, M. G., Lee, H. S., Heo, S., Kwon, M., Kim, G. B. (2017). Isolation and characterization of listeria phages for control of growth of *Listeria monocytogenes* in milk. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(2), 320-328. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.2.320>.
- Li, F., Tian, F., Nazir, A., Sui, S., Li, M., Cheng, D., Nong, S., Ali, A., Kakar, M.U., Li, L., Feng, Q., Tong, Y. (2022). Isolation and genomic characterization of a novel *Autographiviridae* bacteriophage IME184 with lytic activity against *Klebsiella pneumoniae*. *Virus Research*, 319, 198873. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.198873>.
- Li, P., Zhang, X., Xie, X., Tu, Z., Gu, J., Zhang, A. (2020). Characterization and whole-genome sequencing of broad-host-range *Salmonella*-specific bacteriophages for bio-control. *Microbial Pathogenesis*, 143, 104119. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104119>
- López-Cuevas, O., Castro-del Campo, N., León-Félix, J., González-Robles, A., Chaidez, C. (2011). Characterization of bacteriophages with a lytic effect on various *Salmonella* serotypes and *Escherichia coli* O157: H7. *Canadian Journal of Microbiology*, 57(12), 1042-1051. <https://doi.org/10.1139/w11-099>.
- Lu, M., Liu, H., Lu, H., Liu, R., Liu, X. (2020). Characterization and genome analysis of a novel *Salmonella* phage vB_SenS_SE1. *Current Microbiology*, 77, 1308-1315, <https://doi.org/10.1007/s00284-020-01879-7>

- Maal, K. B., Delfan, A. S., Salmanizadeh, S. (2015). Isolation and identification of two novel *Escherichia coli* bacteriophages and their application in wastewater treatment and coliform's phage therapy. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8 (3). <https://doi.org/10.5812/jjm.14945>.
- Makalatia, K., Kakabadze, E., Bakuradze, N., Grdzlishvili, N., Stamp, B., Herman, E., Tapinos, A., Coffey, A., Lee, D., Papadopoulos, N.G., Robertson, D.L., Chanishvili, N., Megremis, S. (2021). Investigation of *Salmonella* phage–bacteria infection profiles: network structure reveals a gradient of target-range from generalist to specialist phage clones in nested subsets. *Viruses*, 13(7), 1261. <https://doi.org/10.3390/v13071261>.
- Mhone, A. L., Makumi, A., Odaba, J., Guantai, L., Gunathilake, K. D., Loignon, S., Ngugi, C. W., Akhwale, J. K., Moineau, S., Svitek, N. (2022). *Salmonella* Enteritidis bacteriophages isolated from Kenyan poultry farms demonstrate time-dependent stability in environments mimicking the chicken gastrointestinal tract. *Viruses*, 14(8), 1788. <https://doi.org/10.3390/v14081788>.
- Peng, Q., Yuan, Y. (2018). Characterization of a newly isolated phage infecting pathogenic *Escherichia coli* and analysis of its mosaic structural genes. *Scientific Reports*, 8(1), 8086.
- Petsong, K., Benjakul, S., Chaturongakul, S., Switt, A. I. M., Vongkamjan, K. (2019). Lysis profiles of *Salmonella* phages on *Salmonella* isolates from various sources and efficiency of a phage cocktail against *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium*. *Microorganisms*, 7(4), 100. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7040100>.
- Principi, N., Silvestri, E., Esposito, S. (2019). Advantages and limitations of bacteriophages for the treatment of bacterial infections. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 513. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00513>.
- Shang, Y., Sun, Q., Chen, H., Wu, Q., Chen, M., Yang, S., Du, M., Zha, F., Ye, Q., Zhang, J. (2021). Isolation and characterization of a novel *Salmonella* phage vB_SalP_TR2. *Frontiers in Microbiology*, 12, 664810. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.664810>.
- Sharma, C. S., Dhakal, J., Nannapaneni, R. (2015). Efficacy of lytic bacteriophage preparation in reducing *Salmonella* in vitro, on turkey breast cutlets, and on ground turkey. *Journal of Food Protection*, 78(7), 1357-1362. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-585>.
- Shashidhar, R., Dhokane, V. S., Hajare, S. N., Sharma, A., Bandekar, J. R. (2007). Effectiveness of radiation processing for elimination of *Salmonella* Typhimurium from minimally processed pineapple (*Ananas comosus* Merr.). *Journal of Food Science*, 72(3), M98-M101. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00300.x>.
- Sritha, K. S., Bhat, S. G. (2018). Genomics of *Salmonella* phage ΦStp1: candidate bacteriophage for biocontrol. *Virus Genes*, 54, 311-318. <https://doi.org/10.1007/s11262-018-1538-3>
- Sun, X., Wang, J., Dong, M., Zhang, H., Li, L., Wang, L. (2022). Food spoilage, bioactive food fresh-keeping films and functional edible coatings: Research status, existing problems and development trend. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 122-132. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.004>.
- Thung, T. Y., Premarathne, J. M. K. J. K., San Chang, W., Loo, Y. Y., Chin, Y. Z., Kuan, C. H., Tan, C. W., Basri, D.F., Radzi, C. W. J. W. M., Radu, S. (2017). Use of a lytic bacteriophage to control *Salmonella* Enteritidis in retail food. *LWT*, 78, 222-225. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.044>.
- Yan, T., Liang, L., Yin, P., Zhou, Y., Mahdy Sharoba, A., Lu, Q., Dong, X., Liu, K., Connerton, I. F., Li, J. (2020). Application of a novel phage LPSEYT for biological control of *Salmonella* in foods. *Microorganisms*, 8(3), 400. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030400>.
- Wessels, K., Rip, D., Gouws, P. (2021). *Salmonella* in chicken meat: Consumption, outbreaks, characteristics, current control methods and the potential of bacteriophage use. *Foods*, 10(8), 1742. <https://doi.org/10.3390/foods10081742>.

Wongsuntornpoj, S., Switt, A. I. M., Bergholz, P., Wiedmann, M., Chaturongakul, S. (2014). *Salmonella* phages isolated from dairy farms in Thailand show wider host range than a comparable set of phages isolated from US dairy farms. *Veterinary Microbiology*, 172(1-2), 345-352. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.05.023>.

Woolston, J., Parks, A. R., Abuladze, T., Anderson, B., Li, M., Carter, C., Hanna, L.F., Heyse, S., Charbonneau, D., Sulakvelidze, A.

(2013). Bacteriophages lytic for *Salmonella* rapidly reduce *Salmonella* contamination on glass and stainless steel surfaces. *Bacteriophage*, 3(3), e25697. <https://doi.org/10.4161/bact.25697>.

WHO, (2023). Food Safety Incidents. <https://www.who.int/news/item/31-05-2023-infosan-quarterly-summary-2023-1> (Erişim Tarihi: 20.11.2023)



AYÇİÇEĞİ PROTEİNİ-ARABİK GAM KONJUGATLARININ BAZI TEKNO-FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ

Fatma Korkmaz*

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

Geliş/Received: 06.02.2024; Kabul / Accepted: 04.04.2024; Online baskı / Published online: 13.04.2024

Korkmaz, F. (2024). Ayçiçeği proteini-arabik gam konjugatlarının bazı tekno-fonksiyonel özellikleri. GIDA (2024) 49 (2) 385-396 doi: 10.15237/gida.GD24022

Korkmaz, F. (2024). Some techno-functional properties of sunflower protein-gum arabic conjugates. GIDA (2024) 49 (2) 385-396 doi: 10.15237/gida.GD24022

ÖZ

Bu çalışmada, arabik gam ile farklı sürelerdeki konjugasyon işleminin ayçiçek proteininin tekno-fonksiyonel özelliklerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayçiçek proteinine arabik gam ile 90 °C'de 4 farklı sürede (0, 30, 60, 120 dakika) konjugasyon işlemi uygulanmış ve örneklerin yüzey hidrofobikliği, çözünürlük, su tutma ve yağ bağlama kapasitesi, köpürme ve emülsiyon özelliklerindeki ve en düşük jelleşme konsantrasyonundaki değişimler incelenmiştir. Uygulanan konjugasyon işlemleri ayçiçek proteininin yüzey hidrofobikliğinin ve pH 2-7 aralığındaki çözünürlüğünün artmasını sağlamıştır. Arabik gam ile konjugasyonu sonucu ayçiçek proteininin su tutma kapasitesinin azaldığı, yağ bağlama kapasitesinin ise arttığı görülmüştür. Konjugasyon işlemi süresinin artmasıyla birlikte ayçiçek proteininin köpürme kapasitesinde %1.73-6.73, emülsiyon kapasitesinde %17.11-31.00 aralığında artış olmuştur. Ayçiçek proteininin en düşük jelleşme konsantrasyonu konjugasyon işlemiyle %6 düzeyinde artmıştır. Elde edilen sonuçlara göre arabik gam ile konjugasyon işleminin ayçiçek proteininin belirli tekno-fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesinde kullanılabileceği değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Ayçiçek proteini, arabik gam, konjugasyon, emülsiyon özellikleri, köpürme özellikleri, en düşük jelleşme konsantrasyonu

SOME TECHNO-FUNCTIONAL PROPERTIES OF SUNFLOWER PROTEIN-GUM ARABIC CONJUGATES

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the effect of the conjugation with gum Arabic at different times on the techno-functional properties of sunflower protein. Sunflower protein-gum Arabic conjugates were prepared at 90 °C for four different times (0, 30, 60, and 120 minutes), and changes in the surface hydrophobicity, solubility, water-holding and oil-binding capacities, foaming and emulsifying properties, and least gelatinization concentrations were evaluated. The surface hydrophobicity and solubility (pH 2-7) increased with conjugation of sunflower protein. After the conjugation of sunflower protein, the water-holding capacity decreased while the oil-binding capacity increased. The foaming and emulsion capacities increased by 1.73-6.73% and 17.11-31.00%, respectively, with the increase in the process time. The least gelatinization concentration of conjugated sunflower proteins increased by 6%. According to the obtained results, it was evaluated that the conjugation with gum Arabic could be used to improve some techno-functional properties of sunflower protein.

Keywords: Sunflower protein, gum Arabic, conjugation, foaming properties, emulsifying properties, least gelatinization concentration

* fatma.korkmaz@balikesir.edu.tr

☎: (+90) 266 612 6313

Fatma Korkmaz; ORCID no: 0000-0002-6834-4833

GİRİŞ

Proteinler insan beslenmesinin en önemli unsurlarından biridir. Dünya nüfusunun artması, insanların daha sürdürülebilir ve sağlıklı bir beslenmeye yönelmeleri ile birlikte son yıllarda kolay erişilebilir ve ekonomik fiyatlı olmaları bitkisel proteinlere olan talebin artmasına neden olmuştur (Amiratashani vd., 2024; Naik vd., 2022). Yağı çıkarıldıktan sonra protein ve lif açısından zengin olmaları nedeniyle yağlı tohumlar iyi bir protein kaynağı olma potansiyeline sahiptirler. Yağlı tohumlardan elde edilen proteinler arasında ayçiçeği proteini, kolay erişilebilir ve düşük maliyetli olması, minimal düzeyde anti-beslenme faktörleri içermesi nedeniyle dikkat çeken bir proteindir (Kaur ve Ghoshal, 2022).

Proteinler, çözünürlük, su tutma, yağ bağlanma, köpürme, emülsiyon oluşturma ve jelleşme gibi çeşitli tekno-fonksiyonel özelliklerinden dolayı gıdaların görünüşlerine ve tekstürel özelliklerine katkıda bulunmaları sebebiyle gıda bileşeni olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Hadidi vd., 2024). Özellikle çözünürlük ve köpürme kapasitesi gibi zayıf tekno-fonksiyonel özelliklere sahip olması nedeniyle ayçiçek proteininin gıda endüstrisinde kullanımı sınırlıdır (Dabbour vd., 2023; Zhang vd., 2023). Proteinlerin fizikokimyasal, tekno-fonksiyonel ve besinsel özelliklerini değiştirmek amacıyla çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılarak modifikasyon işlemi gerçekleştirilmektedir (Ke ve Li, 2023). Bu yöntemler içerisinde, Maillard reaksiyonu kullanılarak proteinlerin polisakkaritler ile konjugasyonu, proteinlerin tekno-fonksiyonel özelliklerini geliştirmesi nedeniyle son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Amiratashani vd., 2024). Konjugasyonda, amino asitlerin, peptitlerin veya proteinlerin ϵ -amino grupları ile polisakkaritlerin indirgeyici grupları arasında kovalent bağın oluşumu için Maillard reaksiyonu kullanılmakta olup, başlatılması veya sürdürülmesi için herhangi bir katkı maddesi gerekmediğinden bu reaksiyon 'yeşil reaksiyon' olarak kabul edilmektedir (Naik vd., 2022). Proteinlerin polisakkaritlerle konjugasyonu 2 farklı şekilde gerçekleşmektedir: *i*) kuru ısıtma, hazırlanan protein-polisakkarit karışımının belirli bir bağlı

nem ve sıcaklık koşullarında birkaç gün veya hafta bekletilmesi; *ii*) yağ ısıtma, hazırlanan protein-polisakkarit çözeltisinin birkaç dakika veya saat ısıtılması (Boonlao vd., 2023; Dursun Capar ve Yalcin, 2021). Uzun reaksiyon süresine sahip olması ve sarı-kahverengi renge sahip Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşması, kuru ısıtma koşulunda gerçekleştirilen konjugasyon işleminin dezavantajları olarak görülmektedir. Diğer yandan, yağ ısıtma koşulunda gerçekleştirilen konjugasyon işleminde reaksiyon kısa sürede gerçekleşmekte ve Maillard reaksiyonunda Schiff bazı bileşikleri başlangıç düzeyde oluşmaktadır (Dursun Capar ve Yalcin, 2021; Pirestani vd., 2018). Bununla birlikte konjugasyon işleminin etkinliği ve oluşacak ürünlerin özellikleri proteinin çeşidi, protein-polisakkarit oranı, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi gibi faktörlerden etkilenmektedir (Dursun Capar ve Yalcin, 2021).

Proteinlerin konjugasyonunda akasya ağaçlarının salgılarından elde edilen arabik gam en yaygın kullanılan polisakkaritlerden biridir (Başyigit vd., 2022). Arabik gam, benzer molar kütleyle sahip diğer polisakkaritlerle karşılaştırıldığında düşük viskoziteye sahip, anyonik, hidrofilik ve heteropolisakkarit yapıdadır (Pirestani vd., 2018). Arabik gam, üstün emülsiyon oluşturma, kıvam sağlama, jelleştirme, kaplama ve stabilize etme özelliklerinden dolayı uzun süredir gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Başyigit vd., 2022). Literatürde, birçok çalışmada kinoa (Chen vd., 2024), kanola (Pirestani vd., 2017), bezelye (Zha vd., 2019), nar çekirdeği (Başyigit vd., 2022) proteinlerinin arabik gam ile konjugasyonu sonucu tekno-fonksiyonel özelliklerinin geliştirildiği gösterilmiştir. Ancak, ayçiçek proteininin arabik gam ile konjugasyonunun tekno-fonksiyonel özellikleri üzerine etkisi konusunda bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, ayçiçek proteininin arabik gam ile farklı sürelerde (0, 30, 60, 120 dakika) konjugasyonu sonucu tekno-fonksiyonel özelliklerindeki (yüzey hidrofobikliği, çözünürlük, su tutma ve yağ bağlama kapasitesi, köpürme ve emülsiyon özellikleri ve en düşük jelleşme konsantrasyonu) değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Ayçiçek proteini (Vegrano, %80.0 protein) ve arabik gam (alfasol) Kimbiotek Kimyevi Maddeler San. Tic. A.Ş. (İstanbul, Türkiye)'den temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan kimyasallar ise Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Almanya) ve Isolab Laborgeräte GmbH (Wertheim, Almanya)'den tedarik edilmiştir.

Metotlar

Ayçiçeği proteini-arabik gam konjugasyonu

Ayçiçeği proteininin arabik gam ile konjugasyonu için Boonlao vd. (2023) ve Pirestani vd. (2017)'nin belirttiği yöntemler modifiye edilerek kullanılmıştır. Ayçiçek proteini, arabik gam ile 1:1 oranında karıştırılarak toplam çözelti konsantrasyonu %10 olacak şekilde dispersiyon hazırlanmıştır. Daha iyi çözünme ve hidrasyonun sağlanabilmesi için örnekler dairesel çalkalayıcıda (Jeio Tech, OS-4000, Kore) (200 rpm) oda şartlarında 1 gece boyunca karıştırılmışlardır. Ardından örnekler sıcak su banyosunda (Nüve, ST 30, Türkiye) (125 rpm) 90 °C'de farklı sürelerde (0, 30, 60, 120 dakika) inkübe edilerek konjugasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda örnekler soğuk su dolu bir kap içerisine alınarak reaksiyonun durdurması ve örneklerin soğuması sağlanmıştır. Ardından örnekler Naik vd. (2022)'nin belirttiği 175 °C hava giriş sıcaklığı ve 80 °C hava çıkış sıcaklığı sağlanacak şekilde (besleme akış hızı 16 mL/dk, aspirasyon oranı 50 m³/sa, nozzle hava hızı 8.5 L/dk) laboratuvar ölçekli püskürtmeli kurutucu (UNOPEX, B15, Türkiye) ile kurutulmuştur. Hiçbir işlem görmemiş ayçiçeği proteini (AP), arabik gam ile karıştırılmış ancak konjugasyon işlemi uygulanmadan kurutulmuş örnek (AP-GA), 30 dakika (AP-GA-30), 60 dakika (AP-GA-60) ve 120 dakika (AP-GA-120) konjugasyon işlemi uygulanmış örnekler analizlere kadar kapaklı bir polietilen kap içerisinde +4 °C'de bekletilmiştir.

Amadori ve melanoidin bileşiklerinin analizi

Amadori ve melanoidin bileşiklerinin oluşumu Chen vd. (2024)'nin belirttiği yöntem ile ölçülmüştür. Protein dispersiyonlarının (5 mg/mL) absorbans değerleri amadori bileşiklerinin miktarının belirlenmesi için 304

nm'de, melanoidin bileşiklerinin miktarının belirlenmesi için 420 nm'de bir UV/VIS spektrofotometre (Shimadzu, UV-VIS Spektrofotometre, UV-1280, Japonya) kullanılarak okunmuştur.

Yüzey hidrofobikliği analizi

Yüzey hidrofobikliği analizi Tontul vd. (2018)'nin belirttiği yöntemle göre yapılmıştır. Protein örnekleri ve fosfat tampon çözeltisi (20 mM, pH 7) kullanılarak protein dispersiyonları (5 mg protein/mL) elde edilmiştir. Bu dispersiyonların 3 mL'si üzerine 600 µL brom fenol mavisi (BPB) çözeltisi (1mg/1mL) eklenerek bir vorteks yardımıyla hızlıca karıştırılmıştır. Kontrol örneği 3 mL fosfat tampon çözeltisi ve 600 µL brom fenol mavisi (BPB) çözeltisi (1mg/1mL) kullanılarak hazırlanmıştır. Ardından, örnekler 10 dk inkübe edilmiş ve 2000xg'de 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısımları alınmıştır. Süpernatantlar, fosfat tampon çözeltisi (20 mM, pH 7) ile 1:10 oranında seyreltilmiştir. Örneklerin absorbans değerleri UV/VIS spektrofotometre (Shimadzu, UV-VIS Spektrofotometre, UV-1280, Japonya) kullanılarak 595 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Yüzey hidrofobikliği aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır.

$$\text{Yüzey hidrofobikliği } (\mu\text{g BPB}) = \frac{ABS_{kontrol} - ABS_{örnek}}{ABS_{kontrol}} \times (200 \mu\text{g}) \quad \text{Eşitlik 1}$$

Protein çözünürlüğü analizi

Protein çözünürlüğü analizinde Pirestani vd. (2017)'nin belirttiği yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Örnekler (100 mg) distile su (20 mL) ile karıştırılarak pH değerleri (pH 3, 5, 7 ve 9) ayarlanmıştır. Ardından dairesel çalkalayıcıda (Jeio Tech, OS-4000, Kore) oda şartlarında 200 rpm'de 30 dakika karıştırılmış örneklere 9000xg'de 15 dakika santrifüj işlemi uygulanarak süpernatant kısımları alınmıştır. Süpernatantın çözünür protein içeriği Lowry vd. (1951)'nin belirttiği yöntemle göre 750 nm'de belirlenmiştir. Örneklerin protein çözünürlüğü değerleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Protein çözünürlüğü } (\%) = \frac{\text{süpernatantın protein içeriği}}{\text{örneğin toplam protein içeriği}} \times 100 \quad \text{Eşitlik 2}$$

Su tutma kapasitesi ve yağ bağlama kapasitesi analizi
Örneklerin su tutma kapasitesi ve yağ bağlama kapasitesinin belirlenmesinde Naik vd. (2022)'nin belirttiği yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Önceden darası alınmış tüplerin içerisine 0.2 g örnek ile birlikte 5 mL distile su veya ayçiçek yağı eklenmiş ve dairesel çalkalayıcıda (Jeio Tech, OS-4000, Kore) 200 rpm'de 30 dakika karıştırılmıştır. Ardından örnekler 3500 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısmı dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmış ve tüpler tekrar tartularak örneklerin su tutma kapasitesi ve yağ bağlama kapasitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir.

$$\frac{\text{Su tutma kapasitesi (g su/g protein)} / \text{Yağ bağlama kapasitesi (g yağ/g protein)}}{(\text{süpernatant uzaklaştırıldıktan sonraki ağırlık} - \text{örneğin ağırlığı (km)} + \text{kullanılan tüpün ağırlığı}) / \text{örneğin ağırlığı (km)}} = \text{Eşitlik 3}$$

Köpürme kapasitesi ve köpük stabilitesi analizi
Köpürme kapasitesi ve köpük stabilitesi analizi Amiratashani vd. (2024)'nin belirttiği yöntemle gerçekleştirilmiştir. Kısacası %1'lik protein çözeltisi bir homojenizatör (Witeg HG-15D, Almanya) ile 10000 rpm'de 2 dakika süresince karıştırılmış ve hacim değerleri kaydedilerek köpürme kapasitesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\frac{\text{Köpürme kapasitesi (\%)} = \text{karıştırıldıktan sonraki hacim} - \text{karıştırılmadan önceki hacmi}}{\text{karıştırılmadan önceki hacmi}} \times 100 = \text{Eşitlik 4}$$

Ardından örnekler oda şartlarında 30 dakika bekletilmiş ve kalan köpük hacmi kaydedilerek köpük stabilitesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\frac{\text{Köpük stabilitesi (\%)} = \text{30 dk sonraki köpük hacmi}}{\text{karıştırıldıktan sonraki köpük hacmi}} \times 100 = \text{Eşitlik 5}$$

Emülsiyon kapasitesi ve emülsiyon stabilitesi analizi
Emülsiyon kapasitesi ve emülsiyon stabilitesi analizi Albe Slabi vd. (2020)'nin belirttiği yöntemle yapılmıştır. Kısacası, 5 mL %5'lik protein çözeltisi üzerine 2.5 mL ayçiçek yağı eklenerek bir homojenizatör (Witeg HG-15D, Almanya)

yardımıyla 10000 rpm'de 90 saniye homojenize edilmiştir. Oluşan emülsiyonlar 1100xg'de 5 dakika santrifüjlendikten sonra emülsifiye tabakanın hacmi ve tüpteki toplam içeriğin hacmi kaydedilerek emülsiyon kapasitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Emülsiyon kapasitesi (\%)} = \frac{\text{emülsifiye tabakanın hacmi (mL)}}{\text{toplam içeriğin hacmi (mL)}} \times 100 = \text{Eşitlik 6}$$

Emülsiyon stabilitesi için ise örnekler 85 °C'de 15 dakika inkübe edilmiştir. Ardından tekrar 1100xg'de 5 dakika santrifüjlendikten sonra emülsifiye tabakanın hacmi kaydedilerek emülsiyon stabilitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Emülsiyon stabilitesi (\%)} = \frac{\text{isitma sonrası emülsifiye tabakanın hacmi (mL)}}{\text{isitma öncesi emülsifiye tabakanın hacmi (mL)}} \times 100 = \text{Eşitlik 7}$$

En düşük jelleşme konsantrasyonu

Örneklerin en düşük jelleşme konsantrasyonunun belirlenmesinde Shen ve Li (2021)'nin belirttiği yöntem kullanılmıştır. Kısacası, test tüpleri içerisinde %2-20 (w/v) aralığındaki konsantrasyonlarda hazırlanmış protein çözeltileri 1 saat süresince 100 °C'ye ayarlı sıcak su banyosunda tutulduktan sonra +4°C'de 2 saat süresince bekletilmiştir. Ardından test tüpleri baş aşağı tutularak jelin düşmediği veya kaymadığı konsantrasyon örneğe ait en düşük jelleşme konsantrasyonu olarak kaydedilmiştir.

İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler Minitab (ver. 17.0) kullanılarak gerçekleştirilen varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi ile değerlendirilmiştir. Analizler 3 paralelli olarak yapılmış ve sonuçlar "ortalama ± standart hata" şeklinde düzenlenmiştir.

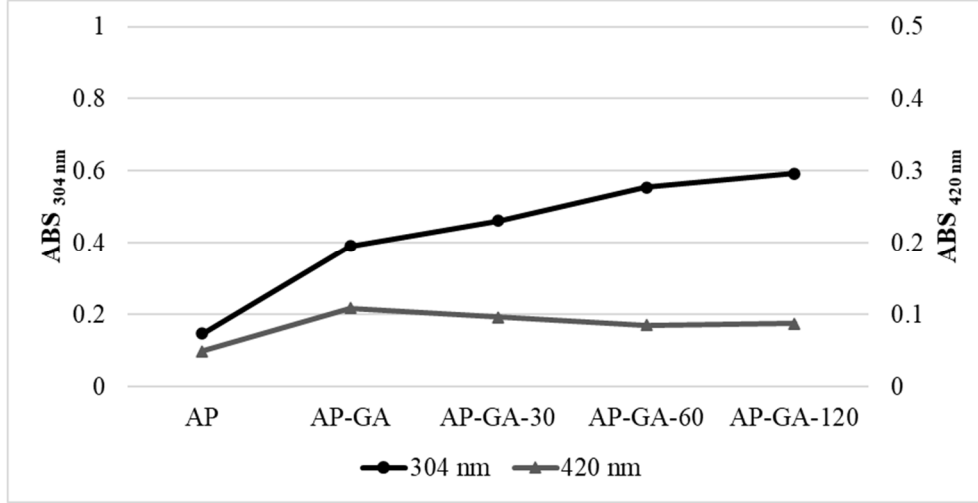
BULGULAR VE TARTIŞMA

Amadori ve melanoidin bileşikleri

Örneklerin 304 nm ve 420 nm değerlerinde ölçülen absorbans değerleri, Maillard reaksiyonu erken-orta (Amadori bileşikleri) ve son (Melanoidin bileşikleri) ürünlerinin göstergesi

olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Amiratashani vd., 2024). Örneklerin 304 nm’de elde edilen absorbans değerleri, 420 nm’de elde edilenlerden daha yüksek bulunmuştur (Şekil 1). Bu tüm konjugatlarda erken-orta Maillard reaksiyon ürününün baskın olduğunu

göstermektedir (Zha vd., 2019). Bitkisel proteinlerin konjugasyonu ile ilgili yapılan birçok çalışmada benzer bir sonuç bulunmuştur (Amiratashani vd., 2024; Chen vd., 2024; Zha vd., 2019).



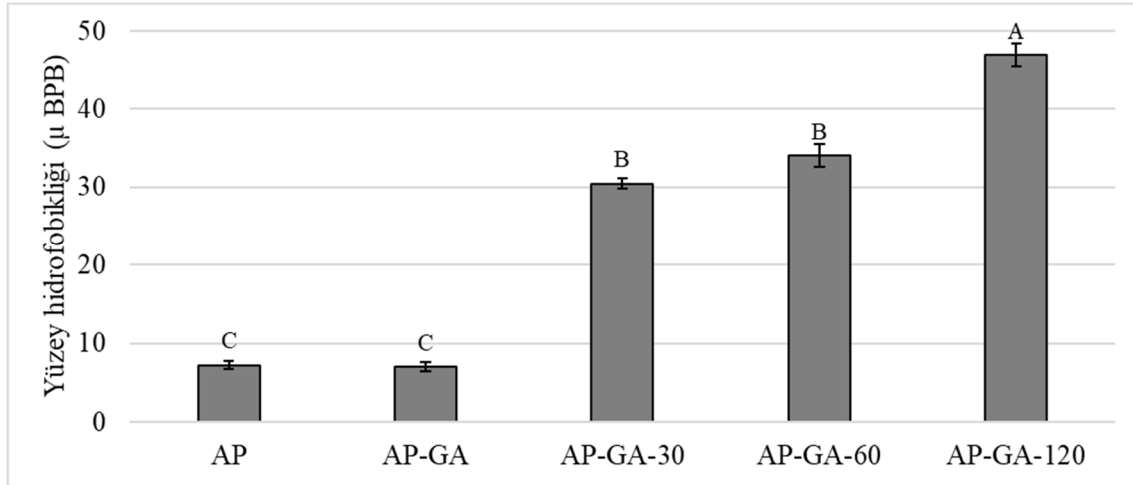
Şekil 1. Örneklerin 304 nm ve 420 nm değerlerindeki absorbansları
Figure 1. Absorbances at 294 and 420 nm of the samples

AP’ne uygulan konjugasyon işleminde süreninin artmasıyla birlikte örneklerin 304 nm’deki absorbans değerleri artmıştır. Bu sonuç AP’nin konjugasyonunda amadori bileşiklerinin işlem süresine bağlı olarak geliştiğini göstermektedir. Zha vd. (2019), arabik gam ile farklı sürelerde konjugasyon işlemi uygulanan bezelye proteininin 304 nm’deki absorbans değerinin işlem süresine bağlı olarak arttığını bulmuşlardır. AP’ne arabik gam ilavesi ve konjugasyon işlemi sonrası örneklerin 420 nm’deki absorbans değerleri 0.09-0.11 aralığında değişmekte olup koyu renkte olan melanoidin bileşenlerinin az miktarda bulunduğunu göstermektedir (Amiratashani vd., 2024).

Yüzey hidrofobikliği

Yüzey hidrofobikliği, protein molekülünün yüzeyinde açığa çıkan hidrofobik grupların sayısını göstermekte olup, protein konformasyonundaki değişikliği değerlendirmek için kullanılan yapısal özelliklerden biridir (Qu vd., 2018). AP örneğinin yüzey hidrofobikliği 7.24 µg BPB olarak bulunmuş ve arabik gam ilavesi sonucu örneğin

(AP-GA) yüzey hidrofobikliğinde (7.06 µg BPB) önemli bir değişimin olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$) (Şekil 2). Diğer yandan konjugasyon işleminin uygulanmasıyla birlikte örneklerin yüzey hidrofobikliğinde önemli bir artışın olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). En yüksek yüzey hidrofobikliği AP-GA-120 örneğinde bulunmuş olup 120 dakikalık konjugasyon işlemi sonucu ayçiçeği proteininin yüzey hidrofobikliğinin yaklaşık 6.5 kat arttığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Konjugasyon işleminde kullanılan protein ve polisakkarit çeşidi, uygulanan işlem koşulları ve glikasyon derecesi gibi birçok faktörün proteinlerin yüzey hidrofobikliğinin azalmasına veya artmasına neden olabileceği belirtilmiştir (Liu vd., 2012). Feng vd. (2021) örneklerin yüzey hidrofobikliğinin artmasını, protein yapısında meydana gelen kısmi açılma sonucu hidrofobik grupların açığa çıkması ile birlikte agregat olmuş protein yapılarının ayrışması sonucu daha önceden yapı içerisine gizlenmiş olan hidrofobik grupların da açığa çıkmasına atfetmişlerdir.



Şekil 2. Örneklerin yüzey hidrofobikliği
Figure 2. Surface hydrophobicity of the samples

Protein çözünürlüğü

Proteinlerin çözünürlüğü, diğer tekno-fonksiyonel özellikleri etkilediği için en önemli özelliklerinden biridir (Amiratashani vd., 2024). AP, AP-GA ve AP konjugatlarının pH 3-9 değerleri aralığındaki çözünürlükleri Şekil 3'te gösterilmiştir. Nötr ve alkali pH değerleriyle karşılaştırıldığında AP asidik pH değerlerinde daha düşük çözünürlüğe sahip olup en düşük çözünürlük değerini (%9.42) pH 5'te göstermiştir. Proteinler izoelektrik noktasına yaklaştığında hidrofilik etkileşimler azalmakta ve proteinler nötr yüke sahip olmaktadır. Buna bağlı olarak proteinlerin çözünürlükleri azalmakta, protein-protein etkileşimleri artmakta ve protein agregasyonu oluşmaktadır (Amiratashani vd., 2024). En düşük çözünürlüğün görüldüğü pH 5 değeri Galves vd. (2019)'nin ayçiçeği proteininin izoelektrik noktası olarak belirttikleri pH 4.8 değerine oldukça yakındır. Arabik gam ile konjugasyonu bu pH değerinde AP'nin çözünürlüğünün %20.76-24.34 düzeyinde artmasını sağlamıştır. Bununla birlikte, pH 9 değeri dışındaki pH değerlerinde AP'nin çözünürlüğünün, AP-GA ve AP konjugatlarından istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$). Benzer bir sonuç pH 4 ve 7 aralığında kazein-arabik gam konjugatlarında (Seidi vd., 2023) ve pH 2 ve 7 aralığında kinoa-arabik gam konjugatlarında (Chen vd., 2024) görülmüştür. Yazarlar bu durumu arabik gamın suda çözünürlüğünün daha fazla olmasına ve

dolayısıyla proteinlere arabik gamın fiziksel veya kimyasal olarak bağlanması sonucu proteinlerin çözünürlüklerinin artmasına atfetmişlerdir (Seidi vd., 2023).

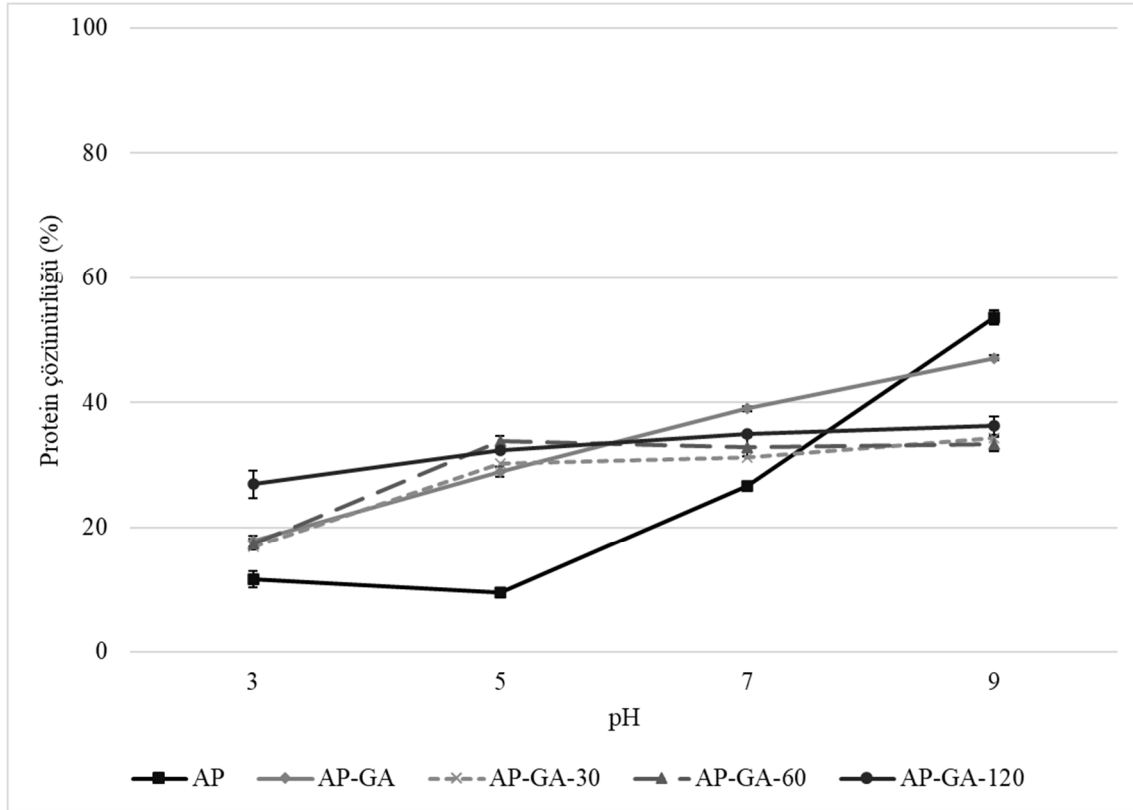
pH 3 değerinde en yüksek çözünürlük değeri AP-GA-120 örneğinde tespit edilmiş olup, diğer pH değerlerinde AP konjugatlarının çözünürlükleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($P > 0.05$). Benzer şekilde, 90 °C'de farklı sürelerde (30, 60, 90 ve 120 dakika) uygulanan konjugasyon işlemiyle soya proteininin çözünürlüğünün arttığı ancak soya proteinimaltodekstrin konjugatlarının işlem süresine bağlı olarak çözünürlüklerinde önemli bir farkın olmadığı görülmüştür (Boonlao vd., 2023).

Su tutma kapasitesi ve yağ bağlama kapasitesi

Su tutma ve yağ bağlama kapasitesi, protein-su ve protein-yağ etkileşimleri ile birlikte proteinlerin su/yağı tutma oranını belirleyen tekno-fonksiyonel özelliklerden biri olup, protein katkı gıda ürünlerinin dokusunu ve kalitesini etkilemektedir (Shen ve Li, 2021). Örneklerin su tutma ve yağ bağlama kapasitesi Çizelge 1'de gösterilmiştir. AP'nin su tutma kapasitesi arabik gam ilavesi ve konjugasyon işlemiyle birlikte önemli düzeyde azalmıştır ($P < 0.05$). En düşük su tutma kapasitesi AP-GA örneğinde belirlenmiş olup, örneklere uygulanan konjugasyon işlem süresinin artmasıyla birlikte örneklerin su tutma

kapasitelerinde artış meydana gelmiştir ($P < 0.05$). Boonlao vd. (2023), soya proteininin maltodekstrin ile konjugasyonu sonucunda (%75 bağıl nem, 1-9 gün) su tutma kapasitesinin azaldığını bulmuşlar ve bunu örneklerin artan yüzey hidrofobikliğine atfetmişlerdir. Yüzer (2023)'de, soya proteininin fruktoz ile konjugasyonu sonucu su tutma kapasitesinin azaldığını bulmuştur. Yazarlar bu değişimi protein yapılarının açılmasının polisakkaritler tarafından inhibisyonuna atfetmişlerdir (Yüzer, 2023). Bununla birlikte, proteinlerin su tutma kapasitesi ile protein çözünürlüğü arasında ters bir ilişki olduğu belirtilmiştir (Özdemir vd., 2022). Konjugatların çözünürlüğünün yüksek olması, su tutma kapasitesinin düşük olmasının nedeni olabilir. AP'nin yağ bağlama kapasitesinin, arabik gam ilavesi ve konjugasyon işlemleri sonucunda arttığı görülmüştür ($P < 0.05$). Ayrıca,

konjugasyon işlem süresinin artmasıyla birlikte örneklerin yağ bağlama kapasitesi artan bir eğilim sergilemiş ancak bu istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Birçok çalışmada bitkisel proteinlerin polisakkaritlerle konjugasyonu sonucu yağ bağlama kapasitesinin arttığı belirtilmiştir (Amiratashani vd., 2024; Başyigit vd., 2022; Naik vd., 2022; Shen ve Li, 2021). Yazarlar, konjugasyon işlemi ile birlikte hidrofobik grupların açığa çıkması sonucu örneklerin yağ ile etkileşiminin arttığını bildirmişlerdir (Amiratashani vd., 2024; Naik vd., 2022). Bununla birlikte, proteinlerin su tutma ve yağ bağlama kapasitesinin uygulanan işlem koşulları, parçacık boyutu, proteinin konformasyonu ve moleküler ağırlığı gibi faktörlerden etkileyebileceği belirtilmiştir (Hadidi vd., 2021; Özdemir vd., 2022).



Şekil 3. Örneklerin farklı pH değerlerindeki protein çözünürlüğü
Figure 3. Protein solubility of the samples at different pH values

Çizelge 1. Örneklerin tekno-fonksiyonel özellikleri

Table 1. Techno-functional properties of the samples

Örnek	Su tutma kapasitesi (g su/g protein) <i>Water-holding capacity</i> (g water/g protein)	Yağ bağlama kapasitesi (g yağ/g protein) <i>Oil-binding capacity</i> (g oil/g protein)	Köpürme kapasitesi (%) <i>Foaming capacity</i> (%)	Köpük stabilitesi (%) <i>Foam stability</i> (%)	Emülsiyon kapasitesi (%) <i>Emulsion capacity</i> (%)	Emülsiyon stabilitesi (%) <i>Emulsion stability</i> (%)
AP	4.15 ± 0.06 ^A	3.53 ± 0.04 ^B	31.27 ± 1.73 ^B	18.03 ± 1.06 ^A	33.33 ± 0.01 ^C	96.00 ± 0.01 ^A
AP-GA	1.65 ± 0.03 ^E	4.64 ± 0.16 ^A	31.27 ± 1.73 ^B	18.03 ± 1.06 ^A	38.89 ± 1.11 ^C	85.86 ± 2.53 ^A
AP-GA-30	1.99 ± 0.05 ^D	4.67 ± 0.07 ^A	33.00 ± 0.01 ^{AB}	16.97 ± 0.01 ^{AB}	52.44 ± 0.89 ^B	92.28 ± 2.72 ^A
AP-GA-60	2.19 ± 0.04 ^C	4.75 ± 0.01 ^A	36.33 ± 1.67 ^{AB}	15.48 ± 0.74 ^B	60.44 ± 2.70 ^{AB}	56.96 ± 2.72 ^B
API-GA-120	2.40 ± 0.02 ^B	4.86 ± 0.03 ^A	38.00 ± 0.01 ^A	14.74 ± 0.01 ^B	64.33 ± 2.65 ^A	49.47 ± 2.11 ^B

*Sütun içinde farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır ($P < 0.05$).

*There is a statistically significant difference between the means of different capital letters within the column ($P < 0.05$).

Köpürme kapasitesi ve köpük stabilitesi

Proteinlerin köpük yapısı oluşturabilme özelliklerinin göstergesi olan köpürme kapasitesi proteinlerin oluşturabileceği arayüzey alanı miktarı ve proteinin hidrofobikliği ile yakından ilişkilidir. Köpürme stabilitesi ise oluşan köpük yapısının belirli bir süre boyunca dayanıklılığını göstermektedir (Shen ve Li, 2021). AP'nin köpürme kapasitesi değerine arabik gam ilavesinin etkisi önemli bulunmazken ($P > 0.05$), konjugasyon işleminin etkisi istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$) (Çizelge 1). Konjugasyon işlemi süresinin artmasıyla birlikte örneklerin köpürme kapasitelerinde %1.73-6.73 aralığında değişen artış eğilimi görülmüştür ($P < 0.05$). Amiratashani vd. (2024), mürdümük proteininin ksantan gam ile 80 °C'de farklı sürelerde (1-24 saat) konjugasyonunda işlem süresinin artmasıyla birlikte örneklerin köpürme kapasitelerinin arttığını bulmuşlardır. Boonlao vd. (2023) ise soya proteininin maltodekstrin ile konjugasyonunda (90 °C), 30-60 dakika süresince uygulanan işlemlerin örneklerin köpürme kapasitelerini arttırdığını, daha uzun işlem sürelerinin (90-120 dakika) ise önemli bir değişime neden olmadığını belirtmişlerdir. Örneklerin köpürme kapasitelerindeki bu değişim, konjugasyon işlemi ile birlikte proteinlerinin çözünürlüklerinin artması sonucu arayüzey özelliklerinin gelişmesine atfedilmiştir (Amiratashani vd., 2024). Köpürme kapasitesine benzer şekilde arabik gam ilavesinin AP'nin köpük stabilitesine etkisi de önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Farklı olarak,

konjugasyon işlemi AP'nin köpük stabilitesinin önemli düzeyde azalmasına neden olmuştur ($P < 0.05$). Benzer şekilde nar çekirdeği proteininin arabik gam (90 °C, 15 dakika) (Başyigit vd., 2022), bezelye proteininin guar gam (60 °C, 15 dakika) (Shen ve Li, 2021) ile konjugasyonu sonucu köpük stabilitesinin azaldığı bulunmuştur.

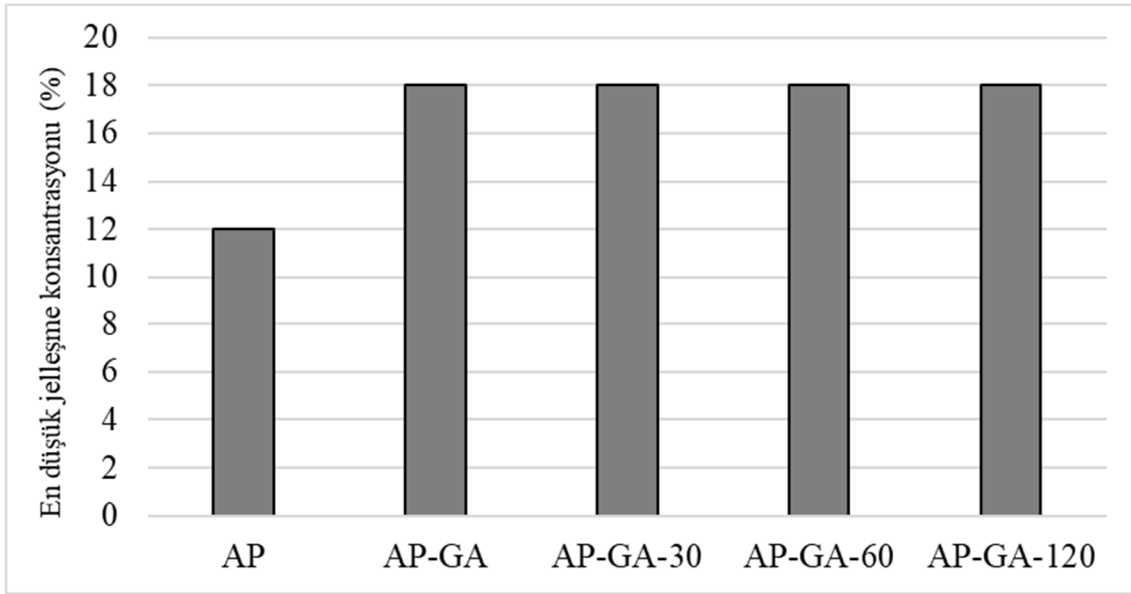
Emülsiyon kapasitesi ve emülsiyon stabilitesi

Emülsiyon özellikleri, proteinlerin su/yağ arayüzey gerilimini azaltma kabiliyetlerini ve faz ayrılmasına karşı emülsiyon yapısının korunmasına katkısını tahmin etmek için kullanılmaktadır (Amiratashani vd., 2024; Chen vd., 2024). Örneklerin emülsiyon özellikleri Çizelge 1'de sunulmuştur. AP'nin emülsiyon kapasitesi arabik gam ilavesiyle %5.56 oranında artmış ancak bu değişim istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Konjugasyon işlemi ise AP'nin emülsiyon kapasitesinin %17.11-31.00 aralığında önemli düzeyde artmasını sağlamış ve işlem süresi arttıkça emülsiyon kapasitesi artış eğilimi göstermiştir ($P < 0.05$). Yapılan çalışmalarda, kinoa (Chen vd., 2024) ve nar çekirdeği (Başyigit vd., 2022) proteinlerinin arabik gam ile konjugasyonu sonucunda emülsiyon kapasitesinin arttığı bulunmuştur. Amiratashani vd. (2024) mürdümük proteininin ksantan gum ile konjugasyonunda işlem süresinin 12 saate kadar artmasıyla birlikte örneklerin emülsiyon kapasitelerinde artan bir eğilim gözlemlemişlerdir. Konjugasyon işlemi ile örneklerin çözünürlüklerinin artması sonucu proteinlerin

su/yağ arayüzeyinde difüzyonunun artmasının emülsiyon kapasitesinin artmasını sağlayabileceği belirtilmiştir (Amiratashani vd., 2024). Arabik gamın emülsifiye damlacıklar arasında daha güçlü bir elektrostatik itme kuvveti yaratarak proteinlerin su/yağ arayüzeyinde kalmasını sağlaması da emülsiyon kapasitesine katkıda bulunabilmektedir (Chen vd., 2024). Ayrıca, konjugasyon işlemi ile artan yüzey hidrofobikliği konjugatın su/yağ arayüzüne absorpsiyon oranının artmasına neden olarak emülsiyon kapasitesinin artmasını sağlayabilmektedir (Boonlao vd., 2023). Arabik gam ilavesi ve 30 dakika süreli konjugasyon işlemi AP'nin emülsiyon stabilitesi üzerine önemli bir etkiye neden olmamıştır ($P > 0.05$). Ancak konjugasyon işlem süresinin artması (60-120 dakika) AP'nin emülsiyon stabilitesinin azalmasıyla sonuçlanmıştır ($P < 0.05$). Boonlao vd. (2023) soya proteininin maltodekstrin ile kısa süreli (30-60 dakika) konjugasyonunda emülsiyon stabilitesinin artış eğilimi göstermesine rağmen, işlem süresi arttığında (90-120 dakika) emülsiyon stabilitesinin azaldığını bulmuşlardır. Uzun işlem sürelerinin, proteinlerin agregasyonuna neden olarak emülsifikasyon özelliklerini azaltabileceği bildirilmiştir (Boonlao vd., 2023).

En düşük jelleşme konsantrasyonu

Proteinlerin jelleşme özellikleri, birçok gıdanın dokusunu, kalitesini ve duyuşal özelliklerini belirlemesi açısından önemlidir (Shen ve Li, 2021). Şekil 4'te görüldüğü üzere AP'nin en düşük jelleşme konsantrasyonu, arabik gam ilavesi ve konjugasyon işlemiyle %18'e artmıştır. Bu AP-GA ve AP konjugatlarının daha yüksek konsantrasyonlarda jel yapısı oluşturabildiğini göstermektedir. Proteinlerin jelleşme davranışlarının moleküller arası disülfid bağlarından, hidrojen bağlarından ve hidrofobik etkileşimlerden etkilenebileceği belirtilmiştir (Deng vd., 2019). Shen vd. (2022) bezelye proteininin arabik gam ile konjugasyonu sonucu en düşük jelleşme konsantrasyonunun %11'den %13'e arttığını bulmuşlar ve arabik gamın suda düşük bir vizkozite sağlamasının en düşük jelleşme konsantrasyonundaki artışa neden olabileceğini belirtmişlerdir. Gao vd. (2024) ise konjugasyon işlemiyle birlikte proteinlerin en düşük jelleşme konsantrasyonundaki azalmayı, polisakkaritlerin protein yüzeyindeki hidrofobik bağlanma bölgelerinin etkileşimini engellemesi sonucu oluşturduğu sterik etki ile açıklamıştır.



Şekil 4. Örneklerin en düşük jelleşme konsantrasyonu
Figure 4. The least gelatinization concentration of the samples

SONUÇ

Bu çalışmada, AP'ne arabik gam ile farklı sürelerde konjugasyon işlemi uygulanmış ve uygulanan işlemlerin AP'nin tekno-fonksiyonel özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Konjugasyon işlem süresi arttığında amadori bileşiklerinin geliştiğini görülmüş ancak melanoidin bileşenlerinde benzer bir gelişim gözlenmemiştir. AP'nin yüzey hidrofobikliği de işlem süresinin artmasıyla birlikte artan bir eğilim sergilemiştir. AP'nin arabik gam ilavesi ve arabik gam ile konjugasyonu sonucunda çözünürlük özelliklerinin de geliştiği belirlenmiştir. Bunlara bağlı olarak arabik gam ile konjugasyonu sonucu AP'nin su tutma kapasitesinin azaldığı, yağ bağlama kapasitesinin ise arttığı görülmüştür. Bununla birlikte, arabik gam ile konjugasyon uygulaması AP'nin daha yüksek kapasitede köpük ve emülsiyon yapıları oluşturmasını sağlamış, ancak bu köpük ve emülsiyon yapılarının stabilitelelerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca AP arabik gam konjugatlarının daha yüksek konsantrasyonlarda jel yapısı oluşturabildiği gözlenmiştir. Sonuç olarak, AP'nin belirli tekno-fonksiyonel özelliklerinin arabik gam ile konjugasyonu sonucu geliştirilebileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte, çözünürlük, yağ bağlama ve emülsiyon özelliklerindeki değişimler değerlendirildiğinde, arabik gam ile konjugasyonu sonucu AP'nin asidik özellikteki (pH<7), yüksek yağ içeriğine sahip ve emülsifiye gıda sistemlerinde bir bileşen kullanılma potansiyelinin bulunduğu değerlendirilmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarın bu araştırma ile ilgili olarak herhangi bir kişi veya kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Bu araştırmanın yürütülmesi, laboratuvar çalışmaları ve makalenin yazılması yazar tarafından gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

Albe Slabi, S., Mathe, C., Basselin, M., Framboisier, X., Ndiaye, M., Galet, O., Kapel, R. (2020). Multi-objective optimization of

solid/liquid extraction of total sunflower proteins from cold press meal. *Food Chemistry*, 317: 126423.

Amiratashani, F., Yarmand, M.S., Kiani, H., Askari, G., Naeini, K.K., Parandi, E. (2024). Comprehensive structural and functional characterization of a new protein-polysaccharide conjugate between grass pea protein (*Lathyrus sativus*) and xanthan gum produced by wet heating. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254: 127283.

Başıyigit, B., Yüceetepe, M., Akyar, G., Karaaslan, A., Karaaslan, M. (2022). Enhancing thermal and emulsifying resilience of pomegranate fruit protein with gum Arabic conjugation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 215: 112516.

Boonlao, N., Ruktanonchai, U.R., Anal, A.K. (2023). Glycation of soy protein isolate with maltodextrin through Maillard reaction via dry and wet treatments and compare their techno-functional properties. *Polymer Bulletin*, 80(8): 8603-8626.

Chen, K., Zhang, M., Wang, D., Mujumdar, A.S., Deng, D. (2024). Development of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) protein isolate-gum Arabic conjugates via ultrasound-assisted wet heating for spice essential oils emulsification: Effects on water solubility, bioactivity, and sensory stimulation. *Food Chemistry*, 431: 137001.

Dabbour, M., Hamoda, A., Wahia, H., Mintah, B.K., Betchem, G., He, R., Ma, H., Fikry, M. (2023). Functional, conformational, topographical, and antioxidative properties of convectively- and freeze-dried sunflower protein and hydrolysate: A comparative investigation. *Drying Technology*, 41(12): 1962-1976.

Deng, Y., Huang, L., Zhang, C., Xie, P., Cheng, J., Wang, X., Li, S. (2019). Physicochemical and functional properties of Chinese quince seed protein isolate. *Food Chemistry*, 283: 539-548.

Dursun Capar, T., Yalcin, H. (2021). Protein/polysaccharide conjugation via Maillard reactions in an aqueous media: Impact of protein type, reaction time and temperature. *LWT-Food Science and Technology*, 152: 112252.

- Feng, J., Berton-Carabin, C.C., Ataç Mogol, B., Schroën, K., Fogliano, V. (2021). Glycation of soy proteins leads to a range of fractions with various supramolecular assemblies and surface activities. *Food Chemistry*, 343: 128556.
- Galves, C., Stone, A.K., Szarko, J., Liu, S., Shafer, K., Hargreaves, J., Siarkowski, S., Nickerson, M.T. (2019). Effect of pH and defatting on the functional attributes of safflower, sunflower, canola, and hemp protein concentrates. *Cereal Chemistry*, 96(6): 1036-1047.
- Gao, K., Zha, F., Rao, J., Chen, B. (2024). Nonenzymatic glycation as a tunable technique to modify plant proteins: A comprehensive review on reaction process, mechanism, conjugate structure, and functionality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 23(1): 1-24.
- Hadidi, M., Aghababaei, F., McClements, D.J. (2024). Sunflower meal/cake as a sustainable protein source for global food demand: Towards a zero-hunger world. *Food Hydrocolloids*, 147: 109329.
- Hadidi, M., Ibarz, A., Pouramin, S. (2021). Optimization of extraction and deamidation of edible protein from evening primrose (*Oenothera biennis* L.) oil processing by-products and its effect on structural and techno-functional properties. *Food Chemistry*, 334: 127613.
- Kaur, R., Ghoshal, G. (2022). Sunflower protein isolates-composition, extraction and functional properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 306: 102725.
- Ke, C., Li, L. (2023). Influence mechanism of polysaccharides induced Maillard reaction on plant proteins structure and functional properties: A review. *Carbohydrate Polymers*, 302: 120430.
- Liu, J., Ru, Q., Ding, Y. (2012). Glycation a promising method for food protein modification: Physicochemical properties and structure: A review. *Food Research International*, 49(1): 170-183.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265-275.
- Naik, R.R., Wang, Y., Selomulya, C. (2022). Spray-drying to improve the functionality of amaranth protein via ultrasonic-assisted Maillard conjugation with red seaweed polysaccharide. *Journal of Cereal Science*, 108: 103578.
- Özdemir, E.E., Görgüç, A., Gençdağ, E., Yılmaz, F.M. (2022). Physicochemical, functional and emulsifying properties of plant protein powder from industrial sesame processing waste as affected by spray and freeze drying. *LWT-Food Science and Technology*, 154: 112646.
- Pirestani, S., Nasirpour, A., Keramat, J., Desobry, S. (2017). Preparation of chemically modified canola protein isolate with gum Arabic by means of Maillard reaction under wet-heating conditions. *Carbohydrate Polymers*, 155: 201-207.
- Pirestani, S., Nasirpour, A., Keramat, J., Desobry, S., Jasniewski, J. (2018). Structural properties of canola protein isolate-gum Arabic Maillard conjugate in an aqueous model system. *Food Hydrocolloids*, 79: 228-234.
- Qu, W., Zhang, X., Han, X., Wang, Z., He, R., Ma, H. (2018). Structure and functional characteristics of rapeseed protein isolate-dextran conjugates. *Food Hydrocolloids*, 82: 329-337.
- Seidi, P., Nasirpour, A., Keramat, J., Saeidy, S. (2023). Functional and structural properties of gum arabic complexes with casein and hydrolyzed casein achieved by Maillard reaction. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 44(4): 639-650.
- Shen, Y., Hong, S., Singh, G., Koppel, K., Li, Y. (2022). Improving functional properties of pea protein through “green” modifications using enzymes and polysaccharides. *Food Chemistry*, 385: 132687.
- Shen, Y., Li, Y. (2021). Acylation modification and/or guar gum conjugation enhanced functional properties of pea protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 117: 106686.
- Tontul, İ., Kasimoglu, Z., Asik, S., Atbakan, T., Topuz, A. (2018). Functional properties of chickpea protein isolates dried by refractance window drying. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109: 1253-1259.

Yüzer, M.O. (2023). Soya proteini izolati-fruktoz glikasyon konjugatlarının yapısı ve bazı teknofonksiyonel özellikleri üzerine ultrason işleminin etkisi. *Gıda*, 48(6): 1351-1365.

Zha, F., Dong, S., Rao, J., Chen, B. (2019). The structural modification of pea protein concentrate with gum Arabic by controlled Maillard reaction

enhances its functional properties and flavor attributes. *Food Hydrocolloids*, 92: 30-40.

Zhang, Z., Holden, G., Wang, B., Adhikari, B. (2023). Maillard reaction-based conjugation of Spirulina protein with maltodextrin using wet-heating route and characterisation of conjugates. *Food Chemistry*, 406: 134931.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Berk, B., Şirin, P., Ünlütürk, S. Effect of partial replacement of sucrose with stevia and sucralose on the physicochemical and structural-mechanical properties of apple marmalade / Sükrözün stevia ve sükraloz ile kısmen değiştirilmesinin elma marmelatının fizikokimyasal ve yapısal-mekanik özellikleri üzerindeki etkisi.....223-237
- Serdaroğlu, M., Yüncü-Bozacı, Ö., Karaman, M. The effects of marination with rosehip infusion on quality parameters of turkey breast fillets / Kuşburnu infüzyonu ile marinasyonun hindi göğüs filetoalarının kalite parametreleri üzerindeki etkileri.....238-251
- Erdem, Y. I., Kaya, S., Gökçaya Erdem, B. Characterization and application of whey protein isolate based edible films containing clove and apricot essential oils / Karanfil ve kayısı esansiyel yağları ile aktif hale getirilmiş peynir altı suyu proteini izolat bazlı yenilebilir filmler..... 299-311
- Dışhan, A., Gönülalan, Z. Acid-resistant *Limosilactobacillus fermentum* isolates recovered from fermented Turkish Sucuk: Screening of probiotic characterization and phylogeny / Fermente Türk Sucuklarından elde edilen aside dirençli *Limosilactobacillus fermentum*: Probiyotik karakterizasyonu ve filogeninin taranması312-325
- Özdemir, M., Torun, M. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the hazelnut skin: Optimization and comparison with conventional method / Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle fındık zarından doğal antioksidanların ekstraksiyonu: Optimizasyon ve geleneksel yöntemle karşılaştırma.....326-341

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Şahiner, Ö., Karagül Yüceer, Y. Kırklareli Eski Kaşar peynirinin uçucu bileşen profili, fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri / Volatile component profile, physicochemical and sensory properties of Kırklareli Aged Kaşar cheese.....193-204
- Özünlü, O., Yüksel, F. C., Ergezer, H. Nugget üretiminde farklı oranlarda beyaz şerit problemlili tavuk göğüs etinin kullanımı / The usage of chicken breast meat added with different rate of white stripe problem meats in production of chicken nuggets.....252-268
- Yanardağ Karabulut, Ş., Bulut, S. Glutensiz şalgam suyu üretimi ve TS 11149 şalgam suyu standardına uygunluğunun araştırılması / Production of gluten-free şalgam juice and its compliance with the TS11149 turnip juice standard269-283
- Köten, M. Karpuz çekirdeği unu ikameli besleyici bisküvi üretimi / Production of nutritional cookies with watermelon seed flour substitution ... 284-298
- Sarı, M. M., Yetişemiyen, A., Akal, C. Farklı oranlarda evaporasyon uygulamasıyla aromalı süt reçeli üretimi / Production of flavoured milk jam by evaporation with different ratios.....356-369
- Encu, Ş. B., Yıldırım, A., Akbaş, S., Çakır, İ., Acar Soykut, E. Taze dilimlenmiş meyvelerde *Salmonella Typhimurium*'un fajlarla biyokontrolü / Biocontrol of *Salmonella Typhimurium* in fresh sliced fruits using phages.....370-384
- Korkmaz, F. Ayçiçeği proteini-arabik gam konjugatlarının bazı tekno-fonksiyonel özellikleri / Some techno-functional properties of sunflower protein-gum arabic conjugates.....385-396

Derlemeler / Reviews

- Halıcı Demir, F., Yılmaz, E., Damar İ. Süt ve süt ürünlerinde mikroplastik varlığı, sağlık üzerine etkileri ve mikroplastik ayırma yöntemleri / Presence of microplastic in milk and dairy products, its effects on health and microplastic separation methods.....205-222
- Muyanlı, E.B., Yılmaz, R. Gıda mikrobiyolojisi ve genetik: *Escherichia coli* / Food microbiology and genetics: *Escherichia coli*.....342-355